

## ВИСНОВКИ

1. Відвари на основі солодки рекомендовані для використання у виробництві безалкогольних напоїв ; які у свою чергу ефективно застосовуються при лікуванні ревматизму, бронхіальної астми, виразкової хвороби.
2. Найбільш стійкими є відвари коренів солодки з концентраціями 0,08-0,1% і зі значеннями рН 2,5-3,0.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Яковлева О. В. Лекарственное сырьё растительного происхождения: учеб. пособ. — Санкт-Петербург, 2006. — 500 с.
2. Бобкова І.А. Фармакогнозія: навч. посіб. / І.А. Бобкова, Л.В. Варлахова, М.М. Маньковська. — К.: Медицина, 2006. — 389 с.
3. Толок А.Я. Химия природных соединений : Фотометрическое определение фенолов в эфирных маслах / А.Я. Толок, С.С. Артемченко — К., 1988. — 700 с.
4. Пат. 31149 А UA, МПК А 23 L 2/30. Спосіб отримання екстракту кореня солодки: Пат. 31149 А UA, МПК А 23 L 2/30 / Толок А.Я., Батура Н.Р. - № 98073770; Заявл. 14.07.98; Опубл. 15.12.2000; Бюл. "Промислова власність" № 7.
5. Погорелова В.И. Фармацевтическая технология: учебн. пособ. / В.И. Погорелова.— Ростов-на-Дону: Феникс, 2002. — 544 с.

УДК 615.272.4.014.425:544.792

## АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ S-ЗАМІЩЕНИХ ХІНАЗОЛІНУ В УМОВАХ ІНГІБУВАННЯ СУПЕРОКСИДРАДИКАЛА *IN VITRO*

Моргунцова С.А., асистент, Беленічев І.Ф., д.б.н. професор

*Запорізький державний медичний університет*

У роботі було досліджено антиоксидантні властивості S-заміщених хіназоліну *in vitro* за впливом на показники інгібування супероксидрадикала. Встановлено, що досліджувані речовини є перспективними з точки зору пошуку препаратів з антиоксидантним механізмом дії. Максимум ефективної концентрації досліджених вказаним методом антиоксидантів становить  $10^{-6}$  моль/л.

*Ключові слова:* „окислювальний стрес”, антиоксидантна активність, S-заміщені хіназоліну, супероксидрадикал.

Моргунцова С.А., Беленічев І.Ф. АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ S-ЗАМЕЩЕННЫХ ХИНАЗОЛИНА В УСЛОВИЯХ ИНГИБИРОВАНИЯ СУПЕРОКСИДРАДИКАЛА *IN VITRO* / Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

В работе было изучено антиоксидантные свойства S-замещенных хиназолина *in vitro* по влиянию на показатели ингибирования супероксидрадикала. Установлено, что исследуемые вещества являются перспективными с точки зрения поиска препаратов с антиоксидантным механизмом действия. Максимум эффективной концентрации исследованных данным методом антиоксидантов составил  $10^{-6}$  моль/л.

*Ключевые слова:* „окислительный стресс”, антиоксидантная активность, S-замещенные хиназолина, супероксидрадикал.

Morguntsova S.A., Belenichev I.F.. ANTIOXIDANT ACTIVITY S-REPLACED QUINAZOLINE IN CONDITIONS OF INHIBITION SUPEROXIDRADICAL *IN VITRO* / Zaporozhye state medical university, Ukraine.

In work it has been investigated antioxidant properties S-replaced quinazoline *in vitro* on influence on parameters of inhibition superoxideradical. It is established, that researched substances are perspective from the point of view of search of preparations with antioxidant the mechanism of action. The maximum of effective concentration of the antioxidants investigated by the given method has made 10<sup>-6</sup> mol/l.

*Key words:* "oxidation stress", antioxidant activity, hinazolin S-substituted, superoxideradical.

## ВСТУП

Головною особливістю енергетичного обміну головного мозку, на відміну від інших тканин, є значна залежність від надходження кисню. Здійснюється це завдяки багатьом процесам. Для цього мозок дорослої людини в стані спокою використовує 20-25% спожитого кисню, хоча маса його становить лише 2% від маси тіла [1].

