

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ	6
ВСТУП	7
РОЗДІЛ 1. БІОЛОГІЧНИЙ ПОТЕНЦІАЛ S-ХІНОЛІЛЗАМІЩЕНИХ АМІНОТІОЛІВ ТА ТІОКИСЛОТ: ВІДОМІ ФАКТИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ	10
Відомі біорегулятори та перспективні субстанції серед похідних S-(хінолін-4-іл)-L-цистеїну та його структурних аналогів	10
Огляд відомих радіопротекторів та антиоксидантів	17
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	46
Матеріал, що використовувався у роботі	46
Фізико-хімічні методи аналізу	46
Метод комп'ютерного прогнозування біологічної активності сполук	47
Вивчення токсикологічного впливу сполук на різні таксономічні групи	49
Визначення антиоксидантної активності	51
Дослідження протипухлинної активності	54
Дослідження радіопротекторної активності	56
Статистична обробка даних	60
РОЗДІЛ 3. КОМП'ЮТЕРНИЙ ПРОГНОЗ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ	61
Взаємозв'язок хімічної структури та прогнозованої біологічної активності серед похідних S-(2-метилхінолін-4-іл)-L-цистеїну	63
Взаємозв'язок хімічної структури та прогнозованої біологічної активності серед похідних β-(2-метилхінолін-4-ілтїо)-пропіонової кислоти	67
Взаємозв'язок хімічної структури та прогнозованої біологічної активності похідних S-(2-метилхінолін-4-іл)цистеаміну	72

Визначення перспективних сполук та напрямів дослідження їх біологічної дії в ряду похідних <i>S</i> -(2-метилхінолін-4-іл)- <i>L</i> -цистеїну та їх структурних аналогів	78
РОЗДІЛ 4. СИНТЕЗ ТА ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ	83
Синтез і фізико-хімічні властивості похідних <i>S</i> -(2-метилхінолін-4-іл)- <i>L</i> -цистеїну	90
Синтез і фізико-хімічні властивості похідних β -(2-метилхінолін-4-ілтіо)-пропіонової кислоти	95
Синтез і фізико-хімічні властивості похідних <i>S</i> -(2-метилхінолін-4-іл)цистеаміну	100
Експериментальна частина	103
РОЗДІЛ 5. ВИВЧЕННЯ ЗВ'ЯЗКУ МІЖ ХІМІЧНОЮ БУДОВОЮ ТА БІОЛОГІЧНОЮ АКТИВНІСТЮ	107
Протимікробна активність	107
Цитотоксичність (фітотоксичність)	111
Гостра токсичність	120
Антирадикальна активність <i>in vitro</i>	124
Протипухлинна активність	133
РОЗДІЛ 6. АНТИОКСИДАНТНА ТА АНТИРАДИКАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ЯК ПЕРЕДУМОВА РАДІОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ	140
Визначення антирадикальної та антиоксидантної активності сполук методом імпульсної вольтамперометрії	141
Радіопротекторна активність	147
ВИСНОВКИ	167
ДОДАТКИ	169
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	195



Корнет Марина, кандидат біологічних наук (біоорганічна хімія), доцент кафедри хімії, завідувача лабораторією біотехнологій фізіологічно активних речовин Запорізького національного університету.



Амінова Аліна, аспірантка кафедри хімії Запорізького національного університету.



Бражко Олександр, професор, доктор біологічних наук (біоорганічна хімія), завідувач кафедри хімії Запорізького національного університету. Академік Національної академії наук вищої освіти України.



Завгородній Михайло, кандидат біологічних наук (біоорганічна хімія), доцент кафедри садово-паркового господарства Хортицької національної академії.

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ

DMF – dose modifying factor
PASS – Prediction of Activity Spectra for Substances
АФК – активні форми кисню
АОА – антиоксидантна активність
АЦЦ – ацетилцистеїн
БК – біологічний контроль
ВРО – вільнорадикальне окиснення
ГПЗ – гостра променева загибель
ГПХ – гостра променева хвороба
ІО – іонізуюче опромінення
ІПВ(в)% – інтегральний показник виживаності для щурів, що вижили
ІПВ(п)% – інтегральний показник виживаності для загиблих щурів
ІПЧ(в)% – інтегральний показник частоти появи ознаки ГПХ у щурів, що вижили
ІПЧ(п), % – інтегральний показник частоти появи ознаки ГПХ у загиблих щурів
ЛД₃₀ – летальна доза для щурів за 30 днів
ЛД₅₀ – напівлетальна доза
ЛДГ – лактатдегідрогеназа
МА – мітотична активність
МО – мікроорганізми
МО – міжнародна одиниця
МПК – мінімальна концентрація, що подавляє ріст МО
ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів
СОД – супероксиддисмутаза
СТЖ – середня тривалість життя
ФАР – фізіологічно активні речовини
ШКТ – шлунково-кишковий тракт

