

УДК 577.611.115+615.011.4

**ВЗАЄМОЗВ'ЯЗКИ МІЖ АНТИОКСИДАНТНОЮ АКТИВНІСТЮ,
ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЮ ДІЄЮ ПОХІДНИХ МОНОХРОМАНІВ,
ТРИМЕТИЛФЕНОЛІВ ТА ЕНЕРГЕТИЧНИМИ КВАНТОВО-ХІМІЧНИМИ
І СТРУКТУРНИМИ ПАРАМЕТРАМИ**

Ю. І. ГУБСЬКИЙ, Г. Г. ГОРЮШКО, В. П. МАКОВЕЦЬКИЙ, Н. В. ЛІТВИНОВА,
О. М. МАРЧЕНКО, Л. П. БАБЕНКО, О. М. ВЕЛИЧКО, В. В. ОЛАР

ДУ «Інститут фармакології і токсикології АМН України», Київ;
e-mail: agor@i.ua

Методами напівемпіричної квантової хімії обчислено енергетичні та структурні параметри молекул деяких похідних монохроманів і триметилфенолів. Установлено кореляцію між антирадикальною гепатопротекторною дією цих сполук і квантово-хімічними характеристиками їхніх молекул, що підтверджує наявність зв'язку «структура–активність» і свідчить про електронно-донорні властивості досліджуваних монохроманів та триметилфенолів.

Ключові слова: мембрани, антиоксиданти, антирадикальні властивості, енергія молекулярних орбіталей, монохромани, триметилфеноли.

Відомо, що виникнення патологічних станів організму здебільшого супроводжується процесами вільнорадикального окислення (ВРО) в мембранах [1, 2]. У попередніх дослідженнях механізмів дії хімічних речовин, у т.ч. ксенобіотиків (гепатотоксинів) або лікарських препаратів, виявлено ушкодження на клітинному рівні стану біологічних мембран – властивостей їхньої поверхні, глибинних гідрофобних зон фосфоліпідного бішару (пероксидація ліпідів, порушення структури протеїнів і протеїн-ліпідного контакту, мікророзривності в ліпідному бішарі тощо) [3–5]. Для пригнічення зазначених процесів потрібні нові ефективні антиоксиданти, передусім сполуки із фрагментами у структурі, що притаманні природним або відомим синтетичним антиоксидантам, які низькотоксичні і слугують ефективними «пастками» вільних радикалів.

До таких сполук належать деякі похідні коротколанцюгових монохроманів та триметилфенолів – аналоги вітаміну Е. Визначення антиоксидантної активності (АОА) сполук у мембранах ендоплазматичного ретикулума (ЕР) традиційним методом *in vitro* [6] шляхом інгібування швидкості накопичення малонового діальдегіду (ДМДА, % до контролю) при моделюванні аскорбатзалежного (АЗП) і NADPH⁺-індукованого пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) та неініційованого контролю (НК) свідчить про їхню високу антиокислювальну та гепатопротекторну дію. Однак

фармакологічним властивостям антиоксидантів, які виявлено в дослідженнях *in vitro*, не завжди притаманна очікувана антиоксидантна та цитопротекторна дія в організмі. Саме тому припускають, що виникнення багатьох біологічних ефектів обумовлено принципово іншими, ніж зв'язування вільних радикалів, біохімічними та клітинними механізмами [7, 5]. Водночас слід відзначити, що електронні та енергетичні характеристики, які, ймовірно, є основою антиокислювальних властивостей монохроманів та триметилфенолів – потенційних лікарських засобів із мембрано-гепатопротекторною дією – раніше не досліджувалися.

