

УДК 547.835.3+547.576

**ПРОИЗВОДНЫЕ ТАКРИНА, СОДЕРЖАЩИЕ
АНТИОКСИДАНТНЫЙ ФРАГМЕНТ[§]**© 2022 г. **И. В. Серков^{1,*}, А. Н. Прошин¹, Н. В. Ковалева¹, Н. П. Болтнева¹,
Е. В. Рудакова¹, Г. Ф. Махаева¹, академик РАН С. О. Бачурин¹**

Поступило 15.06.2022 г.

После доработки 11.07.2022 г.

Принято к публикации 02.08.2022 г.

Разработан подход к синтезу мультитаргетных соединений на основе молекулы такрина, сопряженной с фрагментом молекулы ванилина, с использованием алкилиминных или алкиламинных линкером с различной длиной алкильной цепи (C2–C4). Синтезированные конъюгаты эффективно ингибируют холинэстеразы, вытесняют пропилий из периферического анионного сайта ацетилхолинэстеразы, т.е. обладают потенциальными антиагрегантными свойствами, и проявляют высокую антиоксидантную активность.

Ключевые слова: такрин, ванилин, холинэстеразы, антиоксиданты

DOI: 10.31857/S2686953522700121

Среди различных нейродегенеративных заболеваний особое место по своему негативному значению для общества играет болезнь Альцгеймера (БА) – прогрессирующее и необратимое заболевание центральной нервной системы, которое характеризуется расстройством памяти, снижением когнитивных функций и изменением поведения вплоть до полного распада личности [1, 2]. В основе БА лежат постепенное разрушение тканей и гибель клеток головного мозга, особенно участков, отвечающих за мышление и память. Применяемые в основном в клинической практике ингибиторы холинэстераз направлены на компенсацию дефицита нейромедиатора ацетилхолина, но не тормозят развитие нейродегенеративного процесса. В патогенез и прогрессию БА вовлечено большое количество биологических процессов и систем (нарушение работы нейромедиаторов, отложение aberrантных белков (бета-амилоида и тау), окислительный стресс, митохондриальная дисфункция, потеря синапсов, гибель нервных клеток и др.). В связи с этим наиболее перспек-

тивный подход к разработке препаратов для лечения и/или профилактики БА – создание мультитаргетных препаратов, способных оказывать комплексное воздействие на несколько биологических мишеней, ответственных за патогенез заболевания [3–5]. Данный подход является одним из наиболее актуальных направлений современной медицинской химии.

Такрин – 2,3-дигидро-1*H*-циклогекса[*b*]хинолин-9-иламин – мощный ингибитор холинэстераз, первый лекарственный препарат, который был разрешен к применению в клинической практике для лечения БА [6, 7]. Однако его применение оказалось ограниченным в связи с обнаруженной гепатотоксичностью, одним из возможных механизмов которой является способность такрина снижать концентрацию глутатиона в клетках печени, что приводит к накоплению токсичных активных форм кислорода и усилению перекисного окисления липидов [8]. Снижение такрин-индуцированной гепатотоксичности может быть достигнуто за счет применения скэвенджеров свободных радикалов [9]. Это послужило основанием для создания и активного развития нового направления по поиску мультифункциональных препаратов терапии БА – разработки производных такрина, наделенных дополнительными антиоксидантными свойствами [10, 11]. Данное направление представляет особый интерес также в связи с тем, что окислительный стресс, который характеризуется дисбалансом между образованием активных форм кислорода и их инактивацией с помощью различных

[§] Работа представлена в тематический выпуск “Гетерогенный катализ и защита окружающей среды”.

¹Институт физиологически активных веществ
Федерального исследовательского центра проблем
химической физики и медицинской химии Российской
академии наук, 142432 Черноголовка Московской обл.,
Россия