ВСТУП

Пошук нових високоефективних та малотоксичних біоактивних молекул ведеться як на основі природних, так і штучних сполук. Серед них важливе місце займає азотовмісний гетероцикл хінолін, його різноманітні похідні відомі як синтони в органічному синтезі та ефективні біологічно активні сполуки [1]. За останнє двадцятиріччя в літературі з'явилась значна кількість публікацій українських (І.В. Українець, О.А. Бражко, Л.О. Омелянчик) і закордонних (Herman Shut, Frank Baschelli, Maria Papadopoulou, Yae Kurosawa) науковців про різноманітні види біологічної дії похідних хінолінового ряду [2; 3; 4]. Вони демонструють значний потенціал як антимікробні, антималярійні, фунгістатичні та протипаразитичні препарати. Похідні цього азагетероциклу також проявляють анальгетичну, нейротропну та протизапальну дію, є сполуки з протипухлинною та імунотропними властивостями, відомі високоефективні антиоксиданти, перспективні сполуки для лікування вірусів герпесу та СНІДу [5]. Використовують похідні хінолінового ряду як ветеринарні препарати, барвники, хімічні реагенти тощо [6; 7; 8; 9]. Значну кількість досліджень присвячено гідрокси-, карбокси- та амінопохідним [10; 11; 12], тілопохідні хіноліни на цей час залишаються маловивченими [13; 14]. Декілька десятиліть поспіль наукова група вчених біологічного факультету Запорізького національного університету проводить багатопланові дослідження зі створення біорегуляторів саме на основі *S*-заміщених 2(4)-меркаптохінолінів, що є тілопохідними хіноліну.

Представлена робота ілюструє підходи та результати експериментів за одним з таких напрямків досліджень, що сконцентровано на розробці субстанцій з антиоксидантними та радіопротекторними властивостями, одночасно з вивченням їх токсичності. Питання протирадіаційного захисту людини на сьогодні залишається однією з найважливіших і дуже актуальних проблем практичної фармакології. Широкі масштаби мирного

використання атомної енергії в ряді галузей промисловості, медицині, геології, археології, сільському господарстві, польоти пасажирських літаків на великих висотах (особливо у період спалахів на Сонці), дослідження космосу, а також загроза ядерного конфлікту та радіологічного тероризму становлять потенційну небезпеку для нинішнього і майбутніх поколінь. Натепер жодного безпечного і ефективного протирадіаційного препарату для найбільш важкої травми – гострого променевого синдрому (ГПС) не було схвалено Управлінням з контролю за продуктами й ліками США (FDA). Недоліки схвалених FDA радіопротекторів ініціюють інтенсивні дослідження для нового покоління радіаційних контрзаходів. Для практичного використання доступна обмежена кількість радіопротекторів, частина яких може використовуватися для виняткових ядерних/радіологічних непередбачених обставин. Інша частина ліків, які хоч і демонструють певні позитивні результати, залишаються експериментальними за своїм характером і несанкціонованими для використання людиною при ГПС.

Представлені у монографії сполуки мають потенціал стати ефективними антиоксидантами або основою для нових радіопротекторних засобів, що володіють пролонгованою дією з менш вираженими побічними ефектами та токсичними властивостями. Крім того, дані сполуки можуть знайти своє застосування і для захисту здорових тканин при променевої терапії злоякісних пухлин. Модифікація за допомогою хіноліну відомих радіопротекторів, зокрема ендогенних тіолів (цистеаміну, цистеїну) є одним із перспективних шляхів, що дозволяє зменшити токсичність та пролонгувати їх дію, шляхом уповільнення їхнього метаболізму, та зменшення необхідних доз для протекторного ефекту. Також, за останнє десятиріччя з'явилося багато публікацій, присвячених антиоксидантним властивостям різноманітних похідних хіноліну, що можуть стати основою для створення радіопротекторних препаратів з антиоксидантним механізмом дії [15; 16; 17; 18; 19; 20]. Найбільш перспективними похідними є 4-тіопохідні хіноліни, що є ефективними «пастками» вільних радикалів [21].

