

УДК 547.563.4:544.165:542.06



## Прогноз, антиоксидантная активность *in silico* и целенаправленный синтез азометиновых производных пространственно-затруднённого фенола

Т.В. Цакулова<sup>1,2</sup>, И.П. Кодониди<sup>2</sup>, А.С. Чиряпкин<sup>2</sup>, Ф.Н. Бидарова<sup>1</sup>, М.Т. Кисиева<sup>1</sup>, Л.А. Усманова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Осетинская государственная медицинская академия»

Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
Россия, 362019, г. Владикавказ, ул. Пушкинская, д. 40

<sup>2</sup> Пятигорский медико-фармацевтический институт –

филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
Россия, 357532, г. Пятигорск, пр-т Калинина, д. 11

E-mail: tsakulova7@mail.ru

Получена 27.06.2025

После рецензирования 09.01.2026

Принята к печати 15.03.2026

Проведено молекулярное конструирование и синтез нового ряда биологически активных азометинов, содержащих пространственно-затруднённый фенольный фрагмент. В рамках исследования 8 соединений, для которых оценена антиоксидантная активность в условиях *in vitro*. Для установления механизма действия методом молекулярного докинга выполнено моделирование взаимодействия синтезированных лигандов с активным центром глутатионпероксидазы-4 (GPx-4). Проведённый анализ позволил выявить ключевые структурные особенности, определяющие антиоксидантную эффективность, и установить корреляционную связь между строением молекул и их биологической активностью.

**Цель.** Синтез, компьютерный скрининг и исследование антиоксидантных свойств новых азометинов на основе пространственно-затруднённого фенола, а также установление корреляций «структура–активность».

**Материалы и методы.** Методом конденсации соответствующих кетонов с ароматическими аминами в присутствии каталитических количеств *p*-толуолсульфокислоты был осуществлен синтез нового ряда 2,6-ди-*трет*-бутил-4-[С-алкил-(арил)-(N-фенил)-азометино]фенолов. Структура и чистота полученных соединений подтверждены комплексом физико-химических методов, включая ИК-спектроскопию, <sup>1</sup>H-ЯМР-спектроскопию и элементный анализ. Для первичной оценки биологической потенции синтезированных соединений проведено компьютерное прогнозирование (*in silico*) их антиоксидантных, антирадикальных и кардиотонических свойств с использованием онлайн-платформы PASS Online. Молекулярное моделирование потенциальной ингибирующей активности в отношении глутатионпероксидазы-4 (GPx-4) человека выполнялось в программе Autodock 4.0. При этом учитывалась конформационная подвижность лигандов, для которых были предварительно определены и заданы оптимальные торсионные углы. Экспериментальное изучение антиоксидантной активности (АОА) проводилось в двух модельных системах: индуцирование перекисного окисления липидов (ПОЛ) в комплексе жирных кислот кукурузного масла под действием УФ-облучения; система Фентона (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe<sup>2+</sup>). Для сопоставления эффективности в качестве референтных стандартов были использованы убихинон и бутилированный гидрокситолуол (БГТ, действующее вещество препарата дибулин), представляющий класс экранированных фенолов.

**Результаты.** Спектр биологической активности исследованных соединений предсказан *in silico* с помощью сервиса PASS Online. Согласно прогнозу, все вещества обладают кардиотоническим, мембраностимулирующим и антиоксидантным потенциалом. Наличие АОА и способности захватывать свободные радикалы позволяет отнести данные молекулы к классу антирадикальных агентов. Экспериментальная проверка АОА была проведена в двух модельных системах: на основе фотоокисления (УФ-облучение) комплекса жирных кислот кукурузного масла (система № 1) и на системе Фентона (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe<sup>2+</sup>, система № 2). Во всех случаях исследуемые соединения продемонстрировали высокую эффективность, ингибируя ПОЛ на 42–48%. Данный результат существенно превышает активность стандартных антиоксидантов — убихинона (11%) и БГТ (39%) — в аналогичных условиях.

**Заключение.** Результаты молекулярного докинга свидетельствуют о высоком сродстве новых лигандов к белку GP-4, причем расчётная энергия связывания для наиболее перспективных структур сопоставима с таковой для известных эталонов — убихинона, дибулина (гидроксипропилированного толуола) и мексидола. Экспериментальные данные *in vitro* подтвердили выраженную антиоксидантную активность синтезированных соединений. Выделены «лидерные» структуры, превосходящие по эффективности классические антиоксиданты — убихинон и дибулин.

**Для цитирования:** Т.В. Цакулова, И.П. Кодониди, А.С. Чиряпкин, Ф.Н. Бидарова, М.Т. Кисиева, Л.А. Усманова. Прогноз, антиоксидантная активность *in silico* и целенаправленный синтез азометиновых производных пространственно-затруднённого фенола. *Фармация и фармакология*. 2026;14(2):175-188. DOI: 10.19163/2307-9266-2026-14-2-175-188

© Т.В. Цакулова, И.П. Кодониди, А.С. Чиряпкин, Ф.Н. Бидарова, М.Т. Кисиева, Л.А. Усманова, 2026

**For citation:** O. Tsakulova, I.P. Kodonidi, A.S. Chiriapkin, F.N. Bidarova, M.T. Kisieva, L.A. Usmanova. Prediction, *in silico* antioxidant activity, and targeted synthesis of sterically hindered phenol azomethine derivatives. *Pharmacy & Pharmacology*. 2026;14(2):175-188. DOI: 10.19163/2307-9266-2026-14-2-175-188

**Ключевые слова:** азометины; азометинофенолы; пространственно-затруднённые фенолы; антиоксидантная активность; перекисное окисление липидов; PASS Online

**Список сокращений:** ПЗФ — пространственно-затруднённые фенолы; ТСХ — тонкослойная хроматография; ПОЛ — перекисное окисление липидов; АОА — антиоксидантная активность; УФО — ультрафиолетовое облучение; ФАО — фенольные антиоксиданты; ВСМ — водно-спиртово-масляная смесь; ТХУК — трихлоруксусная кислота; Ра — вероятность проявления активности.

