

¹Демченко А.М., ²Смольський О.С., ²Янченко В.О., ¹Москаленко О.В.

¹Ніжинський державний університет імені Миколи Гоголя

²Національний університет „Чернігівський колегіум” імені Т.Г.Шевченка

АНТИОКСИДАНТНІ ВЛАСТИВОСТЕЙ ПОХІДНИХ 1,3,5-ТРИАЗИН-2-ІЛ)-N-ГІДРАЗІНКАРБОТІОАМІДІВ В УМОВАХ ШТУЧНОГО НІТРОЗУЮЧОГО СТРЕСУ

Досліджена антиоксидантна активність похідних 1,3,5-триазин-2-іл-N-гідразінкарботіоамідів на моделі фотоокиснення натрію нітропрусиду в умовах *in vitro*. Ефективність гальмування утворення активних форм Нітроген(II) оксиду визначали за ступенем окиснення аскорбінової кислоти спектрофотометрично. Показана залежність антиоксидантно-прооксидантного статусу досліджуваних сполук від типу N-замісників, їх властивостей та наявності морфолін-конденсованих або піролідинконденсованих триазинів.

Ключові слова: триазини, антиоксидантна активність, активні форми нітроген (II) оксиду, антиоксиданти, прооксиданти.

The antioxidant activity of derivatives of 1,3,5-triazin-2-yl-N-hydrazinecarbothioamides was studied on the model of photooxidation of sodium nitroprusside under *in vitro* conditions. The effectiveness of inhibiting the formation of active forms of Nitrogen(II) oxide was determined by the degree of oxidation of ascorbic acid spectrophotometrically. The dependence of the antioxidant-prooxidant status of the studied compounds on the type of N-substituents, their properties, and the presence of morpholine-condensed or pyrrolidine-condensed triazines is shown.

Keywords: triazines, antioxidant activity, active forms of nitrogen (II) oxide, antioxidants, prooxidants

В основі розвитку патологічних процесів організму знаходиться оксидативний стрес, який виникає внаслідок зміщення окисно-відновного гомеостазу в бік прооксидантної компоненти. Характерною ознакою цих процесів може бути інтенсифікація реакцій пероксидного окиснення ліпідів, яке, як відомо [3], є одним з найбільш загальних механізмів пошкодження клітинних структур, зокрема, біологічних мембран. В організмах тварин у цих умовах активуються компенсаторно-адаптивні реакції, що забезпечують зниження рівня продуктів вільнорадикального окиснення речовин та підтримання їх вмісте у нормі [1]. В процесі розвитку окисного стресу відбувається утворення Нітроген (II) оксиду (NO) з його подальшим перетворенням у більш токсичний пероксинітрит-радикалу (ONOO*) шляхом зв'язування NO з супероксидрадикалом [2]. Саме гіперпродукція ONOO* викликає “нітрозуючий стрес”, який є однією з важливих ланок окисного

стресу і може призводити до посттрансляційної модифікації білкових молекул та окиснення ліпідних компонентів мембран.

Метою даної роботи було вивчення антиоксидантних властивостей систему неферментативного утворення NO в дослідях *in vitro*.

За об'єкт дослідження нами були обрані 2 серії 1,3,5-заміщених триазинів:

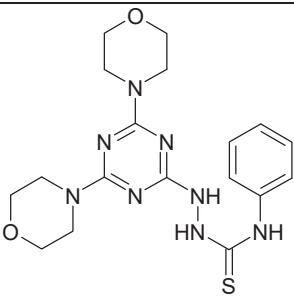
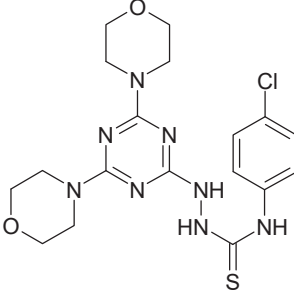
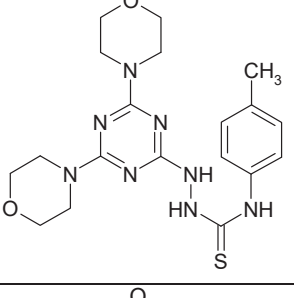
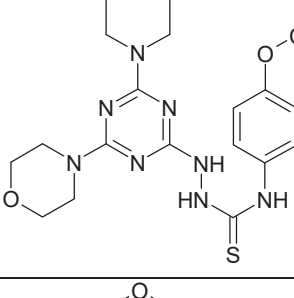
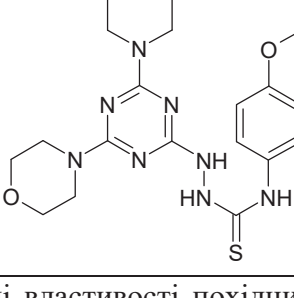
1. Похідні 2-(4,6-диморфолін-4-іл-1,3,5-триазин-2-іл)-*N*-гідразінкарботіоаміду (табл.1);
2. Похідні 2-(4,6-ди(1-піролідиніл)-1,3,5-триазин-2-іл)-*N*-гідразінкарботіоамідів (табл.2).