Метою роботи було вивчення антирадикальної активності, корелятивних взаємозв'язків між антиоксидантною активністю монохроманів і триметилфенолів та енергетичними квантово-хімічними і структурними характеристиками їхніх молекул. Порівняльні дані щодо таких параметрів молекул як структура і активність визначають, вірогідно, молекулярні механізми антирадикальної, антиоксидантної активності та гепатопротекторної дії в мембранах ЕР. Для з'ясування цього питання ми вважали доцільним обчислити квантово-хімічні параметри молекул: енергію вищої зайнятої молекулярної орбіталі (ВЗМО), структурні параметри гідрофобності (LgP), потенціали іонізації (PI), дипольні моменти (μ) тощо. Проведено також кореляційний аналіз одержаних експериментальних даних та обчислених квантово-хімічних показників.

Матеріали і методи

Досліджували дію сполук класу фенолів, похідних монохроманів та триметилфенолів, MB-1 – MB-10 (сполук 1–10, структурні формули яких наведено у статтях [6, 14]), а також відомого фенольного антиоксиданту дибунолу на мембрани EP [11]. Антирадикальні властивості сполук визначали спектрофотометрично як константи швидкості другого порядку K_2 ($M \cdot xв^{-1}$) при взаємодії досліджуваних фізіологічно активних речовин (ФАР) зі стабільним радикалом дифенілпікрілгідразином (ДФПГ) у спиртових розчинах: оцінювали зменшення відносного поглинання світла у пробах (довжина хвилі 520 нм, концентрація – $5 \cdot 10^{-5}$ M) після змішування з ФАР такої самої концентрації [8, 9]. Мікрокалориметричні дослідження теплового ефекту реакцій сполук 2–9 із бичачим сироватковим альбуміном (BCA, Serva, Німеччина), який застосовували як модель протеїнів, здійснювали в режимі змішування при температурі 26 °C у трис-НСІ-буфері (рН 7,4). Кінетичні криві теплового ефекту реакцій реєстрували на мікрокалориметрі LKB-2007 (Швеція) при 10^{-4} M ФАР та 0,20 мг/мл альбуміну. Ве-

личину теплового ефекту реакції визначали як інтегральну площу під кінетичними кривими (ΣS , ум. од.) протягом 10 хв від моменту змішування компонентів, що відображує знак та величину теплового ефекту реакції – екзотермічного (+) або ендотермічного (-).

Значення квантово-хімічних характеристик молекул монохроманів та триметилфенолів здійснювали за допомогою програмного пакету MORAC–2000 Version 1.11 з використанням напівемпіричного гамільтоніану AM-1 [10]. Статистичне оброблення експериментальних результатів проводили як описано в роботі [15].

Результати та обговорення

На рис. 1 наведено кінетичні криві взаємодії стабільного радикала ДФПГ зі сполуками MB 1–10 та дибунолом (координати: [ДФПГ], M^{-1} – час, хв) за 6 хв після змішування компонентів реакції. Значення константи швидкості реакції другого порядку K_2 (в $M^{-1} \cdot xв^{-1}$) – табл. 1, обчисленої відповідно до рекомендацій у статті [9], свідчать, що вона найвища у сполуки 8 і зменшується в послідовності: 8, 3, 2, 4 \approx дибунол, 1, 10, 5, 7, 6, 9.