## Prediction, *in silico* antioxidant activity, and targeted synthesis of sterically hindered phenol azomethine derivatives

T.V. Tsakulova<sup>1,2</sup>, I.P. Kodonidi<sup>2</sup>, A.S. Chiriapkin<sup>2</sup>, F.N. Bidarova<sup>1</sup>, M.T. Kisieva<sup>1</sup>, L.A. Usmanova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> North Ossetian State Medical Academy,  
40 Pushkinskaya Str., Vladikavkaz, Russia, 362019

<sup>2</sup> Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University,  
11 Kalinin Ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

E-mail: tsakulova7@mail.ru

Received 27 June 2025

After peer review 09 Jan 2026

Accepted 15 March 2026

Molecular design and synthesis of a new series of biologically active azomethines containing a sterically hindered phenolic fragment were carried out. Within the scope of the study, 8 compounds were synthesized, and their antioxidant activity was evaluated under *in vitro* conditions. To establish the mechanism of action, molecular docking was used to model the interaction of the synthesized ligands with the active site of glutathione peroxidase-4 (GPx-4). The conducted analysis revealed key structural features determining antioxidant efficacy and established a correlation between molecular structure and biological activity.

**The aim.** Synthesis, computer screening, and investigation of the antioxidant properties of new azomethines based on sterically hindered phenol, as well as establishing structure–activity relationships.

**Materials and methods.** A new series of 2,6-di-tert-butyl-4-[C-alkyl-(aryl)-(N-phenyl)-azomethine]phenols was synthesized by the condensation of corresponding ketones with aromatic amines in the presence of catalytic amounts of p-toluenesulfonic acid. The structure and purity of the obtained compounds were confirmed by a complex of physicochemical methods, including IR spectroscopy, H NMR spectroscopy, and elemental analysis. For the initial assessment of the biological potency of the synthesized compounds, computer prediction (*in silico*) of their antioxidant, antiradical, and cardiotoxic properties was performed using the online platform PASS Online. Molecular modeling of potential inhibitory activity against human glutathione peroxidase-4 (GPx-4) was carried out using the Autodock 4.0 program. The conformational mobility of the ligands was taken into account, for which optimal torsion angles were previously determined and set. Experimental study of antioxidant activity (AOA) was conducted in two model systems: induction of lipid peroxidation (LPO) in a complex of corn oil fatty acids under UV irradiation; and the Fenton system ( $H_2O_2/Fe^{2+}$ ). To compare efficacy, ubiquinone and bottled hydroxytoluene (BHT, the active substance of the drug dibulin), representing the class of sterically hindered phenols, were used as reference standards.

**Results.** The spectrum of biological activity of the studied compounds was predicted *in silico* using the PASS Online service. As it was expected, all substances have cardiotoxic, membrane-stimulating, and antioxidant potential. The presence of AOA and the ability to scavenge free radicals allows these molecules to be classified as antiradical agents. Experimental verification of AOA was carried out in two model systems: based on photooxidation (UV irradiation) of a complex of fatty acids from corn oil (system No. 1) and on the Fenton system ( $H_2O_2/Fe^{2+}$ , system No. 2). In all the cases, the studied compounds demonstrated high efficacy, inhibiting lipid peroxidation LPO by 42–48%. This result significantly exceeds the activity of standard antioxidants — ubiquinone (11%) and BHT (39%) — in the same conditions.

**Conclusion.** The results of molecular docking indicate a high affinity of the new ligands to the GP-4 protein, with the calculated binding energy for the most promising structures being comparable to that of known standards—ubiquinone, dibulin (hydroxybutylated toluene), and mexidol. *In vitro* experimental data confirmed the pronounced antioxidant activity of the synthesized compounds. “Lead” structures were identified that surpass classical antioxidants—ubiquinone and dibulin — in efficacy.

**Keywords:** azomethines; azomethine phenols; sterically hindered phenols; antioxidant activity; lipid peroxidation; PASS Online

**Abbreviations:** SHPs — sterically hindered phenols; TLC — thin-layer chromatography; LPO — lipid peroxidation; AOA — antioxidant activity; UV irradiation — ultraviolet irradiation; PhAs — phenolic antioxidants; WSOM — water, alcohol and oil mixture; TCA — trichloroacetic acid; Pa — probability of activity manifestation.

## ВВЕДЕНИЕ

Современный взгляд на роль перекисного окисления липидов (ПОЛ) свидетельствует о том, что дисбаланс в этом процессе служит ключевым патогенетическим звеном множества патологий, особенно болезней сердечно-сосудистой системы. В частности, современные исследования позволили сформировать концепцию, согласно которой ПОЛ вносит значимый вклад в развитие венозных тромбозов и тромбоэмболий у пациентов с сердечной недостаточностью. Основой для этого является окислительный стресс, характеризующийся избыточной генерацией активных форм кислорода, что в итоге повышает тромбогенный потенциал крови [1–3].