Це ще раз визначає значність кисню в процесах життєдіяльності організму. Але не слід забувати про токсичність надлишку даної речовини у вигляді його різноманітних радикалів. Таким чином, насичені активними формами кисню тканини перебувають у стані окислювального стресу.

Синглетний кисень утворюється в реакціях фотоокислення в присутності так званих фотосенсибілізаторів: флавінів, гематопорфірину, хлорофілу, а також при дисмутації супероксидних радикалів. Синглетний кисень є агресивним у відношенні до біосубстратів, особливо до молекул із подвійним зв'язками; кінцевим результатом таких реакцій є утворення гідроперекисів органічних молекул [2].

Тому кисню та активним його формам надають важливого значення в процесах еволюції та видоутворення. Відомо, що в ряді клітин дані сполуки викликають підвищення клітинного поділу, до того ж, даний ефект реалізується через ряд специфічних білків (NF-κB, c-Jun, p21, MAPK, c-fos) [3,4].

У процесі нормального функціонування організму більша частина молекулярного кисню каталізується цитохромоксидазою та перетворюється на дві молекули води. Але поряд із тим можливий й інший шлях, у результаті якого утворюється радикал, який має неспарений електрон - супероксид-аніон кисню: O<sub>2</sub><sup>-</sup>.

Відомо, що супероксидний радикал не має високої реакційної здатності, до того ж існує фермент супероксиддисмутаза, який здатний перетворювати його до перекису. Проте можливий збій у даній системі у вигляді збільшення кількості радикалів чи недостатності захисної системи клітини. Як наслідок - наростання явища окислювального стресу. Захист клітини лежить на антиоксидантній системі, яка містить декілька компонентів - власні антиоксиданти клітини та ферменти.

Вищеописані процеси можуть відбуватися навіть у практично здоровій клітині, а при патологічних порушеннях, таких як ішемія головного мозку, вірогідність пропорційно зростає. Активація вільнорадикальних процесів призводить до різноманітних ускладнень - порушення генерації і провідності імпульсу, експресії генів, апоптозу тощо. У подальшому виникають когнітивні патології, які мають різноманітні прояви в людей [5,6,7].

Останнім часом у світлі розуміння важливості активних форм монооксиду азоту (NO) та його цитотоксичних дериватів у патогенезі захворювань серцево-судинної системи, нейродеструктивних захворювань, увагу фармакологів привертають препарати, дія яких направлена не тільки на обмеження утворення NO, але і на інактивацію його агресивних форм.

Найчастіше для лікування даних порушень використовують групу ноотропних засобів, які стимулюють передачу збудження в нейронах, покращують енергетичні процеси та кровообіг, підвищують стійкість до гіпоксії.

Лікарських препаратів, які б повністю попереджували чи усували прояви несприятливих факторів, у даний час не існує. Тому абсолютно незаперечним є питання пошуку препаратів антиоксидантного та нейропротекторного профілю.

Особливу зацікавленість у плані пошуку препаратів вказаного профілю, які б обмежували негативну дію стресу на клітину, представляють похідні хіназоліну. Попередніми роботами було встановлено, що S-заміщені хіназоліну проявляють антиоксидантну дію в умовах *in vitro*.

Метою даного дослідження було вивчення антиоксидантних властивостей S-заміщених хіназоліну *in vitro* за впливом на показники інгібування супероксидрадикалу.

## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Оцінку антиоксидантної активності (АОА) сполук проводили на моделі інгібування утворення супероксидрадикалу. У роботі було досліджено 30 сполук S-заміщених хіназоліну, які проявляють високу антиоксидантну активність *in vitro* (схема 1). Сполуки синтезовано на кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету (завідувач кафедрою, д.фарм.н., професор Мазур І.А.).