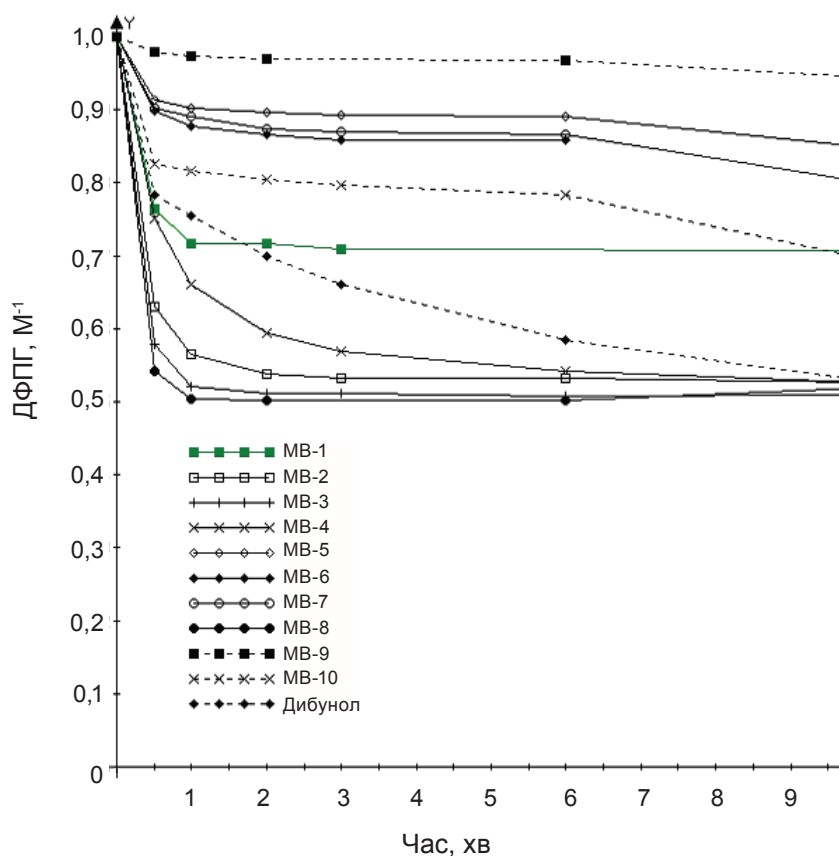


Рис. 1. Кінетичні криві реакцій MB-сполук 1–10 та дибунолу з ДФПГ в координатах [ДФПГ] – t , хв

У табл. 1 наведено експериментальні дані вивчення антирадикальної активності (АРА) сполук МВ (1–10) та дибунолу як швидкості гасіння стабільного радикала ДФПГ – сталої швидкості другого порядку K_2 (М·хв)⁻¹. Крім того, в ній наведено також значення АОА (% від контролю [6]) сполук МВ (1–10), які визначають інгібування швидкості накопичення продуктів ПОЛ у мембранах ЕР клітин печінки інтактних щурів (Δ МДА, % від контролю) за НК і АЗП. Порівняння значень АРА та АОА у досліджуваних сполук свідчить, що їх можна розділити на дві групи, які відмінні за антиоксидантною дією на мембрани ЕР. Дані кореляційного аналізу між параметрами антирадикальних властивостей сполук (K_2 та АОА) відображують високу кореляцію для МВ-сполук (8, 3, 4, 2, 6, 10) в НК, за винятком сполук 1, 7, 5, 9 ($r = 0,905$, $P \leq 0,05$). Але в разі АЗП кореляційна залежність визначається паралельно осі K_2 (крім сполук 5 і 7), що, ймовірно, відображує виключно антирадикальний механізм їхньої дії за таких умов ($r = 0,778$, $P \leq 0,05$). Отже, базуючись на даних кореляційної залежності, можна виокремити дві групи сполук із неоднаковими механізмами взаємодії з мембранами ЕР. Вплив монохроманів і триметилфенолів на протеїнову складову (гасіння сполуками триптофанової флуоресценції мембран ЕР) та щільність заряду на мембранній поверхні клітин ЕР печінки, які наведені в роботі [6], спонукали нас до вивчення природи хімічної взаємодії зазначених сполук із біомембранами.

Проведені мікрокалориметричні дослідження взаємодії сполук МВ (2–9) із модельним протеїном БСА у трис-НСІ-буфері (рН 7,4; рис. 2, А і 2, Б) відображують лише ендотермічний тепловий ефект МВ-сполук 8, 4 та 2 і частково МВ-сполук 5 та 3, який неоднаковий за характером (екзотермічний і ендотермічний) для МВ-сполук 3, 5, 6, 9. На рис. 2, А і 2, Б наведено кінетичні криві теплового ефекту взаємодії МВ-сполук 2, 3, 4, 5, 6, 8 і 9 із БСА в координатах U, мВ (t, хв) за 20 хв після змішування компонентів реакції, а в табл. 1 – величини інтегральних площин (ΣS , ум. од.) під кінетичними кривими, які мають ендотермічний (-) та екзотермічний (+) характер.

