

УДК 547.756 + 542.978 + 547.56

АНТИРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ С ИНДОЛЬНЫМ И ИЗОИНДОЛЬНЫМ ФРАГМЕНТАМИ[§]

© 2022 г. В. П. Осипова^{1,*}, М. А. Половинкина¹, А. Д. Колумбет²,
Э. Н. Кутлалиева³, А. В. Великородов³, Н. Т. Берберова²

Поступило 18.05.2022 г.
После доработки 23.08.2022 г.
Принято к публикации 06.09.2022 г.

С использованием различных тест-систем *in vitro* проведена оценка антирадикальной активности полициклических соединений с индольным и изоиндольным фрагментами. В отношении ДФПГ, АВТС^{•+} и NO[•]-радикалов все производные, за исключением 3,5-ди-(*трет*-бутил)-4-гидроксibenзолкарбальдегид N-(2-оксо-1,2-дигидро-3*H*-индол-3-илиден) гидразона, демонстрируют значительно меньшую активность по сравнению с известным антиоксидантом ионолом. По отношению к супероксид анион-радикалу, генерированному в ферментативной (НСТ-тест) и неферментативной (аутоокисление адреналина) системах, все соединения показали высокую радикал-перехватывающую способность. Высокая антирадикальная активность 3,5-ди-(*трет*-бутил)-4-гидроксibenзолкарбальдегид N-(2-оксо-1,2-дигидро-3*H*-индол-3-илиден) гидразона объясняется наличием 2,6-ди-*трет*-бутилфенольного, индолинового и азинового фрагментов, способствующих образованию устойчивого интермедиата.

Ключевые слова: полициклические соединения с индольным и изоиндольным фрагментами, антирадикальная активность, ДФПГ, АВТС^{•+}, NO[•], супероксид анион-радикал

DOI: 10.31857/S2686953522600180

Активные радикальные формы кислорода постоянно присутствуют в биологических системах в результате естественных метаболических процессов [1]. Нарушение анти-/прооксидантного баланса живого организма в сторону последнего приводит к избыточному образованию радикалов, что способствует развитию окислительного стресса и повреждению основных структур клетки (ДНК, белки, ферменты, липиды) [2]. Для защиты от последствий окислительного разрушения используются антиоксиданты различного

строения [3]. В настоящее время предпочтение отдается соединениям природного происхождения или их синтетическим аналогам [4, 5], но их применение также зачастую ограничено ввиду проявляемых ими побочных эффектов, низкой биодоступности и канцерогенности [6].

Производные индола присутствуют во многих натуральных продуктах, алкалоидах, пептидах [7] и являются очень важными веществами с точки зрения медицинского и биологического аспектов их применения. Индольное ядро считается привилегированным каркасом для создания новых биологически-активных соединений с различными терапевтическими свойствами, включая антиоксидантные, противораковые, противовоспалительные и антибактериальные [8–10]. Например, известный гормон эпифиза и регулятор циркадного ритма живых организмов мелатонин, в состав которого входит индольный фрагмент, является хорошим поглотителем свободных радикалов *in vivo* и мощным антиоксидантом широкого действия *in vitro* [11]. В связи с этим создание и оценка антирадикальной активности новых производных индола представляется актуальным ис-

[§] Работа представлена в тематический выпуск “Свободные радикалы в фундаментальной и прикладной химии”.

¹Федеральный исследовательский центр Южный научный центр Российской академии наук, 344006 Ростов-на-Дону, Россия