В контексте разработки новых лекарственных препаратов одной из актуальных стратегий фармацевтической науки является создание молекул комбинированного действия, способных одновременно влиять на несколько биологических мишеней. Такой полифармакологический эффект достигается путём рационального конструирования «гибридных» соединений–лидеров, в структуру которых интегрированы фармакофорные фрагменты так называемых «привилегированных молекул» [4–6]. Перспективным химическим классом для подобного дизайна являются азометины, рассматриваемые как основа для антиагрегантных препаратов, направленных против тромбозов [7–9]. Синергический эффект, объединяющий антиоксидантное и антирадикальное действие, можно усилить, включив в молекулярный остов азометинов «ловушку» свободных радикалов — структурный элемент пространственно-затруднённого фенола (ПЗФ) [10, 11].

Среди полифункциональных фенольных антиоксидантов (ФАО) наиболее глубоко изучены и применяются производные 4-метил-2,6-диизоборнилфенола, демонстрирующие антитромбоцитарную и антитромбогенную активность [12]. Однако ассортимент подобных полифункциональных соединений на рынке крайне ограничен, что связано со следующими основными проблемами:

— многостадийность известных методологий получения синтетических соединений, экономические затраты и плохая адаптированность для масштабирования в промышленных условиях.

— отсутствие систематизированных знаний и данных о связи химического строения полифункциональных ФАО с их антиоксидантной эффективностью («структура-активность») затрудняет целенаправленный синтез соединений, превосходящих существующие аналоги.

Таким образом, насущной задачей становится целенаправленный поиск и изучение новых высокоэффективных и безопасных соединений,

сочетающих свойства антиоксидантов, антирадикальных и антитромбогенных агентов. Перспективным направлением в этой области является исследование ряда азометинов, содержащих фрагмент стерически затруднённого фенола, с последующей оценкой их антиоксидантного потенциала в условиях *in vitro*.

**ЦЕЛЬ.** Синтез новых азометиновых производных пространственно-затруднённого фенола, прогнозирование *in silico* соединений с оптимальными фармакометрическими параметрами, изучение антиоксидантной активности *in vitro* и выявление закономерностей взаимосвязи «структура–активность».

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Прогнозирование

Структурные формулы моделируемых соединений были построены в программе BIOVIA Draw 17.2. Компьютерный анализ биологической активности виртуальных соединений осуществлялся программой PASS, основанной на анализе структурных дескрипторов многоуровневых атомных окрестностей известных веществ. Полученные результаты оформлены в виде перечня биологической активности с расчётными значениями вероятности проявления (Pa) каждого конструированного вещества [13].

Молекулярный докинг проводился в свободно распространяемой программе Autodock 4.0 [14]. Молекулярное моделирование осуществлялось с учётом конформационной подвижности лигандов, торсионные углы которых были установлены и заданы в данной программе. Заряды всех атомов моделируемой системы рассчитаны алгоритмом Гастейгера (Gasteigeralgorithm). В программе был задан поиск 200 энергетически выгодных конформаций образования молекулярного комплекса изучаемых соединений с белковой мишенью с использованием ламарковской скоринговой функции подсчёта энергии взаимодействия (Lamarckian GA 4.2). Расстояние между точками сетки составляло 0,364 Å. Трёхмерную модель фермента для вычислительных экспериментов выбирали из базы данных виртуальных структур RCSB Protein Data Bank ([www.rcsb.org](http://www.rcsb.org)) [15].

Виртуальные структуры моделируемых соединений были построены в программе HyperChem 8.0.4, а затем геометрически оптимизированы методом AbInitio с базовым набором STO-3G [16].

Преобразование формата .hin в .pdb, необходимого для молекулярного моделирования, выполнено в программе Open Babel 2.4.1 [17].

В качестве мишени для осуществления прогнозирования ингибирующей активности соединений в отношении глутатионпероксидазы-4 (ГП-4) использована виртуальная модель человеческого фермента с идентификационным номером 6HKQ, в структуре которой находится ингибитор данного фермента — ML162 ((2~{S})-2-[2-хлоранилэтанойл-(3-хлоранил-4-метоксифенил)амино]-{N}-(2-фенилэтил)-2-тиофенилэтанамид) [18–20]. Областью вычислительного эксперимента является куб, центр которого находится по следующим координатам:  $x=-22,487$ ,  $y=9,200$ ,  $z=2,438$ . Количество точек в измерениях по осям  $x$  и  $y$  равно 40, по оси  $z$  — 26.

#### Анализ

Определение температуры плавления проводили на приборе ПТП (М) ТУ 92–891 (Россия). ИК-спектры регистрировали на приборе ИК фурье-спектрометре ФСМ 1201 (ООО «Инфраспек», Россия) в таблетке безводного калия бромида, спектры  $^1\text{H}$ -ЯМР — на приборе Bruker (Германия) с рабочей частотой 400 МГц в растворах ДМСО- $d_6$  или дейтерированного хлороформа ( $\text{CDCl}_3$ ) с использованием растворителя в качестве внутреннего стандарта. Прохождение реакции контролировали тонкослойной хроматографией с использованием пластинок «Sorbfil». В качестве подвижной фазы использовали хроматографическую систему  $n$ -бутанол–уксусная кислота–вода (4:1:2). Пятна веществ детектировали в УФ-свете. Элементный анализ был выполнен на CHNSO-анализаторе Flash EA 1112 (Thermo Scientific, США).

#### Синтез

Общая методика получения производных **2,6-ди-*трет*-бутил-4-[С-алкил-(арил)]-(N-фенил)-азометино]-фенола**. К раствору, содержащему эквимольные количества (0,01 моль) соответствующих 1-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксифенил)-алкил-(арил)-кетона и первичного ароматического амина в 50 мл безводного толуола, прибавляли каталитическое количество  $p$ -толуолсульфонокислоты, кипятили 4 ч, охлаждали, выпавший осадок промывали петролейным эфиром, сушили, кристаллизовали из водного метанола.