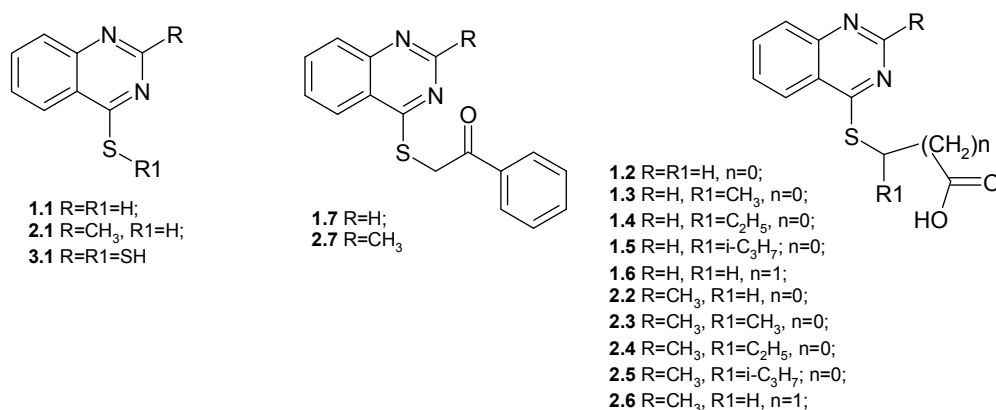


Схема 1. Принципова схема будови похідних S-заміщених хіназоліну

Як систему, яка продукує супероксидрадикал, брали аутоокислення адреналіну в адренохром у лужному середовищі. Розчин адреналіну готували на бідистильованій воді, використовуючи тільки чистий кристалічний адреналін. Точну наважку адреналіну (40,5 мг) вносимо до мірної колби на 100 мл і додаємо 50 мл бідистильованої води, після чого по 0,5 – 1 мл 0,1н HCl, доводять рН до 2,0, потім бідистиліатом доводять об'єм до 100 мл. Робочий об'єм доводять до 100 мл. Робочий розчин адреналіну зберігають у щільно закритій ємкості із затемненого скла і прохолодному місці. Розчин вважається придатним, якщо він прозорий, не забарвлений і не містить осаду. у випадку, коли використовується неякісний розчин, який являє собою рацематну суміш оптичних ізомерів, його концентрація в розчині може зростати до 0,4 – 0,5%. До кювети спектрофотометра, товщиною 10 мм, вносять 2 мл 0,15 М карбонатного буфера рН 10,2, який містить 500 мг трилону Б на 1 л об'єму. Після цього вносять речовини в концентрації 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-6</sup>, 10<sup>-9</sup> моль/л об'ємом до 0,5 мл.

Реакцію запускають внесенням 0,4 мл розчину адреналіну. Оптичну густину визначають при довжині хвилі 480 нм проти карбонатного буфера за кінцевим показником стрілки.

У роботі ставлять дві проби: дослідна, куди вноситься досліджувана речовина, і контрольна, яка не містить досліджувану речовину.

АОА розраховують за ступенем гальмування аутоокислення адреналіну в адренохром за формулою:  $АОА = E_0 - E_k / E_0 * 100\%$

Статистичний аналіз даних проводили згідно з пакетом програм “Statistic for Windows”. Для оцінки вірогідності різниці між групами використовували критерій Манна-Уїтні.

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як бачимо з даних, які подано в таблиці 1, досліджувані сполуки та еталонні препарати - тіотриазолін, метіонін, ацетилцистеїн, проявляють антиоксидантну активність в умовах гальмування аутоокислення адреналіну до адренохрому. Дана властивість досліджуваних речовин і еталонних препаратів проявляється в діапазоні концентрацій  $10^{-3}$  –  $10^{-9}$  М із максимальним проявом ефекту в концентрації  $10^{-6}$  М.

Таблиця 1 – Вплив S-заміщених хіназоліну на гальмування аутоокислення адреналіну до адренохрому ( $M \pm m$ )  $n=10$