Згідно з даними, наведеними в роботі М. А. Ландау [11], реакції, що супроводжуються ендотермічним ефектом, свідчать про гідрофобні взаємодії, пов'язані зі зміною структури води, ентропією процесу, взаємодією неполярних груп із водою, тоді як реакції з екзотермічним ефектом характеризують, переважно, електростатичні зв'язки, що супроводжуються

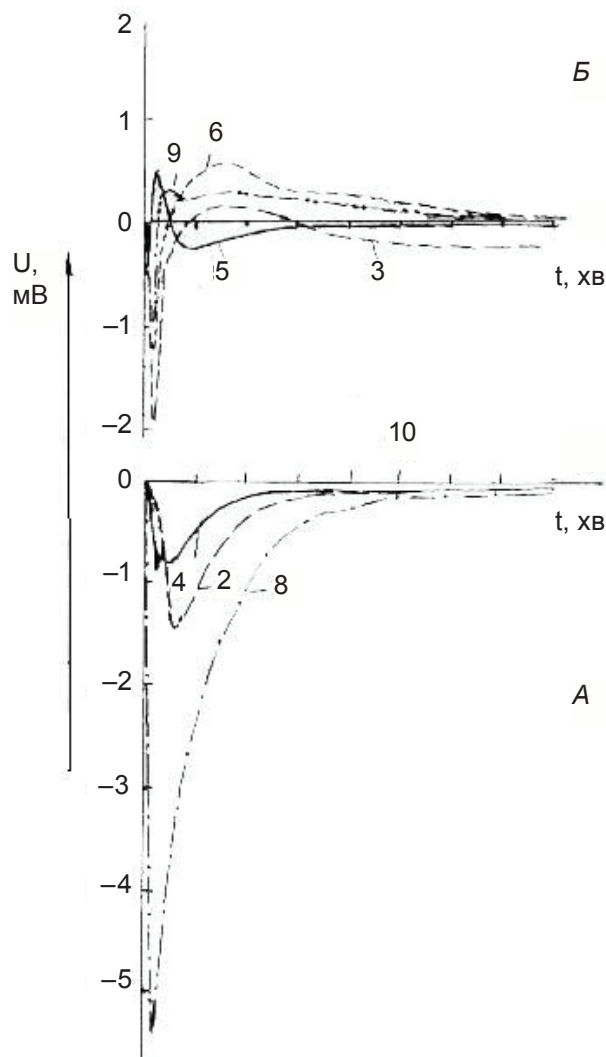


Рис. 2. Кінетичні криві теплового ефекту взаємодії деяких монохроманів та триметилфенолів із БСА у трис-НСІ-буфері (рН 7,4). Нумерація кривих відповідає назві МВ-сполук (2–9)

зменшенням ентропійного фактора через утворення водневих зв'язків або ван-дер-ваальсових взаємодій. Отже, з огляду на отримані дані можна припустити, що значний внесок до взаємодії БСА з МВ-сполуками (3, 5, 6 і 9) становлять зв'язки електростатичної природи, хоча БСА притаманні також донорно-акцепторні або електронно-донорні зв'язки [11]. У мембранах ЕР ефект гасіння протеїнової флуоресценції досліджуваними сполуками, вірогідно, обумовлюється індуктивно-резонансним перенесенням електрона від донора (протеїнова молекула) до акцептора (молекула ФАС) [12, 13, 6].

