

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ ТА МЕМБРАНОСТАБІЛІЗУЮЧОЇ АКТИВНОСТІ 4-АРИЛАМІНО-1-ФЕНІЛ-1,5-ДИГІДРОПІРОЛ-2-ОНІВ

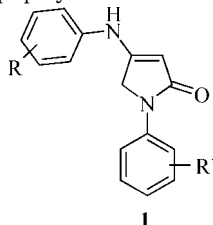
Л.М.Вороніна, А.Л.Загайко, В.О.Зубков, С.Г.Таран, О.В.Кізь

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: 4-ариламіно-1-феніл-1,5-дигідропірол-2-они;
антиоксидантна, мембраностабілізуюча активність

Низка 4-ариламіно-1-феніл-1,5-дигідропірол-2-онів, що становлять інтерес з точки зору перспективності створення ефективних нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ), піддана біологічним випробуванням на наявність антиоксидантної активності. Дослідження проведено *in vitro* на моделях спонтанного та аскорбат-індукованого перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Виділені активні сполуки, простежено їх вплив на динаміку накопичення ТБК-реактивних продуктів, виявлено елементи закономірності зв'язку "структура-дія". Вивчення мембраностабілізуючих властивостей найбільш активних антиоксидантів 4-(2-метил) феніламіно-1-феніл-1,5-дигідропірол-2-ону та 4-(2,4-диметил) феніламіно-1-феніл-1,5-дигідропірол-2-ону показало, що (2-метил) феніламінопохідне проявляє виражений мембраностабілізуючий ефект. Така комбінація фармакологічних ефектів надає підстави для подальших досліджень цієї сполуки як потенційного гепатопротектора.

У результаті спрямованого пошуку потенційних лікарських препаратів серед похідних 1-арил-1,5-дигідропірол-2-онів, що проводяться на кафедрі медичної хімії НФаУ, було виділено групу 4-ариламіно-1-арил-1,5-дигідропірол-2-онів (**1**), перспективних у плані створення ефективних НПЗЗ [2]. Враховуючи те, що поряд з іншими параметрами фармакологічної дії лікарських засобів певне позитивне значення має здатність сполуки поліпшувати метаболічні процеси в організмі, тому було доцільно вивчити антиоксидантну активність сполук загальної формули **1**.



Хоча антиоксидантна активність похідних піролу достатньо

висвітлена в літературі [5-8], піролон-2 в цьому напрямку практично не досліджувалися [9].

Матеріали та методи

Антиоксидантну активність отриманих 4-ариламіно-1-феніл-1,5-дигідропірол-2-онів оцінювали за їх здатністю блокувати процеси спонтанного та аскорбат-індукованого перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у дослідах *in vitro* при інкубуванні гомогенату печінки щурів у порівнянні з α -токоферолом [1]. Здатність сполук блокувати процеси ПОЛ оцінювали за допомогою визначення ТБК-реактивних продуктів (після взаємодії з тіобарбітуровою кислотою) за методом І.Д.Стальної та Т.Г.Гаришвілі [3].

Рівень мембраностабілізуючої активності сполук **16,д** визначали методом Ягера [4], вимірюючи величину екстинції зовнішньо-еритроцитарного гемоглобіну, що надходить до середовища внаслідок спонтанного лізису мембран

еритроцитів, спричиненого перекисним окисненням ліпідів киснем повітря.

Результати та їх обговорення

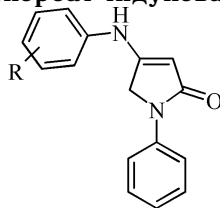
Як видно з результатів експерименту (табл. 1), серед досліджуваних піролонів **1a-i** виявлені сполуки, що володіють вираженою антиоксидантною активністю *in vitro*.

Крім того, отримані дані дозволяють простежити певну залежність "структура-активність" серед досліджуваних сполук **1a-i**.