| Сполука       | $10^{-3}$ моль/л |           | $10^{-6}$ моль/л |           | $10^{-9}$ моль/л |           |
|---------------|------------------|-----------|------------------|-----------|------------------|-----------|
|               | $D \pm \Delta X$ | АОА,<br>% | $D \pm \Delta X$ | АОА,<br>% | $D \pm \Delta X$ | АОА,<br>% |
| 4-SH-амін     | 0,107±0,0172*    | 71,84     | 0,092±0,0305*    | 75,66     | 0,226±0,0401*    | 40,21     |
| NC-109        | 0,092±0,0268*    | 75,79     | 0,108±0,0396*    | 71,42     | 0,182±0,0533*    | 51,85     |
| NC-221        | 0,202±0,0368*    | 46,84     | 0,158±0,0396*    | 58,2      | 0,316±0,0831*    | 16,4      |
| NC-135        | 0,23±0,0811*     | 39,47     | 0,076±0,0427*    | 78,89     | 0,166±0,0312*    | 56,08     |
| NC-56         | 0,282±0,0533*    | 25,79     | 0,146±0,0235*    | 61,38     | 0,308±0,0641*    | 18,52     |
| NC-68         | 0,252±0,0533*    | 33,68     | 0,074±0,0312*    | 80,42     | 0,226±0,0401*    | 40,21     |
| NC-90         | 0,246±0,474*     | 35,26     | 0,196±0,0345*    | 48,15     | 0,248±0,0914*    | 34,39     |
| NC-91         | 0,214±0,474*     | 43,68     | 0,146±0,0474*    | 61,38     | 0,118±0,0305*    | 68,78     |
| NC-94         | 0,238±0,0338*    | 37,37     | 0,27±0,0728*     | 28,57     | 0,182±0,0446*    | 51,85     |
| NC-112        | 0,092±0,0268*    | 75,79     | 0,088±0,0396     | 76,72     | 0,244±0,0517*    | 35,45     |
| NC-114        | 0,136±0,0451*    | 64,21     | 0,16±0,0483*     | 57,67     | 0,152±0,0305*    | 59,79     |
| NC-132        | 0,27±0,0667*     | 28,95     | 0,09±0,0252*     | 76,19     | 0,306±0,0451     | 19,58     |
| NC-150        | 0,206±0,0312*    | 56,49     | 0,252±0,0854*    | 33,33     | 0,31±0,0545      | 17,99     |
| NC-153        | 0,242±0,047*     | 36,32     | 0,154±0,0661*    | 59,26     | 0,258±0,0948*    | 31,75     |
| NC-187        | 0,252±0,0533*    | 33,68     | 0,1±0,0291*      | 73,54     | 0,162±0,0368*    | 57,14     |
| LA-1          | 0,115±0,0103*    | 69,74     | 0,046±0,0086*    | 87,83     | 0,114±0,0113*    | 69,84     |
| LA-2          | 0,066±0,0113*    | 82,63     | 0,0242±0,0242*   | 93,6      | 0,085±0,0103*    | 77,51     |
| LA-5          | 0,074±0,0113*    | 80,53     | 0,012±0,0092*    | 96,83     | 0,021±0,0153*    | 94,44     |
| NC-69         | 0,082±0,0172*    | 78,42     | 0,0128±0,009*    | 96,61     | 0,024±0,0086*    | 93,65     |
| NC-140        | 0,08±0,0146*     | 78,95     | 0,053±0,0092*    | 85,98     | 0,28±0,0564*     | 25,93     |
| NC-64         | 0,092±0,0092*    | 75,79     | 0,012±0,0092*    | 96,83     | 0,045±0,0103*    | 89        |
| NC-236        | 0,081±0,0153*    | 78,68     | 0,012±0,0092*    | 96,83     | 0,057±0,0092*    | 84,92     |
| NC-233        | 0,097±0,0248*    | 74,47     | 0,012±0,0092*    | 96,83     | 0,0316±0,023*    | 91,64     |
| NC-229        | 0,23±0,0564*     | 39,47     | 0,012±0,0092*    | 96,83     | 0,0564±0,0103*   | 39,47     |
| NC-232        | 0,045±0,0103*    | 89        | 0,012±0,0092*    | 96,84     | 0,055±0,0103*    | 85,45     |
| NC-224        | 0,018±0,0092*    | 95,26     | 0,0104±0,0011*   | 97,25     | 0,057±0,0172*    | 84,92     |
| NC-206        | 0,074±0,0113*    | 80,53     | 0,025±0,0103*    | 33,86     | 0,052±0,0117*    | 86,24     |
| NC-207        | 0,018±0,0172*    | 95,24     | 0,012±0,0092*    | 96,84     | 0,07±0,0146*     | 81,48     |
| NC-208        | 0,092±0,0117*    | 75,66     | 0,054±0,0113*    | 85,79     | 0,061±0,0113*    | 8386      |
| LA-16         | 0,053±0,0092*    | 86,05     | 0,02±0,0146*     | 94,71     | 0,082±0,0172*    | 78,31     |
| тіотриазолін  | 0,306±0,0312*    | 19,47     | 0,072±0,0338*    | 80,95     | 0,288±0,047*     | 23,81     |
| метіонін      | 0,258±0,0172*    | 32,11     | 0,068±0,0305*    | 82,01     | 0,166±0,0537*    | 56,08     |
| ацетилцистеїн | 0,224±0,0184*    | 41,05     | 0,082±0,0172*    | 78,31     | 0,118±0,0422*    | 68,78     |
| контроль      | 0,38±0,0146*     |           | 0,378±0,0092*    |           | 0,378±0,0092*    |           |