*E-mail: serkoviv@mail.ru

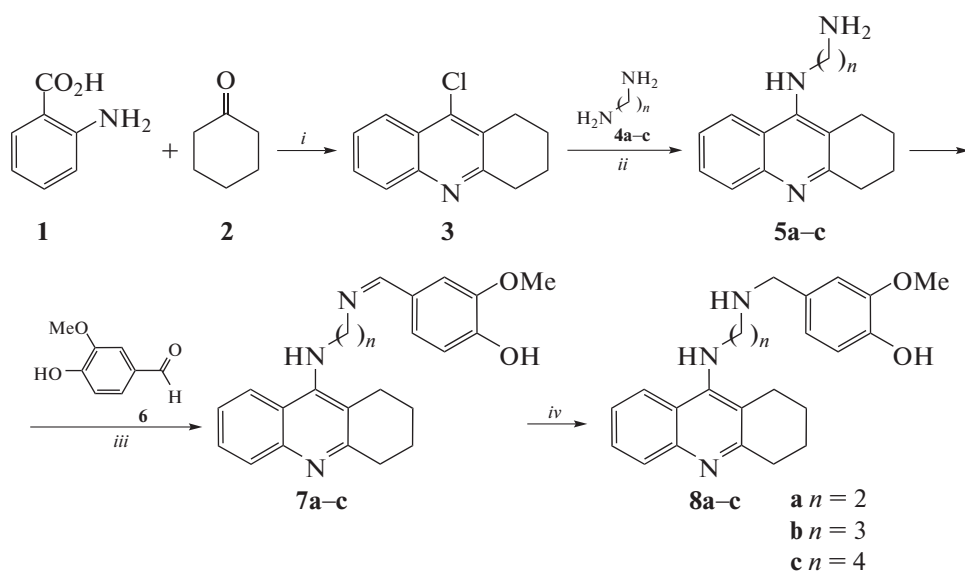


Схема 1. Синтез производных такрина. *i* – POCl_3 , т. кип., 3 ч. *ii* – **4a-c**, NaI, пентанол, 130°C, 15 ч. *iii* – бензол–MeOH (5 : 1), **6**, 80°C, 3 ч. *iv* – NaBH_4 , MeOH, 25°C, 1 ч.

механизмов антиоксидантной системы, является одним из ключевых факторов развития нейродегенеративных заболеваний [12].

Следует отметить, что молекула такрина является чрезвычайно благоприятной для химической модификации и создания мультитаргетных соединений. В частности, высокое сродство такринового фрагмента к каталитическому сайту (КАС) ацетилхолинэстеразы (АХЭ) широко применяется для создания бифункциональных ингибиторов холинэстераз, способных блокировать АХЭ-индуцируемую агрегацию бета-амилоида. С этой целью к молекуле такрина присоединяют разнообразные ароматические фрагменты с использованием спейсера определенной длины, которые обеспечивают взаимодействие молекулы ингибитора как с КАС, так и с периферическим анионным сайтом (ПАС) [13].

В данной работе в качестве такого фрагмента нами был использован ванилин – природный фенольный антиоксидант, основной компонент экстракта бобов ванили [14], который присоединяли к молекуле такрина с помощью иминной или аминной линкеров различной длины. Ранее было показано, что ванилин снижает уровень перекисного окисления липидов, повышает активность антиоксидантных ферментов [15] и снижает нейровоспалительный процесс [16].

В качестве исходного соединения для синтеза целевых гибридных соединений мы использовали 9-хлор-1,2,3,4-тетрагидроакридин **3**, который получен конденсацией *o*-аминобензойной кислоты **1** и циклогексанона **2** в хлорокиси фосфора [17] (схема 1). На второй стадии синтеза к полученному 9-хлоракридину **3** реакцией с диамино-

алканами **4a-c** были присоединены алкильные спейсеры с различной длиной углеродной цепи (C2–C4). Присоединение диаминов **4a-c** проводили нагреванием реакционной смеси при 130°C в пентаноле. В результате были получены аминок-алкильные производные **5a-c** со свободной аминогруппой, необходимой для присоединения антиоксидантного ванилинового фармакофора. Для этого сначала кипячением в смеси бензол–метанол осуществлено присоединение ванилинового фрагмента **6** к аминам **5a-c** с образованием конъюгатов **7a-c**, в которых два фармакофора соединены с помощью иминной связи. Восстановление полученных иминов **7a-c** боргидридом натрия в метаноле приводило к получению аминных производных **8a-c** (схема 1).