**4-[N-(4-бромфенил)-С-метил-азометино]-2,6-ди-*трет*-бутил-фенол (3a)**. Продукт реакции — мелкокристаллическое бежевое вещество без запаха. Выход — 76%. Тпл.=145–147°C (перекристаллизация из метанола). ИК-спектр (в таблетке калия бромида): 3560 (ОН), 3052 ( $\text{CH}_{\text{аром}}$ ), 2851 (t-Bu), 1663 (C=N)  $\text{cm}^{-1}$ . Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.35, 1.46 (2s, по 1H, C (3) трет-Бу, C(5) трет-Бу, J=4.91); 5.72 (s, 1H, C(4) ОН, J=4.83); 7.61 (s, 2H, Ar, J=10.05); 7.40, 7.43 (2d, по 1H, H (5, 6), J=5.14, J=5.17). Данные элементного анализа (%) для

$\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{BrNO}$  (402.34): Вычислено: С, 65.67; Н, 7.01; Br, 19.86; N, 3.48; O, 3.98. Найдено: С, 65.81; Н, 7.06; Br, 20.10; N, 3.53; O, 4.05.

**4-[N-(2-аминофенил)-С-этил-азометино]-2,6-ди-*трет*-бутил-фенол (3b)**. Выход — 74%. Тпл.=132–134°C (перекристаллизация из метанола). ИК-спектр (в таблетке калия бромида): 3562 (ОН), 3044 ( $\text{CH}_{\text{аром}}$ ), 2847 (t-Bu), 1662 (C=N)  $\text{cm}^{-1}$ . Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.38, 1.48 (2s, по 1H, C (3) трет-Бу, C(5) трет-Бу, J=4.92); 5.78 (s, 1H, C(4) ОН, J=4.90); 7.58 (s, 2H, Ar, J=10.02); 7.42, 7.44 (2d, по 1H, H (5, 6), J=5.10, J=5.16). Данные элементного анализа (%) для  $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}$  (352.48): Вычислено: С, 78.36; Н, 9.15; N, 7.95; O, 4.54. Найдено: С, 78.81; Н, 9.22; N, 8.02; O, 4.05.

**2,6-ди-*трет*-бутил-4-[С-метил-N-(*p*-толил)-азометино]-фенол (3c)**. Выход — 80%. Тпл. 142–144°C (перекристаллизация из метанола). ИК-спектр (в таблетке калия бромида): 3600 (ОН), 3050 ( $\text{CH}_{\text{аром}}$ ), 2865 (t-Bu), 1663 (C=N)  $\text{cm}^{-1}$ . Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.36, 1.42 (2s, по 1H, C (3) трет-Бу, C(5) трет-Бу, J=4.88); 5.80 (s, 1H, C(4) ОН, J=4.91); 7.65 (s, 2H, Ar, J=10.02); 7.40, 7.48 (2d, по 1H, H (5, 6), J=5.14, J=5.16). Данные элементного анализа (%) для  $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{NO}$  (337.47): Вычислено: С, 81.85; Н, 9.26; N, 4.15; O, 4.74. Найдено: С, 81.74; Н, 9.18; N, 3.98; O, 4.05.

**N-[4-[1-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидрокси-фенил)-этилденамино]-фенил]-ацетамид (3d)**. Выход — 80%. Тпл.=147–149°C (перекристаллизация из метанола). ИК-спектр (в таблетке калия бромида): 3600 (ОН), 3050 ( $\text{CH}_{\text{аром}}$ ), 2865 (t-Bu), 1663 (C=N)  $\text{cm}^{-1}$ . Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.40, 1.46 (2s, по 1H, C (3) трет-Бу, C(5) трет-Бу, J=4.90); 5.72 (s, 1H); (s, 1H, C(4) ОН, J=4.82); 7.62 (s, 2H, Ar, J=10.05); 7.44, 7.49 (2d, по 1H, H (5, 6), J=5.17, J=5.12). Данные элементного анализа (%) для  $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_2$  (380.49): Вычислено: С, 75.75; Н, 8.48; N, 7.36; O, 8.41. Найдено: С, 78.81; Н, 8.18; N, 7.88; O, 8.05.

**1-[4-[1-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидрокси-фенил)-этилденамино]-фенил]-этанон (3e)**. Выход — 78%. Тпл.=100–102°C (перекристаллизация из метанола). ИК-спектр (в таблетке KBr): 3600 (ОН), 3050 ( $\text{CH}_{\text{аром}}$ ), 2865 (t-Bu), 1663 (C=N)  $\text{cm}^{-1}$ . Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.38, 1.48 (2s, по 1H, C (3) трет-Бу, C(5) трет-Бу, J=4.94); 5.74 (s, 1H, C(4) ОН, J=4.88); 7.63 (s, 2H, Ar, J=10.02); 7.38, 7.42 (2d, по 1H, H (5, 6), J=5.15, J=5.10). Данные элементного анализа (%) для  $\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{NO}_2$  (365.48): Вычислено: С, 78.86; Н, 8.55; N, 3.83; O, 8.76. Найдено: С, 78.92; Н, 8.18; N, 3.72; O, 8.05;

**2,6-ди-*трет*-бутил-4-[С-(4-хлорфенил)-N-фенилазометино]-фенол (3f)**. Выход — 72%. Тпл.=185–187°C (перекристаллизация из метанола). ИК-спектр (в таблетке калия бромида): 3600 (ОН), 3050 ( $\text{CH}_{\text{аром}}$ ), 2865 (t-Bu), 1663 (C=N)  $\text{cm}^{-1}$ . Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м.д.: 1.34, 1.42 (2s, 2H,