Порівняння величини сумарного теплового ефекту реакцій сполук МВ 2–9 із БСА та швидкістю їхньої антирадикальної дії умож-

Таблиця 1. Фізико-хімічні показники АРА і АОА похідних монохроманів та триметилфенолів і величини теплового ефекту (ΣS , ум.од.) їхньої взаємодії з БСА (температура – 26 °С)

Сполуки	Швидкість гасіння ДФПГ, K_2 (М·хв) ⁻¹	АОА, % до контролю, НК	АОА, % до контролю, АЗП	Інтегральна площа, ΣS , ум.од.
МВ:				
1	12890	35,8	4,8	–
2	25340	31,2	6,4	-4,06
3	29930	29,3	5,3	-1,28
4	16270	21,9	8,5	-2,35
5	6047	81,9	90,2	-0,85
6	4078	34,9	13,3	+2,52
7	4398	68,3	74,5	–
8	33800	41,5	16,7	-12,81
9	948	79,8	70,0	+1,69
10	8195	28,6	5,00	–
Дибунол	16100	65,7	29,2	–

Примітка. Різниця порівняно з контролем вірогідна, $P \leq 0,05$.

ливілює визначення залежності величини та знака теплового ефекту від показника K_2 : підвищення ендотермічного теплового ефекту сполук зі збільшенням швидкості реакції у МВ-сполуках 9, 6, 5, 3, 2, 4 і 8 з ДФПГ (коефіцієнт кореляції $r = 0,932$, $P \leq 0,05$).

Дослідження антиоксидантних та субмолекулярних механізмів дії одно- та двоядерних фенолів, проведені раніше [7], свідчать про їхню здатність бути донорами або акцепторами електронів у біохімічних реакціях, що узгоджується із сучасними даними квантово-хімічних розрахунків енергетичних та структурних параметрів молекул. У табл. 2 наведено значення граничних енергій ВЗМО, LgP, PI та μ , обчислених напівемпіричним квантово-хімічним методом АМ1 [10]. Для сполук МВ 2–6 та 9 параметри теплового ефекту їхніх реакцій із БСА характеризуються високою кореляційною залежністю з обчисленими квантово-хімічними показниками – μ ($r = 0,976$, $P \leq 0,05$) із LgP для сполук 8, 2, 3, 4, 6 ($r = 0,951$, $P \leq 0,05$). Порівнюючи структурні параметри молекул МВ 1–10 та швидкість їхньої антирадикальної дії, було визначено такі кореляційні залежності: $K_2 - \mu$ ($r = 0,900$, $P \leq 0,05$) – для сполук 2, 4, 5, 6, 9; $K_2 - PI$ ($r = 0,650$, $P \leq 0,05$) – для сполук 1, 3, 4, 5, 6, 7, що свідчить про істотний внесок швидкості антирадикальних процесів, а також можливу взаємодію досліджуваних монохроманів та триметилфенолів із протеїновими компонентами біомембран.

З'ясування взаємозв'язків між енергетичними квантово-хімічними і структурними параметрами молекул монохроманів та триметилфенолів, а також антирадикальними і антиоксидантними властивостями (АРА та АОА) в напрямі досліджень «структура–активність» сприяє глибшому розумінню молекулярних механізмів їхньої дії на біологічні системи. Відповідно до досліджень одно- і двоядерних фенолів [7] сполукам із вищим значенням АРА і АОА притаманні більші значення енергії ВЗМО і, відповідно, найнижчі потенціали іонізації, що відображує максимальну електронно-донорну здатність їх. Порівняння наведених у табл. 2 показників із досліджуваними фізико-хімічними параметрами, які характеризують антирадикальні та антиоксидантні властивості МВ 1–10, свідчить, що в разі найвищих значень ВЗМО у МВ-сполуках 3, 4, 10, 6 і 8 виявлено максимальну швидкість гасіння стабільного радикала ДФПГ і ефективнішу антиокислювальну здатність сполук, насамперед за неініційованого ($r = -0,798$, $P \leq 0,05$) та аскорбатіндукованого ПОЛ ($r = -0,728$, $P \leq 0,05$) – рис. 3, А та 3, Б відповідно. Цим сполукам притаманні також найменші значення потенціалів іонізації, що, вірогідно, віддзеркалює їхні вищі електронно-донорні властивості і, отже, здатність до гепатопротекторної дії [7].