Исследование биологической активности синтезированных конъюгатов включало в себя оценку их эстеразного профиля (ингибиторной активности в отношении АХЭ (КФ 3.1.1.7), бутирилхолинэстеразы (БХЭ, КФ 3.1.1.8) и структурно близкого фермента – карбоксилэстеразы (КЭ, 3.1.1.1) [18]), изучение связывания конъюгатов с ПАС АХЭ с целью оценки их способности блокировать АХЭ-индуцируемую агрегацию бета-амилоида [19], а также определение антиоксидантной активности конъюгатов в двух тестах: АБТС – оценка радикал-связывающей способности [20] и FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) – оценка железо-восстанавливающей способности [21]. Результаты представлены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, все синтезированные конъюгаты являются эффективными ингибиторами АХЭ и БХЭ с сопоставимой активностью в отношении обоих ферментов в отличие от исход-

Таблица 1. Эстеразный профиль конъюгатов **7a–c** и **8a–c**, их антиоксидантные свойства и способность соединений вытеснить пропидий из ПАС *EeAXЭ* (данные представлены как mean ± SEM, *n* = 3)

Соединение	IC ₅₀ (мкМ) или % ингибирования активности фермента соединением в концентрации 20 мкМ			Вытеснение пропидия из ПАС <i>EeAXЭ</i> (20 мкМ), %	Радикал-связывающая активность в АБТС-тесте, TEAC ^б (IC ₅₀ , мкМ)	Железо-восстанавливающая активность в тесте FRAP, TE ^б
	АХЭ	БХЭ	КЭ ^а , %			
7a	1.25 ± 0.04	1.68 ± 0.04	4.1 ± 0.8	12.1 ± 0.9	0.97 ± 0.05 (21.2 ± 0.9)	0.47 ± 0.01
7b	1.71 ± 0.04	1.40 ± 0.08	3.6 ± 0.5	13.1 ± 1.0	1.0 ± 0.04 (19.1 ± 0.8)	0.38 ± 0.03
7c	0.64 ± 0.05	0.53 ± 0.02	4.4 ± 1.3	13.8 ± 1.0	1.0 ± 0.03 (19.3 ± 0.6)	0.43 ± 0.01
8a	1.40 ± 0.10	1.88 ± 0.07	н.а.	9.6 ± 0.8	1.5 ± 0.06 (12.5 ± 0.4)	0.71 ± 0.02
8b	0.78 ± 0.06	0.58 ± 0.03	н.а.	11.4 ± 0.9	1.2 ± 0.05 (15.3 ± 0.7)	0.74 ± 0.07
8c	0.26 ± 0.01	0.57 ± 0.03	н.а.	13.1 ± 1.0	1.1 ± 0.04 (16.6 ± 0.8)	0.68 ± 0.01
такрин	0.60 ± 0.05	0.029 ± 0.002	н.а.	4.4 ± 0.6	н.а.	н.а.
донепезил	0.040 ± 0.004	19.2 ± 3.0	н.а.	10.1 ± 0.6	н.о.	н.о.
ванилин	[11.2 ± 1.5%] ^а	[10.6 ± 1.0%] ^а	н.а.	н.о.	0.45 ± 0.04 (44.7 ± 2.4)	0.46 ± 0.02
Тролокс	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.	1.0 (19.2 ± 0.7)	1.0

^а % Ингибирования соединением в концентрации 20 мкМ. ^б TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) – антиоксидантная способность, выраженная в тролокс-эквивалентах как отношение тангенсов углов наклона для зависимостей снижения концентрации АБТС^{•+}-радикала от концентрации исследуемого соединения и тролокса. IC₅₀, мкМ – концентрация соединения, при которой происходит снижение концентрации АБТС^{•+} на 50%. ^б TE (*Trolox equivalents*, FRAP) – величины железо-восстанавливающей активности, соответствующие отношению концентраций тролокса и исследуемого соединения, вызывающих одинаковый эффект. н.а. – Нет активности. н.о. – Не определяли.

ного соединения такрина, более эффективно ингибирующего БХЭ. При этом увеличение длины спейсера приводит к более существенному возрастанию анти-АХЭ активности, особенно в случае соединений **8a–c** с алкиламиновым спейсером, где анти-АХЭ активность соединения **8c** превышает активность такрина. Конъюгаты не ингибируют (**8a–c**) или проявляют очень слабую ингибиторную активность (**7a–c**) в отношении КЭ, гидролизующей многочисленные лекарственные препараты со сложноэфирной группой, что позволяет исключить нежелательные лекарственные взаимодействия при их применении.

Установлено, что конъюгаты **7a–c** и **8a–c** в концентрации 20 мкМ вытесняют пропидий на уровне и выше референсного соединения донепезила (10.5 ± 0.8%), причем активность несколько возрастает с увеличением длины спейсера. Полученные результаты свидетельствуют о способности соединений связываться с периферическим

анионным сайтом АХЭ и указывают на их потенциальную способность блокировать АХЭ-индуцируемую агрегацию бета-амилоида (табл. 1). Это представляется крайне важным, поскольку агрегация белков является ключевым процессом в патогенезе многих нейродегенеративных заболеваний [22].