C(3,5)-*трет*-Bu, J=4.90); 5.80 (s, 1H, C(4) OH, J=4.92); 7.61 (s, 2H, Ar, J=10.00); 7.40, 7.48 (2d, по 1H, H (5, 6), J=5.14, J=5.09). Данные элементного анализа (%) для C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>ClNO<sub>2</sub> (419.95): Вычислено: C, 77.21; H, 7.20; Cl, 8.55; N, 3.34; O, 3.81. Найдено: C, 77.92; H, 7.55; Cl, 8.19; N, 3.72; O, 8.014;

**N-[4-[1-(3,5-*ди-трет*-бутил-4-гидрокси-фенил)-пропилиденамино]-фенил]-ацетамид (3g).** Выход — 76%. Тпл.=128–130°C (перекристаллизация из метанола). ИК-спектр (в таблетке KBr): 3600 (OH), 3050 (CH<sub>аром</sub>), 2865 (t-Bu), 1663 (C=N) см<sup>-1</sup>. Спектр<sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>), δ, м.д.: 1.40, 1.52 (2s, по 1H, C (3) *трет*-Bu, C(5) *трет*-Bu, J=4.94); 5.74 (s, 1H, C(4) OH, J=4.86); 7.60 (s, 2H, Ar, J=10.04); 7.42, 7.48 (2d, по 1H, H (5, 6), J=5.18, J=5.14). Данные элементного анализа (%) для C<sub>25</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (394.52): Вычислено: C, 76.21; H, 8.69; N, 7.10; O, 8.11. Найдено: C, 76.92; H, 8.55; N, 7.21; O, 8.17;

**2,6-*ди-трет*-бутил-4-[C-метил-N-(4-нитрофенил)-азометино]-фенол (3h).** Выход — 80%. Тпл.=132–134°C (перекристаллизация из метанола). ИК-спектр (в таблетке калия бромида): 3600 (OH), 3050 (CH<sub>аром</sub>), 2865 (t-Bu), 1663 (C=N) см<sup>-1</sup>, 1520 (ν<sup>ас</sup> NO<sub>2</sub>), 1360 (ν<sup>с</sup> NO<sub>2</sub>). Спектр<sup>1</sup> H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>), δ, м.д.: 1.38, 1.45 (2s, по 1H, C (3) *трет*-Bu, C(5) *трет*-Bu, J=4.91); 5.78 (s, 1H, C(4) OH, J=4.80); 7.63 (s, 2H, Ar, J=10.02); 7.40, 7.48 (2d, по 1H, H (5, 6), J=5.15, J=5.10). Данные элементного анализа (%) для C<sub>23</sub>H<sub>31</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (383.47): Вычислено: C, 72.03; H, 8.15; N, 7.30; O, 12.52. Найдено: C, 72.44; H, 8.05; N, 7.52; O, 12.36.

### **In vitro** изучение антиоксидантной активности соединений 3a–3h

Антиоксидантные свойства синтезированных азометинофенолов оценивали в модельных системах на основе кукурузного масла, содержащего комплекс насыщенных и ненасыщенных жирных кислот. Окисление липидов инициировали как физическим (ультрафиолетовое облучение, УФО), так и химическим способом, используя систему Фентона (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe<sup>2+</sup>) в качестве генератора свободных радикалов. Данный протокол ранее был успешно апробирован в наших исследованиях бензимидазольных производных, содержащих экранированный фенольный фрагмент [21]. Для количественной оценки полученных результатов антирадикальную активность соединений сравнивали с действием референсных антиоксидантов — убихинона («Biologische Heilmittel Hee», Германия) и бутилированного гидрокситолуола (БГТ, 99,0%, «CDH», Индия) — представителя класса экранированных фенолов, используемого в препарате «Дибулин». Антиоксидантная активность убихинона во всех экспериментальных условиях была принята за эталонную (100%, или 1.0 убихиноновая единица).

### **Общая методика определения антиоксидантной активности in vitro производных 2,6-ди-трет-бутил-4-[C-алкил-(арил)-(N-фенил)-азометино]-фенолов 3a–3h**

Для исследования антиоксидантной активности (АОА) соединений (3a–3h) использовали модель окисления, индуцированного системой Фентона. Каждое исследуемое соединение предварительно растворяли до концентрации 10%. Модельную липофильную среду готовили в виде водно-спиртово-масляной эмульсии: к 3 мл этанола добавляли 800 мкл масла, интенсивно встряхивали и доводили дистиллированной водой до метки в мерной колбе объёмом 100 мл. Инкубационную смесь формировали в центрифужных пробирках, объединяя 2 мл приготовленной эмульсии, 100 мкл раствора анализируемого вещества, 200 мкл 10% раствора железа (II) сульфата (FeSO<sub>4</sub>) и 10 мкл 3% перекиси водорода (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) для генерации гидроксильных радикалов. Реакцию проводили в термостате при 37°C в течение 60 мин. В контрольном эксперименте исследуемое вещество было заменено эквивалентным объёмом дистиллированной воды. После инкубации добавляли 1 мл 28% трихлоруксусной кислоты (ТХУК) и центрифугировали 10 мин при 600 об/мин. Содержание продуктов ПОЛ оценивали по реакции с тиобарбитуровой кислотой. К 2 мл супернатанта добавляли 1 мл 1% раствора ТБК и прогревали смесь 15 мин на кипящей водяной бане. После охлаждения оптическую плотность регистрировали на спектрофотометре СФ-46 (ОАО «ЛОМО», Россия). Для дифференциальной оценки стадий ПОЛ измерения проводили при 450 нм (диеновые конъюгаты) и 532 нм (малоновый диальдегид). Контролем служила инкубационная среда без добавления исследуемых веществ. Процент ингибирования процесса ПОЛ вычисляли по формуле:

$$ING\% = 100 - \left( \frac{I_0}{I_k} \times 100 \right),$$

где: I<sub>0</sub> — оптическая плотность исследуемого образца; I<sub>k</sub> — оптическая плотность пробы положительного контроля.