Так, найбільш ефективно (достовірно по відношенню до контролю) пригнічували процеси як спонтанного, так і аскорбат-індукованого ПОЛ сполуки з метильним замісником у положеннях 2 або 4 анілінового фрагменту похідних (**16,г**). Зазначені сполуки також уповільнювали швидкість накопичення ТБК-реактивних продуктів у середовищі інкубації у порівнянні з контролем. У випадку 3-метилзаміщеного піролону **1в** антиоксидантної дії не виявлено; більше того, спостерігався зво-

Таблиця 1

Вплив 4-ариламіно-1-феніл-1,5-дигідропірол-2-онів (1) на процеси спонтанного і аскорбат-індукованого ПОЛ in vitro



Сполука	R	Спонтанне ПОЛ		Аскорбат-індуковане ПОЛ		
		накопичення ТБК-реактивних продуктів (нмоль/г)		швидкість накопичення ТБК-реактивних продуктів (нмоль/хв)	накопичення ТБК-реактивних продуктів за 10 хв інкубації (нмоль/г)	швидкість накопичення ТБК-реактивних продуктів (нмоль/хв)
		10 хв інкубації	15 хв інкубації			
1a	H	0,25±0,003	0,35±0,032	0,023	0,44±0,033	0,044
1б	2-CH ₃	0,11±0,011*	0,13±0,017*	0,011	0,32±0,015*	0,032
1в	3-CH ₃	0,29±0,019*	0,36±0,013	0,024	0,39±0,04	0,039
1г	4-CH ₃	0,11±0,021*	0,31±0,020	0,021	0,38±0,02	0,038
1д	2,4-диCH ₃	0,058±0,007*	0,069±0,027*	0,006	0,14±0,028*	0,014
1е	3,4-диCH ₃	0,088±0,011*	0,30±0,036	0,020	0,39±0,033	0,039
1ж	2-OCH ₃	0,31±0,009*	0,38±0,003	0,025	0,45±0,062	0,045
1з	4-OCH ₃	0,33±0,031*	0,41±0,06	0,027	0,39±0,039	0,039
1и	4-Br	0,31±0,0019*	0,41±0,058	0,027	0,47±0,063	0,047
1і	2-COON	0,33±0,029*	0,40±0,05	0,027	0,45±0,036	0,045
α-Токоферол		0,13±0,081*	0,28±0,030*	0,017	0,39±0,009	0,039
Контроль		0,21±0,013	0,35±0,016	0,023	0,42±0,015	0,042

Примітка. * — $p < 0,05$ відносно інтакту.

ротний ефект на моделі спонтанного ПОЛ та відсутність впливу на накопичення ТБК-реактивних продуктів на моделі аскорбат-індукованого ПОЛ. Заміна метильного угруповання в положеннях 2 або 4 на метоксильне (**1ж,з**), карбоксильне (**1і**) або галоген (**1и**) також не впливала на процеси ПОЛ.

Експериментальні результати, одержані для диметильних похідних **1д,е**, добре узгоджуються з виявленим характером впливу метильних замісників у залежності від їх положення в аміноарильному фрагменті 4-феніламіно-1-феніл-1,5-дигідропірол-2-онів **1** на антиоксидантну активність цих сполук. Як видно (табл. 1), для 2,4-диметилзаміщеного піролону **1д** зафіксовано виражене пригнічення ПОЛ, що перевищує рівень препарату порівняння α -токоферолу. У випадку 3,4-заміщеного ізомера (**1е**) також спостерігалася досить виражена активність

Таблиця 2

Мембраностабілізуюча активність 4-(2-метил)феніламіно-1-феніл-1,5-дигідропірол-2-ону (1б) і 4-(2,4-диметил)феніламіно-1-феніл-1,5-дигідропірол-2-ону (1д)

Показник	Сполука		
	1б	1д	контроль
Ступінь спонтанного гемолізу, %	8±0,4*	13±0,5	12±0,3

Примітка. * — зміни достовірні відносно контролю.

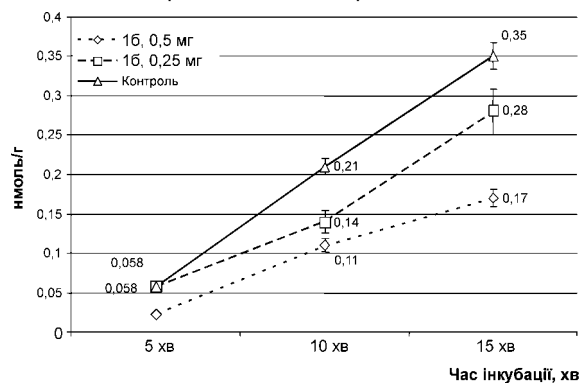


Рис. 1. Динаміка накопичення ТБК-реактивних продуктів у середовищі інкубації при дослідженні гомогенату печінки при $t = 37^\circ$ при додаванні речовини **1б**