Результаты исследования антиоксидантной активности показали, что в тесте АБТС большинство конъюгатов проявляет высокую радикал-связывающую активность – на уровне или выше стандартного антиоксиданта тролокса. Соединения также проявляют достаточно высокую железо-восстанавливающую активность в тесте FRAP. При этом в обоих тестах соединения **8a–c** (алкиламиновый спейсер) более активны в сравнении с соединениями **7a–c** (алкилиминовый спейсер). Это различие особенно характерно для конъюгатов с коротким спейсером (табл. 1).

Таким образом, нами были синтезированы гибридные соединения на основе молекулы известного антихолинэстеразного препарата такрина, объединенной с фрагментом молекулы антиоксиданта ванилина, с использованием двух типов спейсеров – алкилиминового и алкиламинового. Полученные конъюгаты эффективно ингибируют холинэстеразы, вытесняют пропидий из периферического анионного сайта АХЭ на уровне и выше референсного соединения донепезила, т.е. обладают потенциальными антиагрегантными свойствами, и проявляют высокую антиоксидантную активность на уровне и выше стандартного антиоксиданта тролокса. Сочетание в одной молекуле антихолинэстеразных, антиагрегантных и антиоксидантных свойств позволяет рассматривать данные соединения как перспективные для дальнейшего исследования и оптимизации в качестве мультитаргетных средств терапии БА.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР регистрировали на приборе Bruker DPX-200 (Германия), химические сдвиги приведены в δ -шкале относительно Me_4Si . Температуры плавления определяли на нагревательном столике Бетиуса без коррекции. Упаривание растворов проводили на роторном испарителе в вакууме водоструйного насоса.

Синтез конъюгатов 7a–c. Смесь аминопроизводного такрина **5a–c** (1.0 ммоль) и 4-гидрокси-3-метоксибензальдегида (ванилина) **6** (152 мг, 1.0 ммоль) в смеси 10 мл бензола и 2 мл метанола кипятили 3 ч. Растворитель упаривали, остаток промывали эфиром, кристаллизовали из смеси хлористый метилен–эфир (1 : 2) и получали конъюгаты **7a–c**.

2-Метокси-4-{{2-(1,2,3,4-тетрагидро-акридин-9-иламино)-этиламино}-метил}-фенол 7a. Порошок желтого цвета, выход 67%, $T_{\text{пл.}} = 81–83^\circ\text{C}$. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , δ , м. д.): 1.61–1.98 (м, 4H, CH_2), 2.57–2.83 (м, 2H, CH_2), 2.92–3.16 (м, 2H, CH_2), 3.62–3.78 (м, 2H, CH_2), 3.79–3.89 (м, 2H, CH_2), 3.93 (с, 3H, OCH_3), 4.55–4.75 (м, 1H, NH), 5.27 (уш. с, 1H, OH), 6.81–7.12 (м, 2H, H^{Ar}), 7.20–7.46 (м, 2H, H^{Ar}), 7.53 (т, 1H, J 7.5 Гц, H^{Ar}), 7.93 (д, 1H, J 8.2 Гц, H^{Ar}), 8.03 (д, 1H, J 8.2 Гц, H^{Ar}), 8.06 (с, 1H, =CH). $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , δ , м. д.): 22.67, 22.99, 24.80, 33.63, 49.59, 55.93, 61.06, 108.36, 114.37, 116.68, 120.52, 122.92, 123.83, 124.03, 128.19, 128.36, 128.46, 147.03, 147.59, 149.38, 150.78, 158.39, 162.71.

2-Метокси-4-{{3-(1,2,3,4-тетрагидро-акридин-9-иламино)-пропиламино}-метил}-фенол 7b. Порошок желтого цвета, выход 67%, $T_{\text{пл.}} = 77–79^\circ\text{C}$. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , δ , м. д.): 1.63–1.94 (м, 4H, CH_2), 2.06 (квинтет, 2H, J 5.9 Гц, CH_2), 2.56–2.78 (м, 2H, CH_2), 2.96–3.15 (м, 2H, CH_2), 3.56–3.81 (м, 4H,