В першій серії досліджувались похідні 2-(4,6-диморфолін-4-іл-1,3,5-триазин-2-іл)-*N*-метилгідразинкарботіоаміду (табл.1).

Таблиця 1

Будова похідних 2-(4,6-диморфолін-4-іл-1,3,5-триазин-2-іл)-*N*-гідразінкарботіоаміду

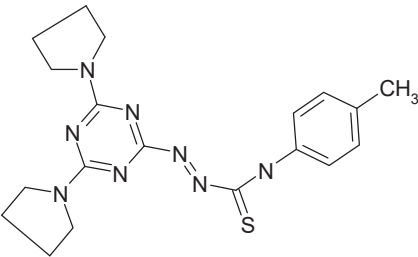
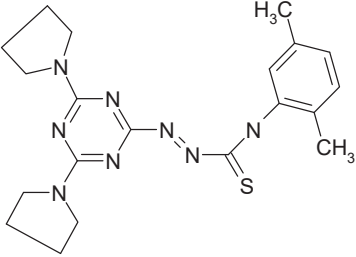
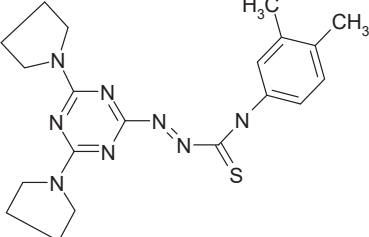
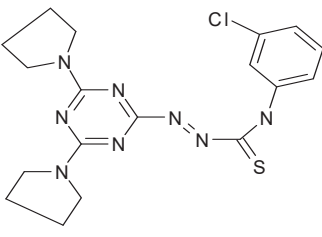
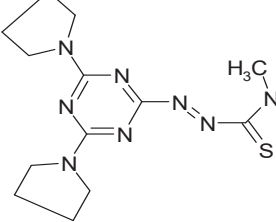
Позначення	Номенклатурна назва	Будова
1.1	2-(4,6-диморфолін-4-іл-1,3,5-триазин-2-іл)- <i>N</i> -метилгідразинкарботіоамід	
1.2	2-(4,6-диморфолін-4-іл-1,3,5-триазин-2-іл)- <i>N</i> -етилгідразинкарботіоамід	
1.3	<i>N</i> -бензил-2-(4,6-диморфолін-4-іл-1,3,5-триазин-2-іл)-гідразинкарботіоамід	