АОА выражали в убихиноновых единицах (Q – ed) по формуле:

$$AOA(Q - ed) = \% \Delta ING_i - \% \Delta ING_Q,$$

где: % ΔING<sub>i</sub> — процент уменьшения образования в тест-системе продуктов, реагирующих с ТБК, в присутствии тестируемого синтетического образца; %ΔING<sub>Q</sub> — процент уменьшения образования в тест-системе продуктов, реагирующих с ТБК, в присутствии убихинона.

Для сравнения изучена АОА типичных антиоксидантов — убихинона и бутилированного

гидрокситолуола. Готовили 1% раствор субстанции бутилированного гидрокситолуола, отбирали 100 мкл, добавляли в описанную выше тест-систему и инкубировали в стандартных условиях; убихинон — в описанную выше тест-систему добавляли 100 мкл рабочего раствора препарата, приготовленного растворением 1 капсулы убихинона в 10 мл дистиллированной воды, и инкубировали в стандартных условиях.

### Статистическая обработка

Статистический анализ результатов проводили с применением пакетов компьютерных программ: «Microsoft Excel 2010» (Microsoft Office, США) и «Statistica 10» (Statsoft, США) с применением парного t-критерия Стьюдента. Для оценки корреляционных взаимосвязей отдельных изучаемых параметров использовали метод Пирсона.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Производные 2,6-ди-*трет*-бутил-4-[С-алкил-(арил)-(N-фенил)-азометино]-фенолов **3a–3h** синтезировали кипячением эквимольных количеств соответствующих замещённых 1-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксифенил)-алкил-(арил)-кетон и первичных ароматических аминов в безводном толуоле в присутствии каталитических количеств *п*-толуолсульфокислоты в течение 4 ч (Рис. 1).

Строение 2,6-ди-*трет*-бутил-4-[С-алкил-(арил)-(N-фенил)-азометино]-фенолов подтверждено методами ИК-спектроскопии, <sup>1</sup>H-ЯМР и элементным анализом. Во всех соединениях имеются характеристические полосы валентных колебаний неассоциированной ( $\nu$  3600 см<sup>-1</sup>) и ассоциированной ( $\nu$  3400 см<sup>-1</sup>) групп О-Н, полосы валентных колебаний С-Н связей ароматического кольца ( $\nu$  3000–3050 см<sup>-1</sup>), полосы валентных ассиметричных и симметричных колебаний С-Н связей трет-бутильных групп ( $\nu$  3000–2850 см<sup>-1</sup>), полосы валентных колебаний >C=N- связи ( $\nu$  1663 см<sup>-1</sup>). Показательными в ИК-спектре соединения **3h** являются интенсивные полосы поглощения в области 1520–1526 см<sup>-1</sup> и 1330–1360 см<sup>-1</sup>, отнесённые к ассиметричным  $\nu_{NO_2}^{as}$  и симметричным  $\nu_{NO_2}^s$  валентным колебаниям нитрогруппы.

В <sup>1</sup>H ЯМР спектрах полученных соединений **3a–3h** имеются два синглета протонов трет-бутильных групп, которые обнаруживают магнитную неэквивалентность, химические сдвиги для этих протонов наблюдаются в пределах от 1,34–1,42 и 1,45–1,52 м.д.

Синглет (s) с химическими сдвигами в пределах 5,72–5,80 м.д. одному протону гидроксильной группы.

Сигнал ароматических протонов фенольного фрагмента молекулы (положения 3,5) имеет химический сдвиг 7,61–7,65 м.д. и интенсивность

в пределах 10,01–10,05, что соответствует двум протонам.

Ароматические протоны ароматического кольца (положения 5, 6) из-за спин-спинового взаимодействия дают два дублета с химическими сдвигами в пределах от 7,38–7,40 и 7,43–7,49 м.д.

Сведения о некоторых физико-химических параметрах соединений **3a–3h** представлены в таблице 1.

Для оценки перспективности синтеза новых производных 2,6-ди-*трет*-бутил-4-[С-алкил-(арил)-(N-фенил)-азометино]-фенолов **3a–3h** проведено *in silico* прогнозирование спектра вероятных видов их фармакологических свойств с использованием онлайн-сервиса PASS Online. Перечень вероятных видов биологической активности с указанием вероятности их наличия (P<sub>a</sub>) и отсутствия (P<sub>i</sub>) в долях единицы представлены в таблице 2.

Сравнительный анализ прогнозируемых данных для ароматических производных оснований Шиффа, содержащих фрагмент экранированного фенола, указывает на их потенциально высокую фармакологическую активность. Представители этого ряда, согласно предсказаниям, могут проявлять кардиотонический эффект и способность к стабилизации клеточных мембран. Кроме того, ожидаемое усиление экспрессии фермента CYP2J2 может опосредовать кардиопротекцию через активацию митохондриальных АТФ-зависимых калиевых каналов (mitoKATP) [22, 23], принося физиологическую пользу за счёт изменения выработки активных форм кислорода.