CH_2), 3.84 (с, 3H, OCH_3), 4.85 (уш. с, 1H, OH), 6.91 (д, 1H, J 8.0 Гц, H^{Ar}), 7.04 (дд, 1H, J 8.0, 1.6 Гц, H^{Ar}), 7.26 (т, 1H, J 3.6 Гц, H^{Ar}), 7.30–7.46 (м, 1H, H^{Ar}), 7.50 (т, 1H, J 7.6 Гц, H^{Ar}), 7.92 (д, 1H, J 8.2 Гц, H^{Ar}), 8.01 (д, 1H, J 8.2 Гц, H^{Ar}), 8.12 (с, 1H, =CH). $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , δ , м. д.): 22.67, 23.00, 25.26, 32.69, 33.39, 48.40, 55.87, 59.92, 108.76, 114.55, 115.67, 120.02, 123.02, 123.65, 123.88, 127.93, 128.36, 128.52, 146.83, 147.79, 149.67, 151.40, 158.10, 161.78.

2-Метокси-4-{{4-(1,2,3,4-тетрагидро-акридин-9-иламино)-бутилимино}-метил}-фенол 7c. Порошок желтого цвета, выход 61%, $T_{\text{пл.}} = 66–68^\circ\text{C}$. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , δ , м. д.): 1.57–2.12 (м, 8H, CH_2), 2.54–2.83 (м, 2H, CH_2), 2.93–3.16 (м, 2H, CH_2), 3.41–3.74 (м, 4H, CH_2), 3.87 (с, 3H, OCH_3), 4.15 (уш. с, 1H, OH), 6.91 (д, 1H, J 8.1 Гц, H^{Ar}), 7.05 (дд, 1H, J 8.0, 1.6 Гц, H^{Ar}), 7.22–7.44 (м, 2H, H^{Ar}), 7.54 (т, 1H, J 7.4 Гц, H^{Ar}), 7.95 (т, 2H, J 8.2 Гц, H^{Ar}), 8.14 (с, 1H, =CH). $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , δ , м. д.): 22.30, 22.67, 24.53, 28.10, 29.24, 32.99, 48.88, 55.44, 60.52, 108.72, 114.64, 115.07, 119.59, 122.74, 123.41, 123.58, 127.19, 127.58, 128.33, 146.44, 148.25, 150.23, 150.92, 157.71, 161.32.

Синтез конъюгатов 8a–c. Имины **7a–c** (1.0 ммоль) растворяли в 5 мл метанола, добавляли боргидрид натрия (50 мг) и перемешивали 1 ч при 25°C . Метанол упаривали, добавляли 20 мл хлористого метилена и промывали водой (2×20 мл). Органический слой сушили над безводным сульфатом натрия. Осушитель отфильтровывали, фильтрат упаривали и получали целевые конъюгаты **8a–c**.

2-Метокси-4-{{2-(1,2,3,4-тетрагидро-акридин-9-иламино)-этиламино}-метил}-фенол 8a. Порошок серого цвета, выход 66%, $T_{\text{пл.}} = 154–156^\circ\text{C}$. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , δ , м. д.): 1.73–2.02 (м, 4H, CH_2), 2.57–2.71 (м, 2H, CH_2), 2.90 (т, 2H, J 5.4 Гц, CH_2), 2.98–3.15 (м, 2H, CH_2), 3.58 (т, 2H, J 5.4 Гц, CH_2), 3.5 (с, 2H, CH_2), 3.86 (с, 3H, OCH_3), 5.07 (уш. с, 1H, OH), 6.67–7.03 (м, 3H, H^{Ar}), 7.32 (т, 1H, J 8.3 Гц, H^{Ar}), 7.92 (д, 1H, J 8.3 Гц, H^{Ar}), 8.01 (д, 1H, J 8.3 Гц, H^{Ar}). $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , δ , м. д.): 22.78, 23.09, 24.91, 33.68, 48.27, 49.14, 53.42, 55.86, 111.04, 114.57, 115.98, 120.25, 120.96, 122.93, 123.62, 128.42 (2), 131.64, 145.37, 147.10 (2), 151.26, 158.30.