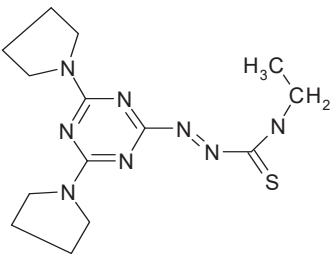
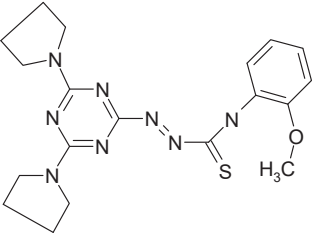
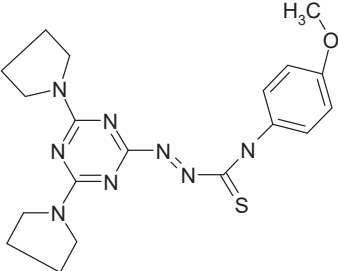
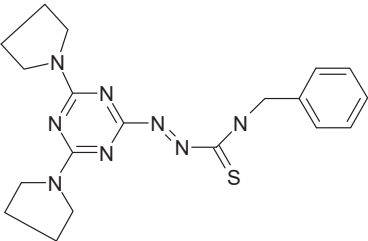
1.4	2-(4,6-диморфолін-4-іл-1,3,5-триазин-2-іл)- <i>N</i> -фенілгідразинкарботіоамід	
1.5	<i>N</i> -(4-хлорфеніл)-2-(4,6-диморфолін-4-іл-1,3,5-триазин-2-іл)-гідразинкарботіоамід	
1.6	<i>N</i> -(4-метилфеніл)-2-(4,6-диморфолін-4-іл-1,3,5-триазин-2-іл)-гідразинкарботіоамід	
1.7	<i>N</i> -(4-метоксіфеніл)-2-(4,6-диморфолін-4-іл-1,3,5-триазин-2-іл)-гідразинкарботіоамід	
1.8	<i>N</i> -(4-етоксіфеніл)-2-(4,6-диморфолін-4-іл-1,3,5-триазин-2-іл)-гідразинкарботіоамід	

В другій серії досліджували антиоксидантні властивості похідних 2-(4,6-ди(1-піролідиніл)-1,3,5-триазин-2-іл)-*N*-гідразинкарботіоамідів (табл. 2).

Таблиця 2

Будова похідних 2-(4,6-ди(1-піролідиніл)-1,3,5-триазин-2-іл)-*N*-гідразинкарботіоамідів

Позначення	Номенклатурна назва	Будова
2.1	2-[4,6-ди(1-піролідиніл)-1,3,5-триазин-2-іл]- <i>N</i> -(4-метилфеніл)-гідразинкарботіоамід	
2.2	<i>N</i> -(2,5-диметилфеніл)-2-[4,6-ди(1-піролідиніл)-1,3,5-триазин-2-іл]-гідразинкарботіоамід	
2.3	<i>N</i> -(3,4-диметилфеніл)-2-[4,6-ди(1-піролідиніл)-1,3,5-триазин-2-іл]-гідразинкарботіоамід	
2.4	<i>N</i> -(3-хлорофеніл)-2-[4,6-ди(1-піролідиніл)-1,3,5-триазин-2-іл]-гідразинкарботіоамід	
2.5	2-[4,6-ди(1-піролідиніл)-1,3,5-триазин-2-іл]- <i>N</i> -метилгідразинкарботіоамід	

2.6	2-[4,6-ди(1-піролідиніл)-1,3,5-триазин-2-іл]-N-етил-гідразинкарботіоамід	
2.7	2-[4,6-ди(1-піролідиніл)-1,3,5-триазин-2-іл]-N-(2-метоксифеніл)-гідрозинкарботіоамід	
2.8	2-[4,6-ди(1-піролідиніл)-1,3,5-триазин-2-іл]-N-(4-метоксифеніл)-гідрозинкарботіоамід	
2.9	2-[4,6-ди(1-піролідиніл)-1,3,5-триазин-2-іл]-N-(фенілметил)-гідрозинкарботіоамід	

Антиоксидантну активність (АОА) синтезованих сполук оцінювали за ступенем інгібування активних форм NO *in vitro* за методом [9]. Метод заснований на здатності Натрій нітропрусиду до автоокислення під дією світла з утворенням NO [4].

Ефективність гальмування утворення активних форм NO визначали за інгібуванням окиснення аскорбінової кислоти шляхом реєстрації зміни оптичної густини розчину при 265 нм на спектрофотометрі “СФ-46”.

Математичну обробку отриманих даних проводили методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюденту [6].

Встановлено (рис.1), що більшість сполук 1 серії проявляють антиоксидантні властивості, зокрема сполуки 1.3, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8 в яких замісниками є: бензил-, 4-хлорфеніл, 4-метилфеніл, 4-метоксифеніл, 4-етоксифеніл відповідно. Серед

вищезгаданих сполук відмічаємо сполуки, які по рівню АОА наближуються до відомого стандартного антиоксиданту – іюнолу.