Таким чином, одержані нами дані щодо АРА монохроманів та триметилфенолів, як і

Таблиця 2. Параметри енергії ВЗМО та структурних показників $\lg P$, PI і μ похідних монохроманів та триметилфенолів, обчислених з використанням гамільтоніану АМІ

Сполуки	ВЗМО, еВ	PI, еВ	μ , D	LgP
МВ:				
1	-8,923	8,82	5,05	5,48
2	-9,374	9,37	1,23	2,76
3	-8,365	8,37	2,37	3,91
4	-8,435	8,44	1,78	3,07
5	-9,092	9,09	2,12	—
6	- 8,799	8,80	3,17	3,85
7	-8,800	8,80	3,94	5,74
8	-8,832	8,83	3,55	1,55
9	-10,187	10,19	2,72	-0,66
10	-8,436	8,44	3,19	1,09
Дибунол	-8,700	8,70	—	—

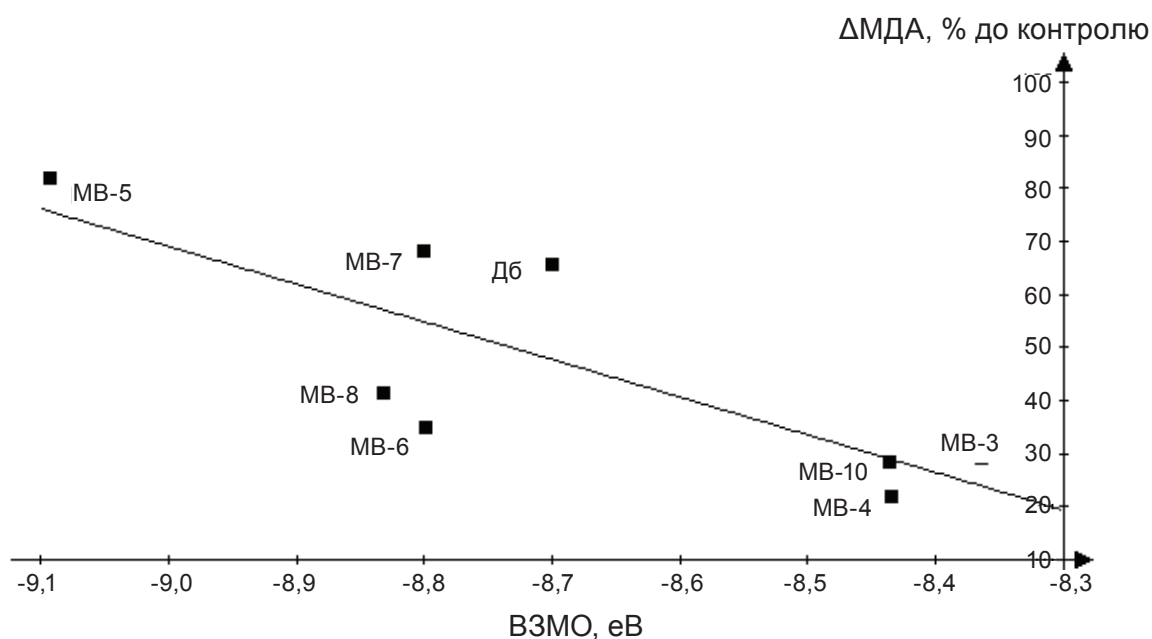


Рис. 3. А — Кореляція ($r = -0,798$, $P \leq 0,05$) між АОА фізіологічно активних речовин та енергіями ВЗМО їхніх молекул (неініційована система ліпопероксидації мікросом печінки). АОА = Δ МДА, % контролю

моделювання процесу їхньої взаємодії із БСА, свідчать про здатність досліджуваних сполук взаємодіяти з біомембранами, а також про можливу природу такої взаємодії: збільшення внеску гідрофобного зв'язку сполук із найбільшою швидкістю антирадикальної дії. Високі

значення енергії ВЗМО, як і найменші величини PI, властиві сполукам із високою швидкістю антирадикальної дії (МВ 2, 3, 4, 6, 10, 8) та ефективною АОА. Це, зокрема, обумовлює їхні електронно-донорні властивості і високу гепатопротекторну дію.