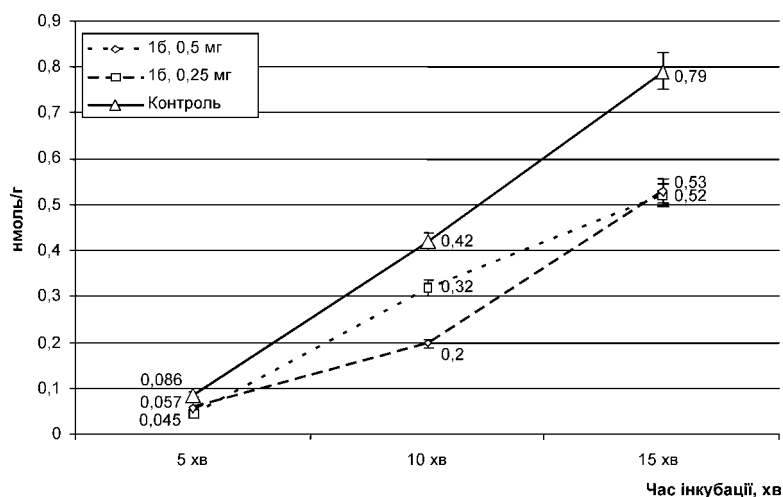


Рис. 2. Динаміка накопичення ТБК-реактивних продуктів у середовищі інкубації при дослідженні гомогенату печінки при $t = 37^\circ$ в присутності індуктора ПОЛ — аскорбату при додаванні речовини **16**

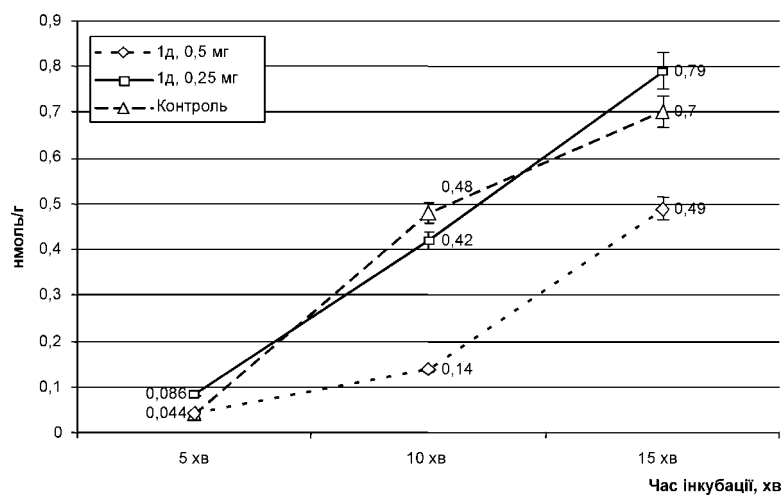


Рис. 3. Динаміка накопичення ТБК-реактивних продуктів у середовищі інкубації при дослідженні гомогенату печінки при $t = 37^\circ$ в присутності індуктора ПОЛ — аскорбату при додаванні речовини **1d**

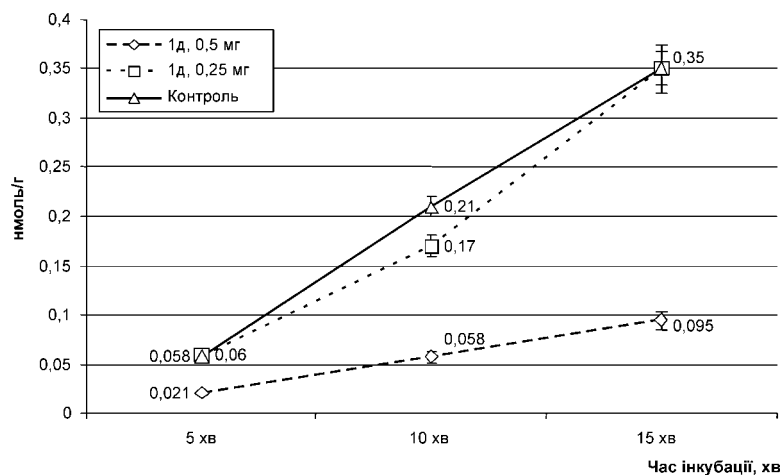


Рис. 4. Динаміка накопичення ТБК-реактивних продуктів у середовищі інкубації при дослідженні гомогенату печінки при $t = 37^\circ$ при додаванні речовини **1d**

(хоча й нижча, ніж у **1d**), що виглядає досить закономірно, враховуючи наявність СНЗ-групи в положенні 3.