²Астраханский государственный технический университет, 414056 Астрахань, Россия

³Астраханский государственный университет, 414056 Астрахань, Россия

*E-mail: osipova_vp@mail.ru

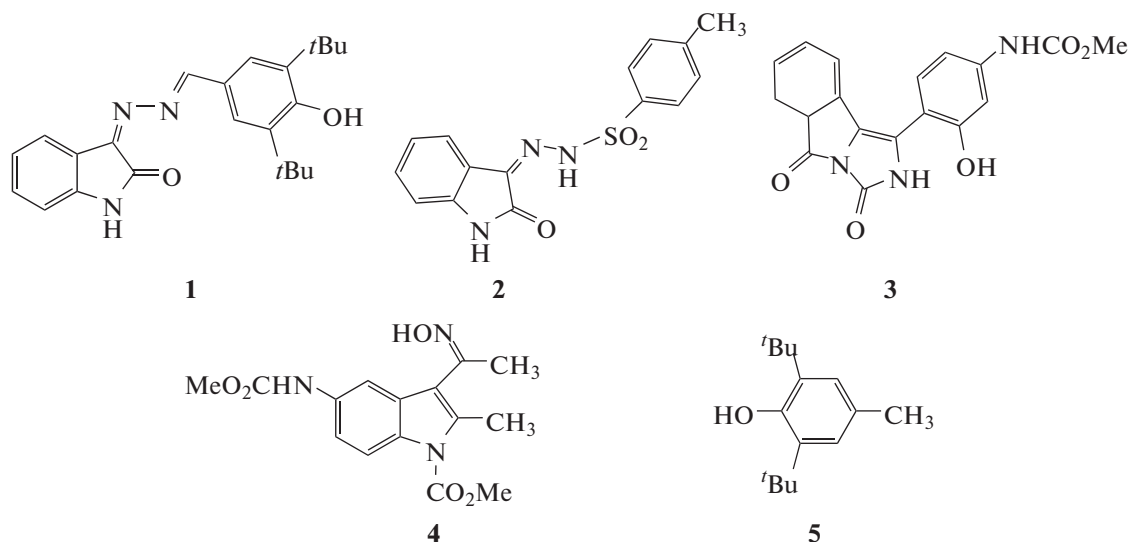


Рис. 1. Структурные формулы соединений: **1** — 3,5-ди-(*т*ерц-бутил)-4-гидроксibenзолкарбальдегид *N*-(2-оксо-1,2-дигидро-3*H*-индол-3-илиден)гидразон, **2** — 4-метил-*N*-(2-оксо-1,2-дигидро-3*H*-индол-3-илиден)бензолсульфоногидразид, **3** — метил-[4-(3,5-диоксо-2,5-дигидро-3*H*-имидазо[5,1-а]изоиндол-1-ил)-3-гидроксифенил]карбамат, **4** — метил 3-(1-гидроксииминоэтил)-5-(метоксикарбониламино)-2-метил-1*H*-индол-1-карбоксилат, **5** — 2,6-ди-*т*ерц-бутил-4-метилфенол (ионол).

следованием, направленным на получение антиоксидантов с высокой эффективностью действия и минимальными побочными эффектами.

В работе изучена антирадикальная активность полициклических соединений с индольным и изоиндольным фрагментами **1–4** на различных тест-системах *in vitro* в сравнении с активностью известного синтетического антиоксиданта — 2,6-ди-*т*ерц-бутил-4-метилфенола (ионол) **5** (рис. 1).

Для проведения экспериментов использовали коммерчески доступные реактивы фирм “Aldrich”, “Sigma” и “Alfa Aesar” (США).

Соединение **1** получено кипячением смеси 1.515 г (15 ммоль) 3-гидразинилидениндолин-2-она и 3.51 г (15 ммоль) 4-гидрокси-3,5-ди-(*т*ерц-бутил)бензальдегида в 40 мл этанола в присутствии трех капель ледяной уксусной кислоты в течение 10 ч. Выпавшие кристаллы желтого цвета перекристаллизованы из смеси этанол–диоксан (1 : 1), выход 5.37 г (95%), $T_{\text{т.пл.}} = 250\text{--}251^\circ\text{C}$. ИК (ν , см^{-1}): 3330–3250 (NH, OH), 1680 (C=O), 1640 (C=N), 1615, 1585, 1575 (C–C_{аром.}). ^1H ЯМР (δ , м. д.): 1.37 с (18H, 3'Bu), 5.25 с (1H, OH), 7.12 л (J 7.5 Гц, 1H_{аром.}), 7.20 т (J 7.5 Гц, 1H_{аром.}), 7.27 с (2H_{аром.}), 7.40 т (J 7.5 Гц, 1H_{аром.}), 8.08 с (1H, CH=N), 8.37 д (J 7.5 Гц, 1H_{аром.}), 10.65 (уш. с, 1H, NH). Найдено, %: C, 72.98; H, 7.14; N, 10.97. Вычислено для $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_2$, %: C, 73.21; H, 7.16; N, 11.14.