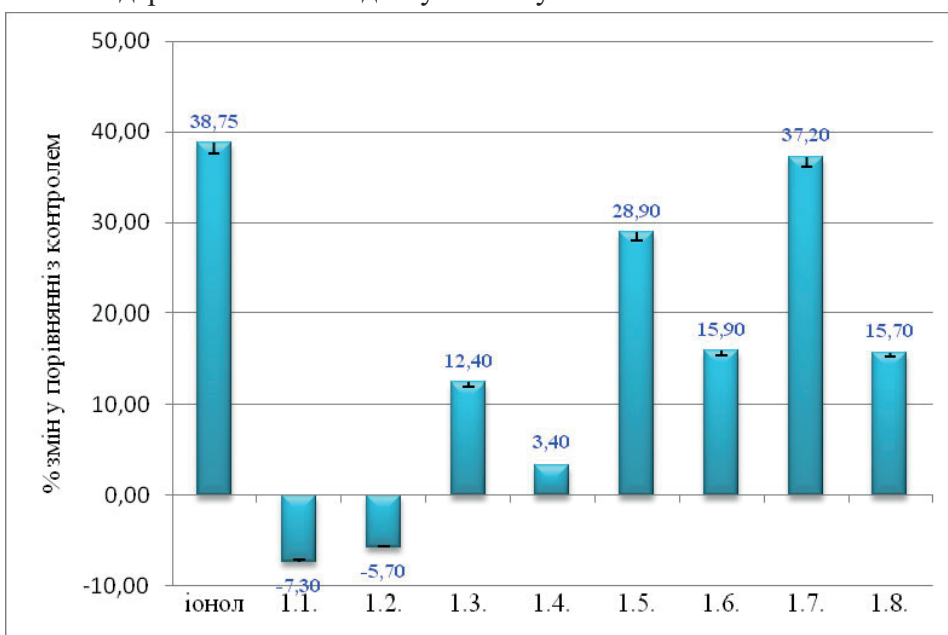


Рис.1. Антиоксидантна активність похідних 2-(4,6-диморфолін-4-іл-1,3,5-тріазин-2-іл)-N-гідразінкарботіоаміду

Згідно отриманих даних можна чітко прослідкувати вплив замісників на антиоксидантні властивості речовин даного ряду: радикали яких містять в 4-му положенні атом елементу, який перерозподіляє на себе електронну густину фенільного фрагменту або, якщо феніл-радикал зв'язаний з молекулою 2-(4,6-диморфолін-4-іл-1,3,5-тріазин-2-іл)-N-гідразінкарботіоаміду через метиленову групу, то речовина проявляє яскраво виражені антиоксидантні властивості.

Отже, сполуки 1 серії за збільшенням АОА та характером замісників можна розмістити в ряди:

- $< 1.2 < 1.4 < 1.3 < 1.8 < 1.6 < 1.5 < 1.7$ або
- метил < етил < феніл < бензил- < 4-етоксифеніл < 4-метилфеніл- < 4-хлорфеніл < 4-метоксифеніл.

Встановлено, що серед досліджуваних сполук виявлені представники, які проявляють як антиоксидантні (2.2, 2.3, 2.6, 2.7, 2.8 та 2.9), так і прооксидантні властивості (2.1, 2.4. 2.5). В речовинах з антиоксидантними властивостями в якості замісниками відповідно є: 2,5-диметифеніл-, 3,4-диметифеніл-, N-етил, 2-метоксифеніл-, 4-етоксифеніл-, N-бензил. Слід відмітити сполуки 2.2 та 2.8, які за ступенем АОА дещо перевищують стандарт – іюнол. Для прооксидантів характерні замісники 4-метилфеніл, 3-хлорфеніл-, N-метил відповідно.