\* -  $p < 0,05$  по відношенню до контролю

Більшість досліджуваних речовин проявляють антиоксидантну активність, яка за силою дії перевищує чи конкурує з активністю еталонних препаратів. Найкраще характеризуються сполуки, які мають у четвертому положенні хіназоліну сульфур, зв'язаний із залишками кислот. Найкращі показники має сполука NC-224, яка у концентраціях розчину  $10^{-3}$  моль/л,  $10^{-6}$  моль/л,  $10^{-9}$  моль/л проявляє антиоксидантні властивості: 95,26%, 97,25%, 84,92% відповідно. Слід відзначити факт залежності активності сполук від концентрації розчину. Практично у всіх досліджуваних варіантах найбільш ефективним є значення  $10^{-6}$  моль/л. Це підтверджує загальновідомі факти активності даної групи речовин саме у вказаному діапазоні. Сполука NC-224 також найактивніша саме у даній концентрації розчину.

З отриманих даних можна зробити висновок про те, що досліджувані речовини є перспективним класом і з точки зору пошуку препаратів, які проявляють антиоксидантний механізм дії.

Детальний кількісний аналіз взаємозв'язку «структура-активність» буде вивчено за додатковими експериментальними дескрипторами відповідних похідних. Подальша робота полягає у детальному дослідженні кореляцій «структура-активність», що у свою чергу дозволить нам знайти сполуку, яка має найбільш позитивні характеристики.

### ВИСНОВКИ

1. Отримані результати дослідження свідчать про високу антиоксидантну активність S-заміщених хіназоліну, яку вони демонструють у дослідах *in vitro* шляхом інгібування утворення супероксидрадикалу, за силою дії перевищуючи чи конкуруючи з еталонними тіольними препаратами.
2. Серед досліджених похідних сполуки «лідери» проявляють найбільшу антиоксидантну активність у розведенні  $10^{-6}$  моль/л. Дана концентрація є найбільш ефективною і для препаратів порівняння.
3. Методом гальмування аутоокислення адреналіну в адренохром показана перспективність подальшого пошуку антиоксидантних сполук у даному класі речовин.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Особливості обміну речовин у нервовій тканини// Клінічна біохімія/ за ред. О.Я. Склярва. - К. : Медицина, 2006. - С. 319 - 321.
2. Осипов А. Н. Активные формы кислорода и их роль в организме/ А. Н. Осипов, О. А. Азизова, Ю. В. Владимиров// Успехи. биол. химии. - 1990. – Т. 31, № 3. - С. 180 - 208.
3. Скулачев В. П. Система антиоксидантной защиты организма и старение / В.П. Скулачев// Биохимия. - 1998. - Т. 63, Вып. 11. - С.1570 - 1579.
4. Bhuyan K. C. Biochim. et biophys.ata. / K. C. Bhuyan, D. K. Bhuyan//Biochim. et biophys.ata. - 1977. - vol. 497, P. 641 - 651.
5. Методи оцінки антиоксидантних властивостей фізіологічно активних сполук при ініціюванні вільно радикальних процесів *in vitro* (методичні рекомендації)/ Ю.І. Губський, В. В. Дунаєв, І. Ф. Беленічев та ін. - К.: ДФЦ МОЗ України, 2002. – 26 с.
6. Болдырев А. А. Роль активных форм кислорода в жизнедеятельности нейрона/ А. А. Болдырев// Успехи физиол. наук. - 2003. – Т. 34, № 3. - С. 21 - 35.
7. Halliwell B. Freeradical in Biology and Medicine/ B. Halliwell, M. C. Yutteridge. - Oxphord: ClarendonPress, 1999. – 320 p.