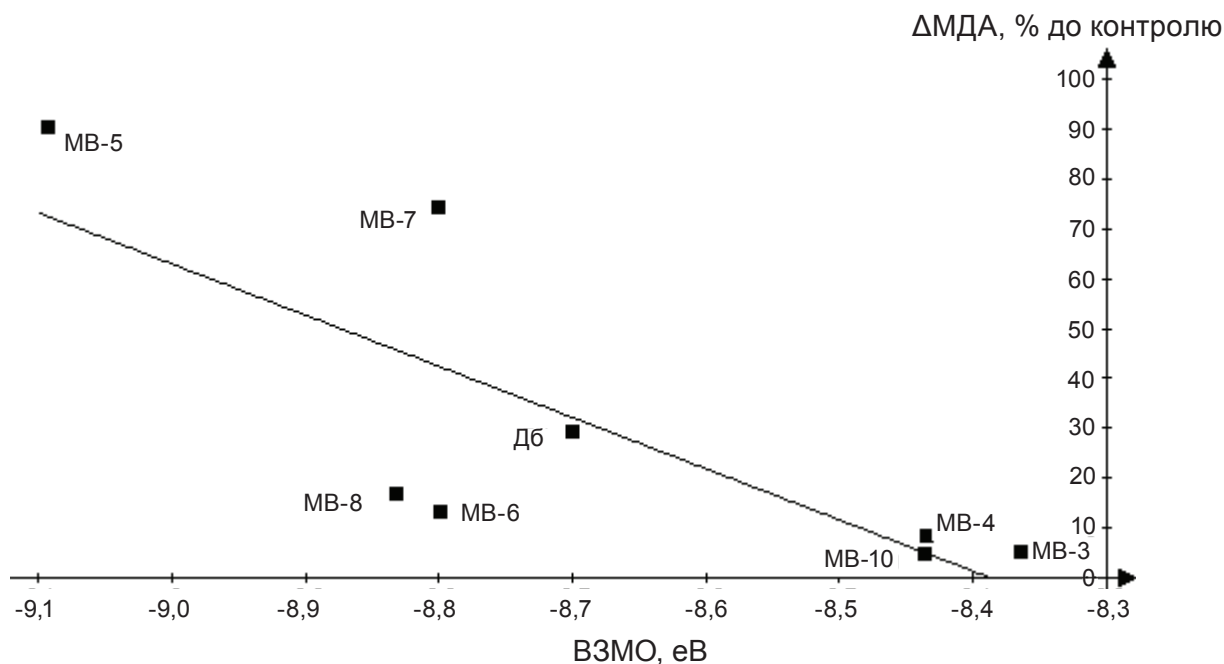


Рис. 3. Б — Кореляція ($r = -0,728$; $P \leq 0,05$) між АОА фізіологічно активних речовин та енергіями ВЗМО їхніх молекул (АЗС ліпопероксидації мікрсом печінки): АОА = Δ МДА, % контролю, Дб — дибунол

**ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ
АНТИОКСИДАНТНОЮ
АКТИВНОСТЮ,
ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫМ
ДЕЙСТВИЕМ ПРОИЗВОДНЫХ
МОНОХРОМАНОВ,
ТРИМЕТИЛФЕНОЛОВ
И ЭНЕРГЕТИЧЕСКИМИ
КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКИМИ И
СТРУКТУРНЫМИ ПАРАМЕТРАМИ**

Ю. И. Губский, А. Г. Горюшко,
В. П. Маковецкий, Н. В. Литвинова,
А. Н. Марченко, Л. П. Бабенко,
А. Н. Величко, В. В. Олар

ДУ «Институт фармакологии и
токсикологии АМН Украины», Киев;
e-mail: agor@i.ua

Методами полуэмпирической квантовой химии рассчитаны энергетические и структурные параметры производных молекул монохроманов и триметилфенолов. Показано наличие корреляционных связей между антирадикальным и гепатопротекторным действием соединений и рассчитанными энергетическими квантово-химическими и структурными характеристиками их молекул. Полученные данные подтверждают наличие взаимосвязи между структурой и активностью исследуемых

монохроманов и триметилфенолов, а также свидетельствует об их электронно-донорных свойствах.