2-Метокси-4-{{3-(1,2,3,4-тетрагидро-акридин-9-иламино)-пропиламино}-метил}-фенол 8b. Порошок белого цвета, выход 80%, $T_{\text{пл.}} = 65–67^\circ\text{C}$. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , δ , м. д.): 1.67–2.08 (м, 6H, $3 \times \text{CH}_2$), 2.66 (т, 2H, J 5.4 Гц, CH_2), 2.84 (т, 2H, J 6.1 Гц, CH_2), 3.05 (т, 2H, J 5.9 Гц, CH_2), 3.64 (т, 2H, J 6.1 Гц, CH_2), 3.74 (с, 2H, CH_2), 3.78 (с, 3H, OCH_3), 5.18 (уш. с, 1H, OH), 6.64–6.97 (м, 3H, H^{Ar}), 7.16–7.35 (м, 1H, H^{Ar}), 7.52 (т, 1H, J 7.8 Гц, H^{Ar}), 7.90 (д, 1H, J 8.2 Гц, H^{Ar}), 7.96 (д, 1H, J 8.2 Гц, H^{Ar}). $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , δ , м. д.): 22.63, 23.01, 25.26,

30.85, 33.37, 48.00, 48.78, 54.25, 55.77, 100.85, 114.37, 115.15, 119.75, 120.98, 122.96, 123.51, 127.92, 128.49, 131.53, 145.07, 146.71, 146.82, 151.37, 157.74.

2-Метокси-4-[[4-(1,2,3,4-тетрагидро-акридин-9-иламино)-бутилимино]-метил]-фенол **8c**. Порошок желтого цвета, выход 61%, $T_{пл.} = 66-68^{\circ}\text{C}$. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , δ , м. д.): 1.57–2.12 (м, 8H, $4 \times \text{CH}_2$), 2.54–2.83 (м, 2H, CH_2), 2.93–3.16 (м, 2H, CH_2), 3.41–3.74 (м, 4H, CH_2), 3.87 (с, 3H, OCH_3), 4.15 (уш. с, 1H, OH), 6.91 (д, 1H, J 8.1 Гц, H^{Ar}), 7.05 (дд, 1H, J 8.0, 1.6 Гц, H^{Ar}), 7.22–7.44 (м, 2H, H^{Ar}), 7.54 (т, 1H, J 7.4 Гц, H^{Ar}), 7.95 (т, 2H, J 8.2 Гц, 2H^{Ar}), 8.14 (с, 1H, $=\text{CH}$). $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , δ , м. д.): 22.30, 22.67, 24.53, 28.10, 29.24, 32.99, 48.88, 55.44, 60.52, 108.72, 114.64, 115.07, 119.59, 122.74, 123.41, 123.58, 127.19, 127.58, 128.33, 146.44, 148.25, 150.23, 150.92, 157.71, 161.32.

Биологические исследования. Для определения эстеразного профиля соединений исследовали их ингибиторную активность в отношении коммерческих препаратов АХЭ эритроцитов человека, БХЭ сыворотки лошади, а также структурно близкого холинэстеразам фермента КЭ печени свиньи (все ферменты производства “Sigma-Aldrich”, США). Активность АХЭ и БХЭ определяли методом Элмана ($\lambda = 412$ нм) [23] с использованием в качестве субстрата ацетилтиохолина (1 мМ) и бутирилтиохолина (1 мМ) соответственно, как детально описано в работе [24]. Условия определения: 100 мМ фосфатный буфер (рН 7.5), 25°C . Активность КЭ определяли спектрофотометрически ($\lambda = 405$ нм) по выделению 4-нитрофенола, субстрат – 1 мМ 4-нитрофенилацетат, как детально описано в [24]. Условия определения: 100 мМ фосфатный буфер (рН 8.0), 25°C . Измерения проводили на микропланшетном ридере FLUOStar Optima (“LabTech”, Германия). Соединения растворяли в ДМСО, инкубационная смесь содержала 2% растворителя. Вычисление IC_{50} проводили с использованием программы Origin 6.1 для Windows (“OriginLab”, США).

Исследование соединений как потенциальных ингибиторов АХЭ-индуцируемой агрегации бета-амилоида проводили флуоресцентным методом путем определения степени вытеснения селективного лиганда йодида пропидия из ПАС АХЭ [25], ответственного за связывание с бета-амилоидом [26], с небольшими модификациями, как детально описано ранее [23]. В качестве источника фермента использовали АХЭ из *Electrophorus electricus* (ЕеАХЭ). В качестве референсного соединения использовали донепезил, который показал 82%-е снижение АХЭ-индуцируемой агрегации бета-амилоида при концентрации 100 мкМ [26]. Измерения проводили в трипликате на микропланшетном ридере FLUOStar Optima (“LabTech”, Германия).

Антирадикальную активность соединений определяли спектрофотометрически по их способности связывать свободные радикалы в АБТС-тесте в соответствии с методом [20], как детально описано ранее [24].