Результаты вычислительного моделирования свидетельствуют о том, что ряд изученных азометиновых производных демонстрирует потенциальную активность в отношении мишени ГП-4. Наибольшую устойчивость образует молекулярный комплекс с соединением **3h**, энергия образования которого составляет -6,60 ккал/моль, что указывает на его высокий аффинитет (табл. 3). Соединения **3f** и **3a** также могут проявлять выраженный ингибирующий эффект. Ключевой структурной особенностью, общей для активных лигандов (**3a**, **3f**, **3h**), является присутствие сильных электроноакцепторных групп — атомов брома, хлора и нитрогруппы.

Таким образом, можно сделать вывод, что введение электроноакцепторных заместителей в структуру азометинов существенно увеличивает их способность к связыванию с активным центром ГП-4 [24]. Убихинон, гидроксibuтилированный толуол и мексидол обладают значительно меньшим сродством к сайту связывания ГП-4. Известно [25], что мексидол, проявляет выраженную антиоксидантную активность, в том числе за счёт активации эндогенных антиоксидантных ферментов. Проведённое компьютерное моделирование позволяет предположить, что

энергия связывания исследуемых лигандов с ферментом ГП-4 будет сопоставима по эффективности с эталонными соединениями: убихиноном, гидроксibuтилированным толуолом и самим мексидолом. Молекулярный докинг выявил ключевые аминокислотные остатки активного центра фермента, участвующие во взаимодействии с виртуальными лигандами: Gln 45, Sec 46, Gly 47, Lys 48, Gln 81, Trp 136, Asn 137 и Phe 138. Анализ характера связей показал, что: соединения **3d** и **3g** образуют водородные связи через карбонильные группы с остатком Asn 137. Лиганд **3e** формирует аналогичную водородную связь с остатком Gly 47. Для веществ **3f** и **3h** характерно образование водородной связи между азотом азометиновой группы и аминокислотой Trp 136 (см. табл. 3).

Предварительный этап прогнозирования позволяет оценить целесообразность, как дальнейшего молекулярного конструирования, так и препаративных исследований по синтезу высокоэффективных и безопасных субстанций лекарственных препаратов среди производных данного ряда.

#### Исследование антиоксидантной активности производных (**3a–h**) в тест-системе с ультрафиолетовым облучением

На первом этапе работы проводили скрининг АОА синтезированных азометинов, содержащих фрагмент стерически затруднённого фенола. Исследование выполнено в модельной тест-системе на основе комплекса насыщенных и ненасыщенных жирных кислот. ПОЛ инициировали ультрафиолетовым облучением (УФО) в присутствии ионов  $Fe^{2+}$  в оптимальной биологической концентрации ( $1,0 \times 10^{-3}$  моль/л). Наибольший антиоксидантный эффект, выраженный в убихиновых единицах (Q-ед), продемонстрировали соединения **3a**, **3c**, **3e** и **3h**. Статистически обработанные данные представлены в таблице 4.

Детальный анализ показал, что производные **3a**, **3c** и **3h** ингибируют свободнорадикальные процессы на 44–48%, превосходя по активности референтное соединение — гидроксibuтилированный толуол (ингибирование 39%). Для остальных соединений ряда (**3b**, **3d**, **3e**, **3f**, **3g**) уровень ингибирования составил 28–37%. Наименьшая АОА характерна для образцов **3d** и **3g**, что, вероятно, связано со стерическими препятствиями, создаваемыми объемной ацетамидной группой в фенильном фрагменте, сопряжённой с азометиновой связью.

На заключительном этапе изучена зависимость АОА от концентрации инициатора. Сравнительный анализ с гидроксibuтилированным толуолом подтвердил, что максимальная антиоксидантная активность исследуемых соединений

проявляется при концентрации ионов железа (II) ( $1,0 \times 10^{-3}$  моль/л).

#### Исследование антиоксидантной активности соединений **3a–3h** в тест-системе с перекисью водорода

В ходе исследования АОА исследуемых соединений в тест-системе с применением химических (перекись водорода и сульфат железа (II) — система Фентона  $H_2O_2/Fe^{2+}$ ) индукторов свободнорадикальных процессов установлено, что максимальный ингибирующий эффект наблюдался также в присутствии соединений **3a**, **3c** и **3h** — 42–45%, превышая антиоксидантный эффект в той же системе у вещества сравнения — гидроксibuтилированного толуола (36,5%) (табл. 5).

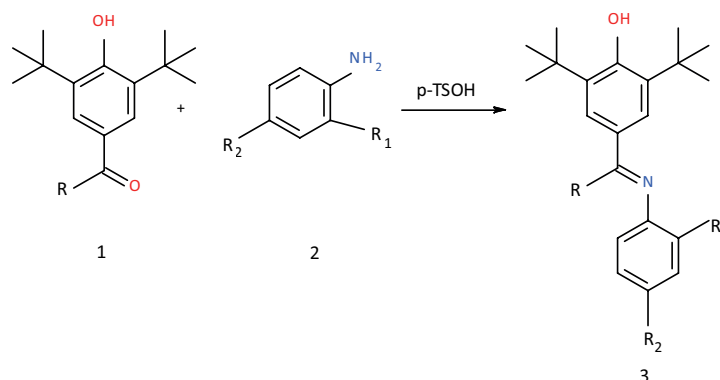
Однако необходимо отметить менее выраженный эффект в данной тест-системе у соединений **3a**, **3c** и **3h**, что свидетельствует о меньшей устойчивости описываемых соединений к химическим индукторам свободнорадикальных процессов.

Другие тестируемые образцы этого ряда **3b**, **3d**, **3e**, **3f** и **3g** ингибируют свободнорадикальные процессы на 29–38%. Наименее выраженные антиоксидантные свойства у соединений **3b**, **3f** и **3g**.