У цій роботі описано один із підходів, що використовують при розробці біорегуляторів. Так, дослідження радіопротекторної

активності та отримання статистично достовірних даних потребує значної кількості тварин і часу на проведення таких досліджень. Тому, для максимальної ефективності даних експериментів доцільні віртуальні дослідження щодо антирадикальної, антиоксидантної, мембранопротекторної, радіопротекторної активностей та дослідження антиоксидантної, антирадикальної дії (як критеріїв відбору потенційних радіопротекторів) на кількох моделях *in vitro*: метод оцінювання процесів гальмування окиснення адреналіну та імпульсною вольтамперометрією. Використання методу імпульсної вольтамперометрії дозволяє зробити уточнення в механізм антиоксидантної дії досліджуваних сполук і, крім того, проводити одночасне тестування їх на антиоксидантну та антирадикальну активність за досить короткий проміжок часу. І вже обмежена кількість сполук (*hit-compounds*) тестується *in vivo* в умовах гострого опромінення.

Представлена монографія продовжує цикл праць науковців Запорізького національного університету, що присвячено гібридним похідним, які поєднують у своїй структурі азотовмісний гетероцикл та ендогенні амініотиоли/кислоти. Результати досліджень останніх років (Бражко О. А., Корнет М. М., Омелянчик Л. О., Лабенська І. Б.) свідчать, що поєднання азотовмісного гетероциклу та меркаптокарбонових кислот зумовлює посилення біологічної дії, призводить до появи нових ефектів і є перспективним для молекулярного дизайну та створення нових високоефективних ліків.

РОЗДІЛ 1. БІОЛОГІЧНИЙ ПОТЕНЦІАЛ S-ХІНОЛІЛЗАМІЩЕНИХ АМІНОТІОЛІВ ТА ТІОКИСЛОТ: ВІДОМІ ФАКТИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ

Відомі біорегулятори та перспективні субстанції серед похідних S-(хінолін-4-іл)-L-цистеїну та його структурних аналогів

У літературі відомо більше 100 лікарських засобів похідних хіноліну. Прикладами яких є наступні засоби: антималярійні (хінін, хінідін, хлорохін, мефлохін, амодахінін, примахін тощо), противірусні (саквінавір), антибактеріальні (фторхінолони, такі як ципрофлоксацин, спарфлоксацин, гатифлоксацин тощо), протигрибково-протиопрозоїний (кліохінол), антигельмінтний (оксамніхін), місцевий анестетик (дибукаїн), антиастматичний (монтелукаст), протипухлинні засоби (камтотецин, іринотекан, топотекан та ін.), антипсихотичні (аріпіпразол, брекспіпразол тощо), антиглаукомний (картіолол) та кардіотонік (веснарінон) [22; 23; 24].

Дослідження 4-тіопохідних хіноліну як потенційних антибактеріальних та антималярійних препаратів почались у 40–50 роках минулого століття [25]. Похідні хіноліну інгібують ріст мікробів, порушують бар'єр проникливості їхніх мембран (порушення проникливості цитоплазматичної мембрани, гальмування транспорту електролітів або окислювального фосфорилування) і пригнічують енергетичні процеси (синтез білків, муреїну клітинної стінки) [26]. Відомо, що хіноліни блокують синтез нуклеїнових кислот, призводять до лізису частин рибосом і сприяють інтенсивній елімінації з клітин РНК [27].

Зокрема, похідні S-(хінальдин-4-іл)-цистеїну проявляють слабку антибактеріальну дію. Гідразиноліз S-(хінальдин-4-іл)-цистеїну та блокування гідразидного залишку відомим

фармакофором – залишком 5-нітрофурану, дещо підвищує бактеріостатичну дію речовин до грампозитивних бактерій [28].

Вивчення антималярійної активності 7-алкілмеркаптохінолінів показало, що активність сполук зумовлена інгібуючою дією по відношенню до НАДН сукцинатоксидази КоQ-ферментних систем мітохондрій. Крім того, у літературі зустрічаються відомості про похідні хіноліну, такі як N-оксиди 2-R-3-R'-4-R''-хінолінів, де R=Cl; R'=H, Hal; R''=SCH₂Ph, SAlk, що пригнічують систему переносу електронів у дихальному ланцюгу мітохондрій [29].