По ранее описанным методикам получены полициклические соединения **2** [12], **3** [13] и **4** [14] с индольным и изоиндольным фрагментами, син-

тетический антиоксидант ионол **5** является коммерчески доступным соединением (Sigma Aldrich).

В работе спектрофотометрическими методами исследована радикал-перехватывающая активность соединений **1–5** в отношении супероксид анион-радикала, генерированного в ферментативной системе ксантин/ксантиноксидаза (НСТ-тест) [15] и в системе неферментативного окисления адреналина (1-(3,4-диоксифенил)-2-метиламиноэтанол) до адренохрома в щелочной среде [16], а также в отношении 2,2-дифенил-1-пикрилгидразильного радикала (ДФПГ-тест) [17], катион-радикала 2,2'-азино-бис(3-этилбензтиазолин-6-сульфоновой кислоты) (ABTS^{•+}-тест) и нитроксильного радикала (NO^\bullet) [18].

Установлена незначительная антирадикальная активность производных **1–4** в отношении стабильного *N,N*-дифенил-*N*-пикрилгидразильного радикала (ДФПГ-тест) по сравнению с ионолом (табл.1).

Известны два основных механизма антирадикального действия потенциальных антиоксидантов: перенос атома водорода (НАТ, *hydrogen atom transfer*) и перенос одного электрона (SET, *single electron transfer*), конечные продукты при этом образуются одинаковые [19]. Несмотря на наличие редокс-активных групп и систем переноса атомов водорода (=NH, =NOH) в структуре, соединения **2** и **4** не проявляли радикал-перехватывающих свойств в данной модельной системе. Активность производных соединений **1**, **3** и ионола в ДФПГ-тесте объясняется возможностью протекания ре-

Таблица 1. Антирадикальная активность соединений 1–5

Антирадикальная активность, инг. %	Соединение				
	1	2	3	4	5
ДФПГ	9.99 ± 0.04	0.90 ± 0.01	21.51 ± 0.01	не активно	66.53 ± 0.14
ABTS	57.33 ± 0.06	32.02 ± 0.04	36.94 ± 0.05	25.96 ± 0.05	62.43 ± 0.07
НСТ	70.69 ± 0.04	66.04 ± 0.05	57.03 ± 0.06	30.09 ± 0.07	34.91 ± 0.15
аутоокисление адреналина	82.22 ± 0.04	68.82 ± 0.01	59.2 ± 0.01	21.43 ± 0.03	10.14 ± 0.12
IC ₅₀ (NO [•]), mM	0.94 ± 0.05	1.60 ± 0.08	1.49 ± 0.07	>5	0.81 ± 0.04

акции по механизму гомолитического отрыва атома водорода от НО-группы экранированного фенола. Однако значения оптической плотности ДФПГ-радикала в присутствии данных соедине-

ний резко снижаются только в течение первых 5 мин, далее реакция практически не протекает, что свидетельствует о механизме быстрого переноса электронов (SET) (рис. 2а).

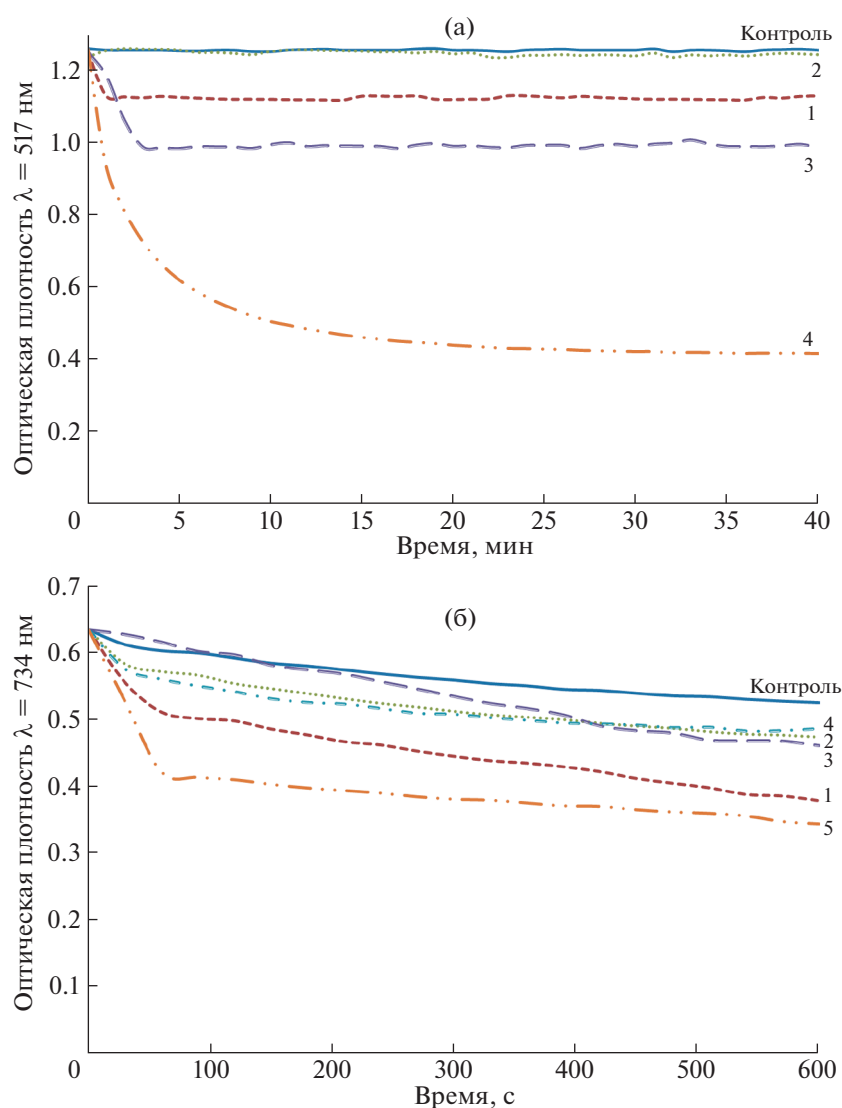


Рис. 2. Электронные спектры поглощения ДФПГ-радикала (а) и катион-радикала ABTS^{•+} (б) в присутствии соединений 1–5.

В отличие от ДФПГ-теста, способность восстанавливать нестабильную форму катион-радикала $ABTS^{\bullet+}$ проявляли все производные, но наибольшая активность, сравнимая с эталонным соединением **5** (62% ингибирования), в данной модельной системе характерна для соединения **1** (57% ингибирования) (табл. 1). Производное **1**, как и ионол, проявило смешанный механизм антирадикального действия. Только в течение первых 90 с наблюдается резкое падение значений оптической плотности $ABTS^{\bullet+}$ с последующим этапом снижения скорости взаимодействия, что свидетельствует о мгновенной первоначальной реакции за счет переноса электрона (SET) и переходом в медленную стадию протекания реакции за счет переноса атома водорода (НАТ) (рис. 26).

Для остальных соединений на протяжении всего времени исследования характерно постепенное снижение интенсивности поглощения катион-радикалом $ABTS$. Полученные результаты подтверждают ранее установленный факт того, что пространственно-затрудненные азотцентрированные ДФПГ- и $ABTS$ -радикалы препятствуют процессу переноса атома водорода, требующего образования комплекса с водородной связью между радикалом $\alpha-C-H$ и неподеленной парой электронов азота [20], замедляя тем самым протекание реакций по НАТ- и SET-механизмам.

Супероксид анион-радикал ($O_2^{\bullet-}$) является предшественником активных свободных радикалов, в частности, гидроксильного радикала HO^{\bullet} , которые могут вступать в реакцию с биомолекулами, вызывая их окислительные повреждения в результате инициации процесса пероксидного окисления липидов и белков [21]. Оценка активности соединений **1–5** в отношении $O_2^{\bullet-}$, образующегося в ферментативной системе ксантин/ксантиноксидаза (НСТ-тест), указывает на супероксид анион-радикал перехватывающую способность соединений **1–3**, в 1.6–2 раза превышающую активность ионола **5**, а ингибирующее действие соединения **4** сравнимо с эталоном (табл. 1). В системе неферментативного окисления адреналина в щелочной среде также установлено превышение активности производных **1–4** в отношении $O_2^{\bullet-}$ относительно реперного антиоксиданта в 2–8 раз. Учитывая, что в данной тест-системе помимо $O_2^{\bullet-}$ и H_2O_2 , образуются бикарбонат-анион-радикалы, анион-радикалы диоксида углерода и другие активные кислородные метаболиты [16, 22–24], можно констатировать факт проявления суммарной антирадикальной активности производных **1–4**. Кроме того, прослеживается закономерность уменьшения супероксид анион-радикал-перехватывающей способности

полициклических соединений с индольным и изоиндольным фрагментами в ферментативной и неферментативной системах в следующем порядке: **1** > **2** > **3** > **4**, что, предположительно, объясняется возможностью образования устойчивых промежуточных радикальных продуктов. Интересно отметить, что соединение **2**, несмотря на отсутствие в его структуре редокс-активного фенольного фрагмента, проявляет более выраженную активность в отношении $O_2^{\bullet-}$ по сравнению с производным **3**. Кроме того, для соединения **2** ранее установлена антимикробная активность в отношении условно-патогенной микрофлоры *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* [25].

Радикал оксида азота (NO^{\bullet}) является менее активным свободным радикалом по сравнению, например, с $O_2^{\bullet-}$. В малых концентрациях NO^{\bullet} играет важную роль в антимикробной, противоопухолевой активности, но высокие уровни данного метаболита способны вызывать ряд патологических осложнений [26]. Известно, что токсичность NO^{\bullet} заметно возрастает при его взаимодействии с $O_2^{\bullet-}$, приводящем к образованию высоко реакционноспособного пероксинитрит-аниона ($ONOO^-$) [27]. Изучена активность соединений **1–5** в отношении NO^{\bullet} , генерированного из нитропруссид натрия, который далее взаимодействовал с растворенным кислородом с образованием нитрит-ионов, концентрацию которых измеряли спектрофотометрически с помощью реагента Грисса по нарастающему красному окрашиванию ($\lambda = 540$ нм) [18]. Рассчитана полумаксимальная эффективная концентрация соединений (EC_{50}), свидетельствующая о большей активности производного **1** (0.94 мМ), сравнимой с действием ионола (0.81 мМ), как и в тесте с катион-радикалом $ABTS^{\bullet+}$ (табл. 1). Производные **2** и **3** в данной системе почти в 2 раза менее активны эталонного соединения **5**. Высокая антирадикальная активность производного **1** объясняется, преимущественно, наличием в структуре 2,6-дипрет-бутилфенольного фрагмента, а также присутствием индолинового и азинового фрагментов, способствующих повышению стабильности образующегося ароксильного радикала.

Таким образом, в работе проведена оценка активности полициклических соединений с индольным и изоиндольным фрагментами в отношении радикалов ДФПГ, $ABTS^{\bullet+}$, NO^{\bullet} и $O_2^{\bullet-}$. Выявлена высокая эффективность действия 3,5-ди-(прет-бутил)-4-гидроксibenзолкарбальдегид *N*-(2-оксо-1,2-дигидро-3*H*-индол-3-илиден)гидразона, объясняемая наличием антирадикального пространственно-затрудненного фенольного фрагмента. В сравнении с широко применяемым антиоксидантом ионолом данное соединение обладает незначительной перехватывающей активностью в отноше-

нии ДФПГ-радикала, сравнимой по отношению к $ABTS^{\bullet+}$ - и $NO^{\bullet-}$ -радикалам, но значительно большей по отношению к супероксид анион-радикалу, генерированному в ферментативной и неферментативной системах. Результаты исследования антирадикальной активности свидетельствуют о перспективности применения данного соединения в качестве потенциального ингибитора окислительных процессов. Однако при разработке новых гибридных молекул важно осуществлять комплексный скрининг биологической активности и оценку токсичности, поэтому необходимо проведение дальнейших исследований.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 22-16-00095.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ikonne E.U., Ikpeazu V.O., Ugbogu E.A.* // *Heliyon*. 2020. V. 6. № 7. e04408. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04408>
2. *Arias A., Feijoo G., Moreira M.T.* // *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 2022. V. 77. 102974. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2022.102974>
3. *Ruan L., Lu L., Zhao X., Xiong W., Xu H., Wu S.* // *Food Chem.* 2022. V. 383. 132640. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132640>
4. *Youssif B.G.M., Abdelrahman M.H., Abdelazeem A.H., Abdelgawad M.A., Ibrahim H.M., Salem O.I.A., Mohamed M.F.A., Treambleau L., Nasir S., Bukhari A.* // *Eur. J. Med. Chem.* 2018. V. 146. P. 260–273. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.01.042>
5. *Olszowy-Tomczyk M.* // *Phytochem. Rev.* 2020. V. 19. P. 63–103. <https://doi.org/10.1007/s11101-019-09658-4>
6. *Laitonjam W.S.* // *Stud. Nat. Prod. Chem.* 2012. V. 37. P. 259–275. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59514-0.00009-2>
7. *Arjunan V., Durga G.* // *J. Mol. Struct.* 2022. V. 1256. 132570. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.132570>
8. *Yildiz M., Bingul M., Zorlu Y., Saglam M.F., Boga M., Temel M., Koca M.S., Kandemir H., Sengul I.F.* // *Bioorg. Chem.* 2022. V. 120. 105647. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2022.105647>
9. *Uludag N., Serdaroğlu G.* // *J. Mol. Struct.* 2022. V. 1247. 131416. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.131416>
10. *El-Gammal O.A., Alshater H., El-Boraey H.A.* // *J. Mol. Struct.* 2016. V. 1195. P. 220–230. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.05.101>
11. *Saundane A.R., Manjunatha Y.* // *Arab. J. Chem.* 2016. V. 9. P. S501–S509. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.06.011>
12. *Cava P., Little R.L., Napier D.R.* // *J. Am. Chem. Soc.* 1958. V. 80. № 9. P. 2257–2263. <https://doi.org/10.1021/ja01542a055>
13. *Velikorodov A.V., Zukhairaeva A.S., Chabakova A.K., Kovalev V.B.* // *Russ. J. Org. Chem.* 2018. V. 54. № 10. P. 1509–1514. <https://doi.org/10.1134/S1070428018100123>
14. *Velikorodov A.V., Kuanchaliev A.K., Titova O.L.* // *Russ. J. Org. Chem.* 2010. V. 46. № 7. P. 1060–1065. <https://doi.org/10.1134/S107042801007016X>
15. *Toda S., Kumura M., Ohnishi M.* // *Planta Med.* 1991. V. 57. P. 8–10. <https://doi.org/10.1055/S-2006-960005>
16. *Sirota T.V.* // *Biomed. khim.* 2015. V. 61. № 1. P. 115–124. (in Russ.) <https://doi.org/10.18097/pbmc20156101115>
17. *Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C.* // *Food Sci. Technol. Int.* 1995. V. 28. P. 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
18. *Sadeer N.B., Montesano D., Albrizio S., Zengin G., Mahomoodally M. F.* // *Antioxidants*. 2020. V. 9. P. 709. <https://doi.org/10.3390/antiox9080709>
19. *Esfandi R., Walters M.E., Tsopmo A.* // *Heliyon*. 2019. V. 5. e01538. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01538>
20. *Salamone M., Martella R., Bietti M.* // *The J. Org. Chem.* 2012. V. 77. P. 8556. <https://doi.org/10.1021/jo3015352>
21. *Phaniendra A., Jestadi D.B., Periyasamy L.* // *Indian J. Clin. Biochem.* 2015. V. 30. № 1. P. 11–26.
22. *Polovinkina M.A., Kolyada M.N., Osipova V.P., Berberova N.T., Chukicheva I.Yu., Shumova O.A., Kutchin A.V.* // *Dokl. Chem.* 2019. V. 484. P. 48–51. <https://doi.org/10.1134/S001250081902006X>
23. *Polovinkina M.A., Osipova V.P., Osipova A.D., Berberova N.T., Velikorodov A.V., Matishov G.G.* // *Dokl. Chem.* 2021. V. 500. P. 184–187. <https://doi.org/10.1134/S0012500821090032>
24. *Osipova V.P., Polovinkina M.A., Kolyada M.N., Osipova A.D., Berberova N.T., Velikorodov A.V.* // *Dokl. Chem.* 2021. V. 500. P. 188–191. <https://doi.org/10.1134/S0012500821090020>
25. *Zukhairaeva A.S., Velikorodov A.V., Saroyants L.V., Yushin M.Yu., Lutsenko A.V., Shustova E.A.* // *Pharm. Chem. J.* 2022. V. 56. P. 597–601. <https://doi.org/10.1007/s11094-022-02682-3>
26. *Thomas D.D.* // *Redox Biol.* 2015. V. 5. P. 225–233. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.05.002>
27. *Bhaskar H., Balakrishnan N.* // *India. Int. J. Health Res.* 2009. V. 2. P. 163–170. <https://doi.org/10.4314/IJHR.V2I2.55413>

ANTI-RADICAL ACTIVITY OF POLYCYCLIC COMPOUNDS WITH INDOL AND ISOINDOL FRAGMENTS

V. P. Osipova^{a, #}, M. A. Polovinkina^a, A. D. Kolumbet^b, E. N. Kutlalieva^c,
A. V. Velikorodov^c, and N. T. Berberova^b

^aFederal Research Center Southern Scientific Center Russian Academy of Sciences,
344006, Rostov-on-Don, Russian Federation

^bAstrakhan State Technical University, 414056, Astrakhan, Russian Federation

^cAstrakhan State University, 414056, Astrakhan, Russian Federation

[#] E-mail: osipova_vp@mail.ru

Abstract—Using various test systems, the antiradical activity of polycyclic compounds with indole and isoindole fragments was evaluated *in vitro*. With respect to DPPH, ABTS^{•+} and NO[•] radicals the all derivatives, except of 3,5-di-(*tert*-butyl)-4-hydroxybenzenecarbaldehyde *N*-(2-oxo-1,2-dihydro-3*H*-indole-3-ylidene) hydrazine, demonstrate significantly lower activity compared to the well-known antioxidant ionol (BHT). With respect to the superoxide anion radical generated in the enzymatic (NBT-test) and non-enzymatic (autooxidation of adrenaline) systems, all compounds indicate a greater radical-capturing capacity. The high antiradical activity of 3,5-di-(*tert*-butyl)-4-hydroxybenzenecarbaldehyde *N*-(2-oxo-1,2-dihydro-3*H*-indol-3-ylidene) hydrazone is explained by the presence of 2,6-di-*tert*-butylphenol, indoline and azine fragments, which contribute to the formation of a stable intermediate.

Keywords: polycyclic compounds with indole and isoindole fragments, antiradical activity, DPPH, ABTS^{•+}, NO[•], superoxide anion radical