Ключевые слова: мембраны, антиоксиданты, антирадикальные свойства, энергия молекулярных орбиталей, монохроманы, триметилфенолы.

**INTERRELATION BETWEEN
ANTIOXIDANT GEPATOPROTECTIVE
ACTION OF SOME DERIVATIVES
OF MONOCHROMANES AND
TRIMETHYLPHENOLS AND ENERGY
STRUCTURAL QUANTUM-CHEMICAL
PARAMETERS**

Yu. I. Gubskiy, G. G. Goriushko,
V. P. Makovecky, N. V. Litvinova,
O. M. Marchenko, O. M. Velichko,
L. P. Babenko, V. V. Olar

SI Intitute of Pharmacology and Toxicology,
Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: agor@i.ua

S u m m a r y

Energy and structural parameters of monochromanes and trimethylphenols derivatives have been chracterized through the employment of semiempirical methods of quantum chemistry. The

correlation has been proved between antiradical, hepatoprotective properties of these compounds and energy and structural of their molecules that confirms the presence of relation between structure activity and electron-donor properties of the investigated monochromanes and trimethylphenols.

Key words: membranes, antioxidant, anti-radical properties, molecular orbitals energy, monochromanes, trimethylphenols.

1. Губський Ю. И. Коррекция химического поражения печени. — К.: Здоров'я, 1989. — 168 с.
2. Каримов Р. Ф., Голощанов А. Н., Бурлакова Е. Б., Джафаров А. И. // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 1987. — № 5. — С. 540–543.
3. Губський Ю. І., Літвінова Н. В., Горюшко Г. Г. та ін. // Соврем. пробл. токсикол. — 2003. — № 3. — С. 35 — 39.
4. Koltover V. K. // Проблемы старения и долголетия. — 2005. — 14. Приложение. — 28 с.
5. Шаповал Г. С., Громова В. Ф. // Укр. біохім. журн. — 2003. — 75, № 2. — С. 5–13.
6. Губський Ю. І., Горюшко Г. Г., Літвінова Н. В. та ін. // Там само. — 2008. — 80, № 6. — С. 79–84.
7. Губський Ю. І., Афанасенко О. В. // Мед. хімія. — 2006. — 8, № 2. — С. 57–60.
8. Починок Т. В., Тараховский М. Л., Портнягина В. А. // Хим. фарм. журн. — 1985. — 19, № 5. — С. 565–569.
9. Портнягина В. А., Пантелеймонов А. Г., Бобкова Л. С. // Фармакол. и токсикол. — 1992. — С. 79–81.
10. Драго Р. Физические методы в химии. — М.: Мир, 1981. — 1. — 422 с.
11. Ландау М. А. Молекулярные механизмы действия физиологически активных соединений. — М.: Наука, 1981. — 262 с.
12. Демченко А. П. Люминесценция и динамика структуры белков. — К.: Наук. думка, 1988. — 280 с.
13. Добрецов Г. Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов. — М.: Наука, 1989. — 277 с.
14. Маковецкий В. П. Биологические антиоксиданты на основе реакции 1,4- и 1,2-хиноидных систем с ОН-кислотами. Автореф. дис. ... докт. хим. наук. — М., 1988. — 29 с.
15. Ашмарин И. П., Васильев И. Н. Быстрые методы статистической обработки и планирования экспериментов. — Л.: ЛГУ, 1975. — 78 с.

Отримано 03.07.2009