2,8,10-Триметил-1*H*,9*H*-піридо[3,2-*g*]хінолін-4,6-дитіон та {2-[6-(2-диетил-аміно-етилсульфо-нил)-2,8,10-триметил-піридо[3,2-*g*]хінолін-4-ілсуль-фоніл]-етил}-діетиламін проявляють антибактеріальний ефект відносно *Enterobacter aerogenes* [30]. 2,8,10-Триметил-4,6-біс[2-(N-(2'-диетиламіноетил)-N-диметиламіно)етилтіо]піридо-3,2-*g*] хінолін має цитотоксичну активність по відношенню до клітин T-лімфоми мишей L5178 Y штаму, що є резистентним до багатьох ліків.

Проведені нещодавно дослідження S-похідних 4-тіохінолінів свідчать про перспективність пошуку серед цього ряду не тільки сполук з антибактеріальною дією, а й із нейротропною, ранозагоюючою, аналгетичною, протизапальною та іншими видами біологічної активності [31]. Похідні 4-(триаміноалкілмеркапто)хіноліну володіють протизапальною та гангліоблокувальною властивостями.

Лікарські препарати на основі 3-R-аміно-4-алкілтіохіноліну (R=H, C₁-C₅, алкіл, алканоїл) проявляють селективну анксиолітичну та наркозопотенціюючу дію, не виявляючи заспокійливого і протисудомного ефектів. Похідні тіазоло[4,5-*c*]хіноліну виявляють депресивну дію і, на відміну від бензодіазепінів, не виявляють судом [32].

Гідроброміди бензоїлметилтіопохідних хіноліну мають діуретичну та нейротропну активність. Також запатентовано такі похідні 4-меркаптохіноліну, як піперидинова сіль 2-метил-6-метоксихіноліл-4-меркаптооцтової кислоти, що має ранозагоюючу активність, та 2-метил-4-(4-нітрофенацилмеркапто)-6-метоксихінолін, який проявляє антидіуретичну дію [33].

У літературі є поодинокі дані про цитотоксичну дію 4-тіопохідних хіноліну. Зокрема, інгібуючу дію на культуру пухлини штаму KB *in vitro* проявляє 2-метил-4-меркапто-6-метоксихінолін [34]. Цитотоксична дія пов'язана із блокуванням мітозу на стадії метафази. Протипухлинна активність деяких похідних хіноліну при гідролітичному розщепленні або відновленні зв'язку в клітинах пухлин значно активізувалася, і в порівнянні з іншими алкілюючими препаратами виявила більш виражену тропність дії.

Досить великі труднощі при лікуванні пухлин ліками обумовлені складністю боротьби з множинною лікарською резистентністю (МЛР). Одним з механізмів розвитку МЛР є підвищений синтез глікопротеїнів. Модулятори МЛР інгібують синтез р-глікопротеїну (*P-gp*), який посилено виробляють пухлинні клітини (що дозволяє їм «викидати» ксенобіотики, включаючи хіміотерапевтичні засоби з інтрацелюлярного простору). Дослідження французьких учених показали, що 2-(7-хлорохінолін-4-ілтіо)-*N,N*-диетилетанамін при додаванні до хіміотерапевтичних засобів здатен відновлювати їх початкову активність (інгібуючи р-глікопротеїн) на рівні з препаратом порівняння верапамілом [35].

Деякі дослідники вказують на імунодепресивну дію препаратів хінолінового ряду внаслідок пригнічення проліферації лімфоїдних клітин та зниження рівня імуноглобулінів класів *M*, *G*, *A* і протистрептококових антитіл [36].

Низку досліджень на предмет вивчення антиоксидантної дії 4-тіохінолінів як *in vitro*, так і *in vivo* було проведено лабораторією біотехнології фізіологічно активних речовин Запорізького національного університету (Л БФАР). 4-Меркаптохіноліни на моделях ферментативного та неферментативного ініціювання вільнорадикального окиснення ліпідів *in vitro* показали значну антиоксидантну дію, яка дещо знижується введенням електронодонорних груп (стабілізують тіонну структуру меркаптохінолінів) і підвищується при введенні електроноакцепторних – стабілізують тіольну структуру. Найбільшу антиоксидантну дію на моделях *in vitro* проявляють похідні (хінолін-4)-тіо- $\alpha(\beta)$ -карбонових кислот (рис. 1), яка знижується при введенні в цикл хіноліну алкоксигруп [37].