Антиоксидантна активність похідних 2-(4,6-ди(1-піролідиніл)-1,3,5-тріазин-2-іл)-N-гідразінкарботіоамідів

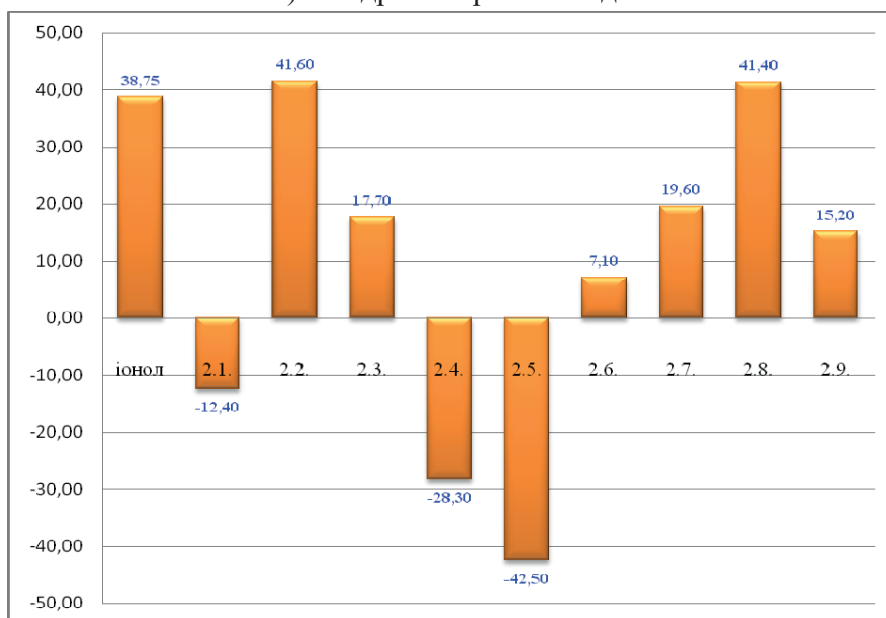


Рис.2. Антиоксидантна активність похідних 2-(4,6-ди(1-піролідиніл)-1,3,5-тріазин-2-іл)-N-гідразінкарботіоамідів

Взагалі прослідковується вплив замісників на антиоксидантні властивості речовин даного ряду: сполуки, радикали яких містять диметилфенільні-, а також О-заміщені алкілфенільні залишки, проявляють антиоксидантні властивості. Орієнтанти першого роду – СІ (сполука 2.4), N-метильний замісник речовини 2.5 та 4-метилфенільний замісник сполуки 2.1 визначають їх прооксидантні властивості.

Отже, за ступенем посилення АОА речовин серії 2 та характером замісників їх можна розмістити в наступні ряди:

- $< 2.4 < 2.1 < 2.6 < 2.9 < 2.3 < 2.7 < 2.8 < 2.2$ або
- 3-хлорфеніл- < 4-метилфеніл- < етил- < бензил- < 3,4-диметилфеніл < 2-метоксифеніл- < 4-етоксифеніл- < 2,5-диметилфеніл.

Вважаємо, що посилення АОА у речовин 2 серії пов'язане з наявністю О-заміщених та двозаміщених алкілфенільних замісників.

Порівняльний аналіз сполук обох серій свідчить, що при наявності однакових N-замісників у деяких сполук характер АОА та її направленість суттєво залежать від рядоутворюючих замісників – або морфолінових груп (серія 1) або піролідінових груп (серія 2). За таким принципом всі сполуки обох серій можна розділити на декілька груп:

1. Однаковий характер та ступінь АОА за однакових N-замісників.
2. Протилежний характер та ступінь АОА за однакових N-замісників.

До першої групи можна віднести такі пари речовин обох рядів :

- 1.1 – 2.5 (замісник метил-, оба прооксиданти, при переході від морфолінових та піролідінових груп прооксидантні властивості посилюються);
- 1.2 – 2.6 (замісник етил-, речовини із слабкими АО та ПО властивостями);
- 1.3 – 2.9 (замісник бензил, обидві речовини мають приблизно однакові АО властивості);
- 1.6 – 2.1 (замісник 4-метилфеніл-, при переході від морфолінових гру до піролідінових АОО змінюється на прооксидантну);
- 1.7 – 2.7 (замісник 4-метоксифеніл-, в обох випадках речовини проявляють АОО, проте в рядах морфолінові-піролідінові сполуки ступінь АОО дещо зменшується);
- 1.8 – 2.8 (замісник 4-етоксифеніл-, в обох випадках речовини проявляють АОО, проте в рядах морфолінові-піролідінові сполуки ступінь АОО збільшується).