Виявлена закономірність “структура-активність” надає підстави для припущення щодо можливого механізму антиоксидантної дії 4-арил-аміно-1-арил-1,5-дигідропірол-2-онів **1**, який, ймовірно, може бути пов’язаний з наявністю легкоокиснювальних метильних угруповань в *o*- та *n*-положеннях енамінового фрагменту піролонів **1**.

Для всебічного дослідження антиоксидантних властивостей сполук **1** нами було простежено динаміку накопичення ТБК-реактивних продуктів у середовищі інкубації при додаванні найбільш активних 4-ариламінопіролонів **16** і **1d** у дозах, що відповідають 0,5 мг/г та 0,25 мг/г печінки (рис. 1-4).

Результати цього експерименту показали, що як у випадку спонтанного, так і аскорбат-індукованого ПОЛ в усі досліджені проміжки часу (в обох дозах — 0,25 і 0,5 мг/г) більш високий рівень антиоксидантної активності виявив 4-(2'-метил)феніламіно-1-феніл-1,5-дигідропірол-2-он (**16**). Його структурний аналог **1d**, що містить додаткову метильну групу в положенні 4, виявив виражену антиоксидантну активність лише в дозі 0,5 мг/г.

Наявність вираженої антиоксидантної активності у сполук дозволяє прогнозувати їх здатність стабілізувати клітинні мембрани. Тому доцільним виглядало на наступному етапі досліджень здійснити експеримент з вивчення мембраностабілізуючих властивостей 4-(2-метил)феніл аміно- та 4-(2,4-диметил)феніламіно-1-феніл-1,5-дигідропірол-2-онів (**16** і **1d**).

Як видно з отриманих результатів (табл. 2), мембраностабілізуючі властивості притаманні лише 4-(2-метил)феніламіно-1-феніл-1,5-дигідропірол-2-ону (**16**), в той час як його диметилзаміщене похідне **1d** практично не впливає на ступінь спонтанного гемолізу.

Слід зазначити, що поєднання антиоксидантної та мембраностабілізуючої активності в молекулі 4-(2-метил)феніламіно-1-феніл-1,5-дигідропірол-2-ону (**16**) свідчить

про його можливі гепатопротекторні властивості, а також про перспективність подальшого пошуку БАР гепатопротекторної дії в досліджуваному ряду сполук.

ВИСНОВКИ

1. За результатами біологічних випробувань 4-феніламіно-1-

феніл-1,5-дигідропірол-2-онів *in vitro* встановлено, що 4-(2-метил)феніламіно- та 4-(2,4-диметил)феніламіно-1-феніл-1,5-дигідропірол-2-они характеризуються вираженою антиоксидантною активністю, яка перевищує рівень препарату порівняння α -токоферолу.

2. Вивчення мембраностабілізуючих властивостей найбільш активних антиоксидантів 4-(2-метил)феніламіно- та 4-(2,4-диметил)феніламіно-1-феніл-1,5-дигідропірол-2-онів показало, що (2-метил)феніламінопохідне проявляє виражений мембраностабілізуючий ефект.

ЛІТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. *Перекисное окисление липидов в биологических мембранах.* — М.: Наука, 1972. — 252 с.
2. Зубков В.О., Таран С.Г., Яковлева Л.В. та ін. // *Фармац. часопис.* — 2009. — №4 (9). — С. 6-9.
3. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. *Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н.Ореховича.* — М.: Медицина, 1977. — С. 66-68.
4. Jager F.C. // *Nutr. Dieta.* — 1968. — Vol. 10, №3. — P. 215-220.
5. MacLean P.D., Chapman E.E., Dobrowolski S.L. et al. // *J. Org. Chem.* — 2008. — Vol. 73, №17. — P. 6623-6635.
6. Mohsen El-Bayouki K.A., Basyouni W.B., Mostafa E.A. // *Collect. Czech. Chem. Commun.* — 2010. — Vol. 75, №8. — P. 813-834.
7. Padmavathi V., Mahesh K., Dinneswara Reddi G. et al. // *Eur. J. Med. Chem.* — 2010. — Vol. 45, №7. — P. 3178-3183.
8. Pegklidou K., Koukoulitsa C., Nicolaou I. et al. // *Bioorg. Med. Chem.* — 2010. — Vol. 18, №6. — P. 2107-2114.
9. Riley R.T., Showker J.L. // *Toxicol. and Applied Pharmacol.* — 1991. — Vol. 109, №1. — P. 108-126.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,
вул. Мельникова, 12. Тел. (57) 706-30-99.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 11.04.2011 р.