Железо-восстанавливающую способность соединений (метод FRAP) определяли в соответствии с методом [21], по реакции восстановления комплекса $[\text{Fe}^{3+}-(\text{TPTZ})_2]^{3+}$ до $[\text{Fe}^{2+}-(\text{TPTZ})_2]^{2+}$, который имеет интенсивное синее окрашивание с максимумом поглощения при $\lambda = 593$ нм. Метод в модификации для 96-луночного планшета детально описан в работе [11].

Для обоих тестов соединения растворяли в ДМСО и тестировали в диапазоне концентраций 1×10^{-6} – 1×10^{-4} М. В качестве стандарта использовали тролокс. Все измерения проводили в 3-х кратном повторе для трех независимых экспериментов.

Величину антирадикальной активности представляли в единицах ТЕАС (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*, антиоксидантная способность, выраженная в тролокс-эквивалентах), которые получали как отношение тангенсов углов наклона для зависимостей снижения концентрации АБТС $^{\cdot+}$ -радикала от концентрации исследуемого соединения и тролокса. Для всех соединений также определяли величины IC_{50} (концентрация соединения в мкМ, при которой происходит снижение концентрации АБТС $^{\cdot+}$ на 50%).

Железо-восстанавливающая способность соединений представлена в относительных единицах ТЕ (*Trolox Equivalents*), рассчитанных как отношение концентраций тролокса и исследуемого вещества, вызывающих одинаковый эффект.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено в рамках Государственного задания ИФАВ FFSN-2021-0005, часть работы поддержана грантом РФФИ (проект № 20-03-00590-а). В работе использовалось оборудование ЦКП ИФАВ РАН (соглашение № 14.621.21.0008, идентификатор работ – RFMEFI62114X0008), финансируемого в рамках Государственного задания (тема № FFSN-2021-0005).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bachurin S.O., Bovina E.V., Ustyugov A.A. // Med. Res. Rev. 2017. V. 37. P. 1186–1225. <https://doi.org/10.1002/med.21434>
2. Carreiras M.C., Mendes E., Perry M.J., Francisco A.P., Marco-Contelles J. // Curr. Top. Med. Chem. 2013. V. 13. P. 1745–1770. <https://doi.org/10.2174/15680266113139990135>
3. Rosini M., Simoni E., Minarini A., Melchiorre C. // Neurochem. Res. 2014. V. 39. P. 1914–1923. <https://doi.org/10.1007/s11064-014-1250-1>