Отже, серед досліджуваних сполук як потенційні потужні антиоксиданти, які можна рекомендувати для подальших досліджень з використаннях біологічних систем, рекомендуємо речовини 1.5, 1.7, 2.2 та 2.8.

Таким чином, за допомогою хімічної тест-системи в дослідях *in vitro* на моделі штучного оисного стресу нами встановлена залежність антиоксидантно-прооксидантного статусу похідних 2-(4,6-диморфолін-4-іл-1,3,5-триазин-2-іл)-N-гідразінкарботіоамідів та 2-(4,6-ди(1-піролідиніл)-1,3,5-тріазин-2-іл)-N-гідразін-карботіоамідів в залежності від типу N-замісників, їх властивостей та наявності морфолін-конденсованих або піролідінконденсованих триазинів.

Список використаних джерел

1. Барабой В.А. Перекисное окисление липидов и радиация. К.:Наук.думка, 1991. 253 с.
2. Беленічев І. Ф., Коваленко С. І., Карпенко О. В., Мазур І. А., Остроконь Г. В. // Ліки. 2002. № 5–6. С. 75–80.
3. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 257 с.
4. Губен – Вейль. Методы органической химии. 2-е изд., стер. Т. 2. Методы анализа. М.: Химия, 1967. 1032 с.
5. Коробов В.М. Укр. біохім. журн. - 2001. Т. 73, № 4. С. 13-18.
6. Лакин Г. В. Биометрия. М.: Высш. шк., 1990. 351 с.
7. Малишев И.Ю., Манухина Е.Б. Биохимия. 1998. Т. 63, № 7. С. 992-1006.
8. Малишев И.Ю., Манухииа С.И., Смирнов Е.В. и др. Изв. РАН. Сер. биол. - 1999. С. 211-215.

9. Методи оцінки антиоксидантної активності речовин при ініціюванні вільнорадикальних процесів у дослідах in vitro. Метод. реком., Київ: ДФЦ МОЗ України, 2002. 26 с.
10. Реутов В.П. // Успехи биол. химии, 1995, 35, С. 189-228.
11. Fulton B., Jeffery E.H. Toxicol. And Appl. Pharmacol, 1994, 127, № 1, P. 291-297.
12. Llesuy S.F., Tomaro M.L. Biochim. Et biophys. Acta.-1994, 1223, № 1, P. 9-14.

Демченко С. А.¹, Ніколаєнко В.О.², Москаленко О. В.², Ясна Н.С.²

¹Інститут молекулярної біології і генетики НАН України

²Ніжинський державний університет імені Миколи Гоголя

СИНТЕЗ ТА ЕЛЕКТРОФОРЕТИЧНА АКТИВНІСТЬ ПОХІДНИХ ІМІДАЗО[1,2-*a*]АЗЕПІНІЮ З ФРАГМЕНТОМ 4-АМІНОАНТИПІРИНУ

Синтезовано та досліджено електрофоретичну активність похідних імідазо[1,2-*a*]азепінію з фрагментом 4-аміноантипірину щодо альбуміну та лізоциму. Показано взаємодію препаратів з білковими молекулами та зміною їх властивостей.

Ключові слова: електрофорез, 4-аміноантипирин, альбумін, лізоцим.

Synthesized and investigated the electrophoretic activity of derivatives of imidazo[1,2-*a*]azepine with a 4-aminopyrine fragment towards albumin and lysozyme. The interaction of the compounds with protein molecules and the alteration of their properties were demonstrated.

Keywords: electrophoresis, 4-aminopyrine, albumin, lysozyme.

Здатність білкових молекул утворювати димери, тримери (олігомери) зумовлена амінокислотним складом білків, розчинністю макромолекул, їх просторовою орієнтацією. Метод нативного електрофорезу надає можливість спостерігати цю властивість макромолекул на електрофореграмах.

З метою дослідження електрофоретичної активності похідних імідазо[1,2-*a*]азепінію з фрагментом 4-аміноантипірину щодо альбуміну та лізоциму нами синтезовано відповідні сполуки за схемою: