

В. В. Моренко<sup>1\*</sup>, О. П. Книга<sup>2</sup>, Г. А. Тихонова<sup>3</sup>, В. В. Игнатьева<sup>2</sup>,  
Н. Ю. Стрельцова<sup>2</sup>

## ОЦЕНКА АНТИРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРАЗОЛОНА-5 ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНЫМ МЕТОДОМ В ГОМОГЕННОЙ МОДЕЛЬНОЙ СИСТЕМЕ

<sup>1</sup> ГУ "Институт физико-органической химии и углехимии имени Л. М. Литвиненко", 83114, Донецк, Р. Люксембург ул., 70.

<sup>2</sup> ГОУ ВПО "Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького", 83003, Донецк, Ильича пр-т, 16.

<sup>3</sup> ГОУ ВПО "Донецкий национальный университет", Донецк, Университетская ул., 24.

\* e-mail: mvlvl@yandex.ru

С помощью хемилюминесцентного метода дана оценка антирадикальной активности производных пиразолона-5 при окислении этилбензола кислородом воздуха в гомогенной системе. Из числа опробованных в работе антиоксидантов, наиболее выраженными антирадикальными свойствами обладают 3-метил-1-фенилпиразолон-5 и 4-амино-2,3-диметил-1-фенилпиразолон-5. Определены энергии активации реакций взаимодействия наиболее активных антиоксидантов с пероксильными радикалами этилбензола.

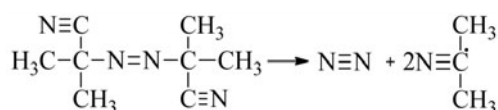
**Ключевые слова:** антирадикальная активность; пиразолона-5; хемилюминесцентный метод; кето-енольная таутомерия; гомогенное окисление этилбензола.

Пиразолон представляет собой пятичленный лактам на основе пиразола, в молекулу которого входит 2 гетероатома азота и кетонная группа. Многие лекарственные препараты (бутадиион, пирамидон, метамизол натрия и др.), обладающие жаропонижающим, анальгетическим и противовоспалительным действием [1], являются производными пиразолона-5. Анализ данных по их антирадикальной активности (АРА) в гомогенных системах дополнит знания об этих лекарственных препаратах.

Целью данной работы является изучение АРА некоторых лекарственных препаратов, производных пиразолона, при инициированном окислении этилбензола (ЭТБ) кислородом воздуха в гомогенной модельной системе.

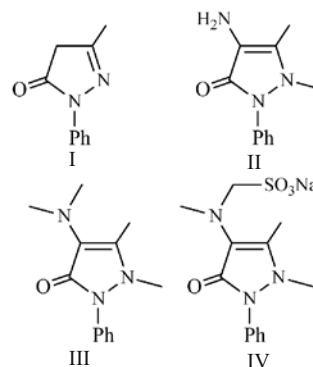
### Экспериментальная часть

ЭТБ очищали обработкой концентрированной серной кислотой, раствором карбоната натрия и водой с последующей сушкой над хлористым кальцием и перегонкой под вакуумом над натрием в токе аргона. Степень чистоты контролировали хроматографически и кинетически. В качестве инициатора использовали товарный азобисизобутиронитрил (АИБН; фирма Merck, № 801595), при распаде которого в системе образуются свободные радикалы.



Очищали АИБН многократной перекристаллизацией из метанола и сушили в вакууме при 298 К. Очищенный АИБН имел температуру плавления 375 К, что совпадает с данными паспорта производителя.

В качестве антиоксидантов в работе использовали производные пиразолона-5, которые были синтезированы в Донецком национальном университете. Продукты синтеза были идентифицированы на приборе "AVANCE-II-400" ("Bruker BioSpin GmbH", Германия) методом ядерного магнитного резонанса. Для количественного определения производных пиразолона-5 был использован экстракционно-фотометрический метод [2]. Результаты анализа показали, что чистота продуктов синтеза превышает 99 % в пересчете на сухое вещество. Ниже представлены структурные формулы синтезированных производных пиразолона-5 I – IV.



I — 3-метил-1-фенилпиразолон-5; II — 4-амино-2,3-диметил-1-фенилпиразолон-5 (аминофеназон или 4-аминоантипирин); III — 2,3-диметил-4-диметиламино-1-фенилпиразолон-5 (амидопирин); IV — натрия 2,3-диметил-4-метиламино-1-фенилпиразолон-5-N-метансульфонат (метамизол натрия или анальгин).

Для определения кинетических параметров ингибирования процесса окисления ЭТБ в гомогенной системе использовали хемилюминесцентный метод [3 – 5]. Измерение интенсивности хемилюминесцентного свечения проводили на установке, в комплект которой входили высоковольтный выпрямитель-стабилизатор ПВ-2-2, измеритель малых токов (ВМС-5), фотоэлек-

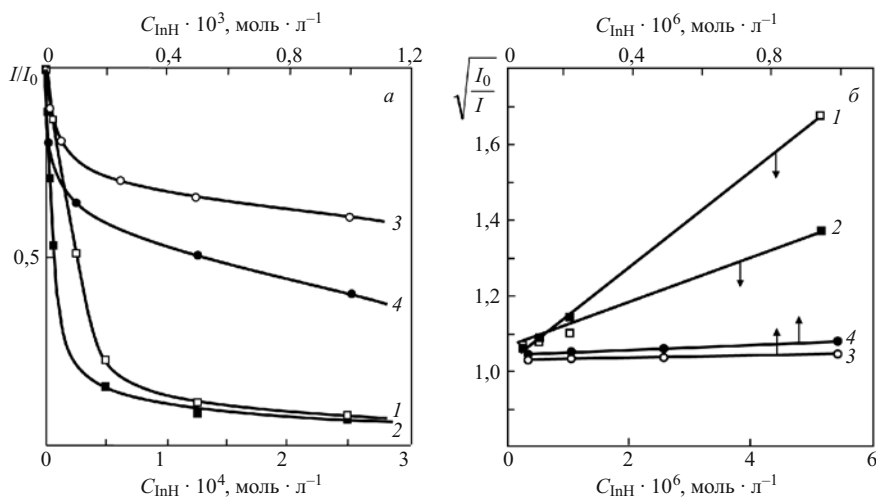


Рис. 1. Зависимости относительной интенсивности свечения от концентрации ингибиторов в обычных координатах (а) и в координатах по уравнению (3) (б): 1 — соединение I; 2 — соединение II; 3 — соединение III; 4 — соединение IV ( $T = 343 \text{ K}$ ).

тронный умножитель (ФЭУ-38) и самописец ЛКС4-003 (СССР). Цифровую обработку сигнала проводили посредством аналогового цифрового преобразователя L-305 (“L-CARD”, Россия) с использованием программы PowerGraph 2.0.

Химическое свечение в процессах жидкофазного окисления органических веществ появляется при рекомбинации пероксильных радикалов с выделением фотона по реакции:

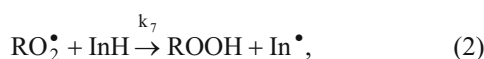


а интенсивность химического свечения ( $I$ ) пропорциональна скорости этой реакции:

$$I = \eta k_6 [\text{RO}_2^\bullet]^2,$$

где  $\eta$  — квантовый выход свечения реакции рекомбинации пероксильных радикалов [5, 6]. При взаимодействии ингибиторов с пероксильными радикалами субстрата снижается их концентрация, соответственно, уменьшается и интенсивность свечения, особенно при повышении концентрации антиоксиданта (рис. 1, а).

При использовании хемилюминесцентного метода константа скорости реакции взаимодействия ингибитора с пероксильным радикалом  $k_7$ :



характеризует его антирадикальную активность. Экспериментально эта величина определяется по зависимости относительной интенсивности хемилюминесцентного свечения от концентрации антиоксиданта (рис. 1, б). Для расчетов использовали уравнение:

$$\sqrt{\frac{I}{I_0}} = 1 + 1,1 \frac{k_7}{\sqrt{k_6 W_i}} [\text{InH}], \quad (3)$$

где  $I_0$  и  $I$  — интенсивность хемилюминесценции без и в присутствии антиоксиданта, усл. ед.;  $k_6$  — константа

скорости рекомбинации пероксильных радикалов по реакции (1),  $\text{л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ ;  $W_i$  — скорость реакции инициирования,  $\text{моль} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ ;  $[\text{InH}]$  — концентрация антиоксиданта,  $\text{моль} \cdot \text{л}^{-1}$  [5, 7].

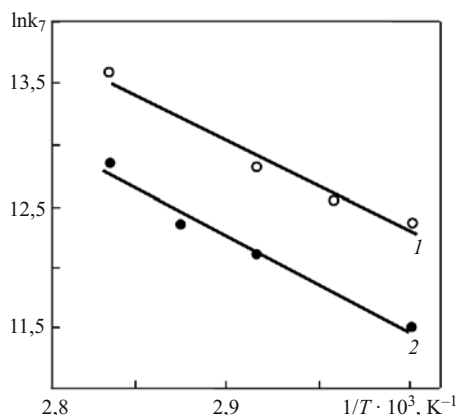
#### Результаты и их обсуждение

По кинетическим кривым хемилюминесценции были определены периоды индукции ( $\tau$ ) и рассчитаны стехиометрические коэффициенты ингибирования ( $f$ ):

$$f = \frac{tW_i}{[\text{InH}]}.$$

Величина стехиометрического коэффициента определяет количество цепей окисления, которые обрываются на одной молекуле антиоксиданта [5, 8, 9]. Результаты расчетов представлены в таблице.

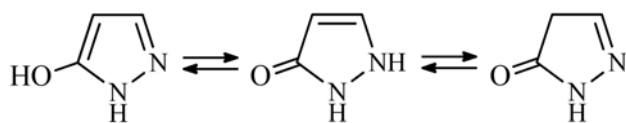
Для соединений I и II пятый порядок констант  $k_7$  говорит о высокой АРА. Известно, что  $k_7$  в значительной степени определяется строением молекулы ингибитора и слабо зависит от структуры пероксильных радикалов [10]. АРА соединений I и II можно сравнить с активностью некоторых антиоксидантов в подобных модельных системах. Например,  $\alpha$ -токоферол (витамин E) и этилметилгидроксипиридина сукцинат относятся к фармакотерапевтической группе антиоксидантов и антигипоксантов. При окислении ЭТБ  $\alpha$ -токоферол проявляет более высокую АРА ( $k_7 = (2,3 - 3,3) \times 10^6 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ ), чем соединения I и II [9], а этилметилгидроксипиридина сукцинат при восстановлении стабильного радикала  $\alpha$ - $\alpha$ -дифенил- $\beta$ -пикрилгидразина, практически не проявляет своей активности при реакциях с органическими радикалами [11]. На основании полученных зависимостей при высоких концентрациях антиоксиданта, по аналогии с синтетическими антиоксидантами (двухатомные фенолы; 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенол), можно заключить, что ингибирующее действие производных пиразолона



**Рис. 2.** Зависимости констант скорости реакций взаимодействия пиразолонов с пероксильными радикалами ЭТБ от температуры в координатах Аррениуса: 1 — соединение I; 2 — соединение II.

осуществляется не только по реакции (2). Вероятно, антирадикальным эффектом обладают и продукты этой реакции.

Антирадикальную активность производных пиразолона можно объяснить двумя факторами. Первый фактор заключается в возможности протекания в этой структуре keto-енольной таутомерии из-за наличия кислорода в положении 5 пиразольного кольца [12].



На антирадикальную активность ингибитора в этом случае влияет степень смещения в этом keto-енольном равновесии влево и прочность OH-связи в енольном (гидроксильном) таутомере. Второй фактор определяется наличием фенильного заместителя в положении 1, который может стабилизировать не только ароматический енольный таутомер, но и радикал ингибитора, образующийся по реакции (1). Соответственно, производные пиразолона с фенильным заместителем могут обладать относительно высокой ингибирующей способностью.

В структурах соединений I и II реализуются оба фактора: keto-енольная таутомерия и стабилизация радикала ингибитора за счет сопряжения радикального

**АРА при инициированном окислении ЭТБ в гомогенной системе ( $T = 343 \text{ K}$ ;  $[\text{АИБН}] = 1,0 \cdot 10^{-2} \text{ моль/л}$ )**

Соединение	$k_7, \text{ л} \cdot \text{ моль}^{-1} \cdot \text{ с}^{-1}$	$f$	$\text{IC}_{50}, \text{ моль} \cdot \text{ л}^{-1}$
I	$(3,7 \pm 0,1) \cdot 10^5$	1,8	$3,0 \cdot 10^{-5}$
II	$(1,8 \pm 0,1) \cdot 10^5$	2,0	$7,0 \cdot 10^{-6}$
III	$(1,7 \pm 0,1) \cdot 10^{3*}$	$\tau$ нет	Нет до $2,5 \cdot 10^{-4} \cdot \text{ моль} \cdot \text{ л}^{-1}$
IV	$(9,7 \pm 0,2) \cdot 10^{3*}$	0,50*	$5,0 \cdot 10^{-4}$

Константы представлены в виде средних значений и стандартных ошибок среднего ( $k \pm \text{s.e.m.}$ ).

\* Для определения констант скорости использовали концентрации ингибитора выше  $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ моль/л}$ .

электрона и ароматического кольца фенила. Согласно полученным результатам, эти соединения имеют высокие значения  $k_7$  (таблица), что на порядок выше, чем для соединений III, IV. При этом полученные значения стехиометрического коэффициента ингибирования у соединений I и II указывают на то, что это ингибиторы однократного действия, т.е. не регенерируются в актах обрыва цепи.

Для определения относительной антирадикальной активности ингибиторов была использована величина  $\text{IC}_{50} \%$ , которая определяет концентрацию ингибитора, при которой интенсивность хемилюминесцентного свечения уменьшается в 2 раза. Величины  $\text{IC}_{50} \%$  определяли графически по зависимостям относительной интенсивности свечения от концентрации ингибитора (рис. 1, а). Результаты определения представлены в таблице. В пределах погрешности эксперимента они хорошо коррелируют со значениями  $k_7$ . Из-за низкой АРА соединения III параметр  $\text{IC}_{50} \%$  был определен только при высоких концентрациях ингибитора.

В интервале температур 333 – 353 К были построены температурные зависимости константы скорости реакций взаимодействия соединений I и II с пероксильными радикалами ЭТБ по реакции (1) от температуры (рис. 2).

В аррениусовских координатах зависимости представляют собой прямые линии с высокими коэффициентами корреляции (0,97 и 0,98), а энергии активации составляют  $(60,9 \pm 1,9)$  и  $(63,9 \pm 2,1)$  кДж/моль, соответственно. Низкие значения энергий активации говорят о сравнительно высокой скорости этих химических реакций и слабой зависимости ее от температуры.

Полученная оценка АРА производных пиразолона в гомогенной системе с использованием хемилюминесцентного метода не противоречит данным, которые были получены газовольнометрическим методом. Как показано в работе [13], наиболее сильной АРА обладают соединения I и II. Следует отметить, что в гетерогенной системе ЭТБ — вода антиоксидантная активность этих соединений выражена иначе. Из-за способности соединения IV к диссоциации в водной среде и ориентации на границе раздела фаз метамизол натрия обладает большей АРА в гетерогенной системе.

Приведенные результаты по антирадикальной активности производных пиразолона могут способствовать изучению механизма их фармакологического действия на молекулярном уровне и направленному поиску новых более эффективных соединений.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, 9 изд., Ч. 1, Медицина, Москва (1984), сс. 165 – 202.
2. Д. Ф. Нохрин, Н. В. Медведева, *Вопросы науки и практики-2017*, сб. статей Межд. науч. конф., Москва (2017), сс. 10 – 13.
3. В. В. Хасанов, Г. Л. Рыжова, Е. В. Мальцева, *Химия раст. сырья*, № 3, 63 – 75 (2004).

4. E. T. Denisov, L. B. Afanas'ev, *Oxidation and Antioxidants in Organic Chemistry and Biology*, Taylor & Francis Group, Boca Ration L., N.-Y., Singapore (2005), pp. 93 – 98.
5. Е. Б. Меньшикова, В. З. Лапкин, Н. В. Кандалинцева, *Фенольные антиоксиданты в биологии и медицине. Строение, свойства, механизмы действия*, LAP Lambert Academic Publishing (2012), сс. 61 – 84.
6. Ю. А. Владимиров, Е. В. Проскурина, Д. Ю. Измайлов, *Биофизика*, **56**(6), 1081 – 1090 (2011).
7. Е. И. Хижан, В. В. Виноградов, В. В. Моренко и др., *Ж. орган. химии*, **83**(8), 1298 – 1305 (2013).
8. И. В. Шилова, С. И. Писарева, Е. А. Краснов и др., *Хим.-фарм. журн.*, **40**(11), 39 – 42 (2006).
9. Л. Р. Варданян, С. А. Айрапетян, Р. Л. Варданян и др., *Химия растит. сырья*, № 3, 41 – 47 (2016).
10. М. Г. Перевозкина, *Тестирование антиоксидантной активности полифункциональных особенностей кинетическими методами*, Изд. СибАК (2014). — сс. 14 – 21.
11. С. А. Трофимова, Е. Е. Дубинина, О. А. Балунов и др., *Ж. неврол. и псих.*, **7**, 46 – 49 (2016).
12. Т. И. Маджидов, Э. Р. Исмаилова, Г. А. Чмутова, *Уч. зап. Казан. гос. ун-та, Естест. науки*, **151**(1), 93 – 107 (2009).
13. А. М. Николаевский, Г. А. Тихонова, О. П. Книга, та ін., *Ж. орган. та фарм. хімії*, **11**(1), 73 – 75 (2013).

Поступила 07.02.19

## ESTIMATION OF THE ANTIRADICAL ACTIVITY OF PYRAZOL-5-ONE DERIVATIVES BY THE METHOD OF CHEMILUMINESCENCE IN A HOMOGENOUS MODEL SYSTEM

V. V. Morenko<sup>1</sup>, O. P. Kniga<sup>2</sup>, G. A. Tikhonova<sup>3</sup>, V. V. Ignat'eva<sup>2</sup>, and N. Yu. Strel'tsova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> L. M. Litvinenko Institute of Physical Organic Chemistry and Coal Chemistry, 83114 Donetsk, Donetsk Republic

<sup>2</sup> Donetsk National Medical University, 83003, Donetsk, Donetsk Republic

<sup>3</sup> Donetsk National University, Donetsk, Donetsk Republic  
e-mail: mvlvl@yandex.ru

The antiradical activity of pyrazol-5-one derivatives during the oxidation of ethylbenzene in a homogeneous system with air oxygen was evaluated using the chemiluminescence method. Among the antioxidants tested in this work, 3-methyl-1-phenylpyrazol-5-one and 4-amino-2,3-dimethyl-1-phenylpyrazol-5-one showed the most pronounced antiradical properties. The activation energies of reactions of the most active antioxidants and ethylbenzene peroxide radicals were determined.

**Keywords:** antiradical activity; pyrazol-5-one; chemiluminescence method; keto-enol tautomerism; homogeneous oxidation of ethylbenzene.