4. Agis-Torres A., Solhuber M., Fernandez M., Sanchez-Montero J.M. // *Curr. Neuropharmacol.* 2014. V. 12. P. 2–36.
<https://doi.org/10.2174/1570159X113116660047>
5. Бачурин С.О. // *Вопр. мед. хим.* 2001. Т. 47. № 2. С. 155–197.
6. Knapp M.J., Knopman D.S., Soloman P.R., Pendlebury W.W., Davis C.S., Gracon S.I. // *J. Am. Med. Assoc.* 1994. V. 271. P. 985–991.
<https://doi.org/10.1001/jama.1994.03510370037029>
7. Crismon M.L. // *Ann. Pharmacother.* 1994. V. 28. P. 744–751.
<https://doi.org/10.1177/106002809402800612>
8. Li S., Tan H.Y., Wang N., Zhang Z.J., Lao L., Wong C.W., Feng Y. // *Int. J. Mol. Sci.* 2015. V. 16. P. 26087–26124.
<https://doi.org/10.3390/ijms161125942>
9. Gao C., Ding Y., Zhong L., Jiang L., Geng C., Yao X., Cao J. // *Toxicol. In Vitro.* 2014. V. 28 № 4. P. 667–674.
<https://doi.org/10.1016/j.tiv.2014.02.001>
10. Xie S., Lan J-S., Wang X-B., Jiang N., Dong G., Li Z-R., Wang K.D.G., Guo P-P., Kong L-Y. // *Eur. J. Med. Chem.* 2015. V. 93. P. 42–50.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.01.058>
11. Makhaeva G.F., Kovaleva N.V., Rudakova E.V., Boltneva N.P., Lushchekina S.V., Faingold I.I., Poletaeva D.A., Soldatova Y.V., Kotelnikova R.A., Serkov I.V., Ustinov A.K., Proshin A.N., Radchenko E.V., Palyulin V.A., Richardson R.J. // *Molecules.* 2020. V. 25. P. 5891–5911.
<https://doi.org/10.3390/molecules25245891>
12. Huang W.J., Zhang X., Chen W.W. // *Biomed. Rep.* 2016. V. 4. P. 519–522.
<https://doi.org/10.3892/br.2016.630>
13. Guzior N., Wieckowska A., Panek D., Malawska B. // *Curr. Med. Chem.* 2015. V. 22. № 3. P. 373–404.
<https://doi.org/10.3892/br.2016.630>
14. Tai A., Sawano T., Yazama F., Ito H. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2011. V. 1810. P. 170–177.
<https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2010.11.004>
15. Saad H.B., Kammoun I., Boudawara T., Hakim A., Amara I.B. // *J. Pharmacogn. Phytochem.* 2017. V. 6. № 4. P. 1379–1383.
16. Singh J.C., Kakalij R.M., Kshirsagar R.P., Kumar B.H., Komakula S.S., Diwan P.V. // *Pharm. Biol.* 2015. V. 53. P. 630–636.
<https://doi.org/10.3109/13880209.2014.935866>
17. Fang L., Appenroth D., Decker M., Kiehntopf M., Roegler C., Deufel T., Fleck C., Peng S., Zhang Y., Lehmann J. // *J. Med. Chem.* 2008. V. 51. P. 713–716.
<https://doi.org/10.1021/jm701491k>
18. Махаева Г.Ф., Рудакова Е.В., Ковалева Н.В., Лушчеккина С.В., Болтнева Н.П., Прошин А.Н., Щегольков Е.В., Бургаарт Я.В., Салоутин В.И. // *Известия АН, Сер. хим.* 2019. № 5. С. 967–984.
19. Inestrosa N.C., Dinamarca M.C., Alvarez A. // *FEBS J.* 2008. V. 275. № 4. P. 625–632.
<https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2007.06238.x>
20. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. // *Free Radic. Biol. Med.* 1999. V. 26. P. 1231–1237.
[https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
21. Benzie I.F.F., Strain J.J. // *Meth. Enzymol.* 1999. V. 299. P. 15–27.
[https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99005-5](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99005-5)
22. Шелковникова Т.А., Куликова А.А., Цветков Ф.О., Peters O., Бачурин С.О., Бухман В.Л., Нинкина Н.Н. // *Молек. биол.* 2012. Т. 46. № 3. С. 402–415.
23. Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V.Jr., Feather-Stone R.M. // *Biochem. Pharmacol.* 1961. V. 7. P. 88–95.
[https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
24. Makhaeva G.F., Kovaleva N.V., Boltneva N.P., Lushchekina S.V., Rudakova E.V., Stupina T.S., Terentiev A.A., Serkov I.V., Proshin A.N., Radchenko E.V., Palyulin V.A., Bachurin S.O., Richardson R.J. // *Bioorg. Chem.* 2020. V. 94. P. 103387.
<https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103387>
25. Taylor P., Lappi S. // *Biochemistry.* 1975. V. 14. P. 1989–1997.
<https://doi.org/10.1021/bi00680a029>
26. Bartolini M., Bertucci C., Cavrini V., Andrisano V. // *Biochem. Pharmacol.* 2003. V. 65. P. 407–416.
[https://doi.org/10.1016/S0006-2952\(02\)01514-9](https://doi.org/10.1016/S0006-2952(02)01514-9)

TACRINE DERIVATIVES CONTAINING ANTIOXIDANT FRAGMENT

I. V. Serkov^{a,*}, A. N. Proshin^a, N. V. Kovaleva^a, N. P. Boltneva^a, E. V. Rudakova^a,
G. F. Makhaeva^a, and Academician of the RAS S. O. Bachurin^a

^a*Institute of Physiologically Active Compounds at Federal Research Center of Problems of Chemical Physics and Medicinal Chemistry, Russian Academy of Sciences, 142432 Chernogolovka, Moscow region, Russian Federation*

*E-mail: serkoviv@mail.ru

An approach has been developed for the synthesis of multitarget compounds based on a tacrine molecule conjugated with a fragment of a vanillin molecule using alkylimine or alkylamine linkers with different alkyl chain lengths (C2–C4). The synthesized conjugates effectively inhibit cholinesterases, displace propidium from the peripheral anionic site of acetylcholinesterase having potential antiaggregant properties, and exhibit high antioxidant activity.

Keywords: tacrine, vanillin, cholinesterases, antioxidants