Ключевым структурным элементом, определяющим полифармакологический профиль ряда гибридных соединений, выступает фрагмент 2,6-*ди-трет*-бутилфенола. Его включение в структуру N-замещённых 3-(бензимидазол-2-ил)-хромон-3-ил)-ксантина обеспечивает не только выраженный антиоксидантный эффект, сопоставимый с активностью стандарта тролокса, но и цитотоксическое действие в отношении линий клеток колоректального рака человека HCT116 и рака молочной железы MCF7 [10, 26].

Особый интерес представляет способность данного фенольного фрагмента индуцировать церебропротекторные свойства. Экспериментально показано, что 4-гидрокси-3,5-*ди-трет*-бутилкоричная кислота (в дозе 100 мг/кг) снижает степень неврологического дефицита у животных, способствует восстановлению митохондриального мембранного потенциала, нормализует соотношение аэробного и анаэробного метаболизма и подавляет активность каспазы-3 — ключевого эффектора апоптоза [27].

Более того, соединения, содержащие 4-гидрокси-3,5-*ди-трет*-бутилфенильный заместитель, демонстрируют комплексное нейропротекторное действие. Оно проявляется в восстановлении активности митохондриальных ферментов (аконитазы, цитратсинтазы и  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназы), а также в снижении патологического накопления тау-белка в ткани гиппокампа [28].



R=Me, R<sub>2</sub>=Br (**3a**); R= Et, R<sub>1</sub>=NH<sub>2</sub> (**3b**); R=Me, R<sub>2</sub>=Me (**3c**); R=Me, R<sub>3</sub>=NHAc (**3d**); R=Me, R<sub>2</sub>=Ac (**3e**);  
 R =p-ClPh, R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>= H (**3f**); R=Et, R<sub>3</sub>=NHAc (**3g**); R=Me, R<sub>2</sub>=NO<sub>2</sub> (**3h**)

**Рисунок 1 – Синтез производных 2,6-ди-tert-бутил-4-[(Z)-С-алкил-(арил)-(N-фенил)-азометино]-фенолов (3a–3h).**

Примечание: p-TsOH — п-толуолсульфокислота.

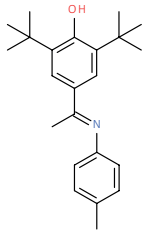
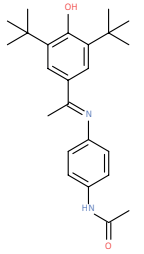
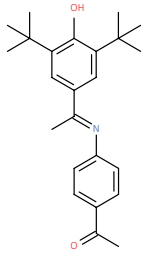
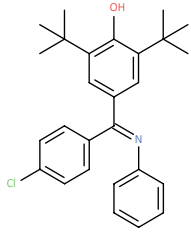
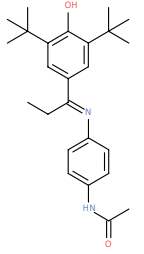
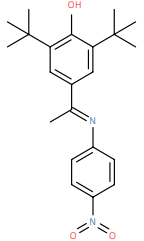
**Таблица 1 — Физико-химические характеристики соединений 3a–3h**

Шифр соединения	Выход, %	Тпл. (ТГФ:ДМФА)	Мол. масса	Брутто-формула*
3a	76	145–147	402,34	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> BrNO
3b	74	132–134	352,48	C <sub>23</sub> H <sub>32</sub> N <sub>2</sub> O
3c	80	147–149	337,47	C <sub>23</sub> H <sub>31</sub> NO
3d	80	142–144	380,49	C <sub>24</sub> H <sub>32</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
3e	78	100–102	365,48	C <sub>23</sub> H <sub>31</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
3f	72	185–187	419,95	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> ClNO
3g	76	128–130	394,52	C <sub>25</sub> H <sub>34</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
3h	80	132–134	383,47	C <sub>23</sub> H <sub>31</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>

Примечание: \* по данным элементного анализа (полученные значения соответствуют расчётным).  
 ТГФ — тетрагидрофур; ДМФА — диметилформамид.

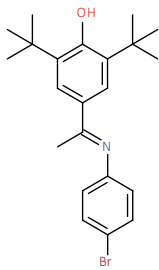
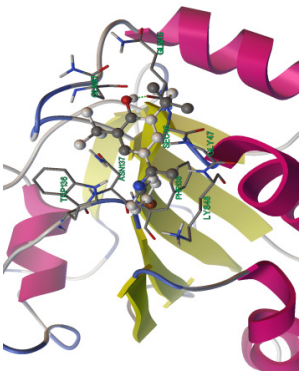
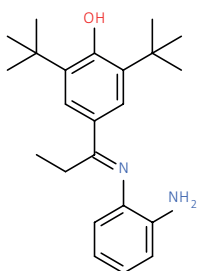
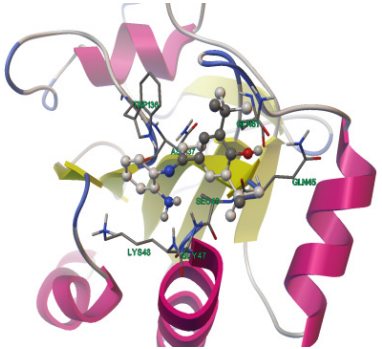
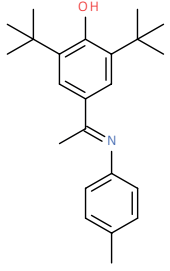
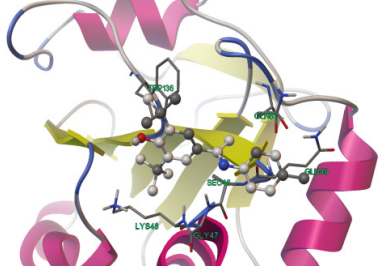
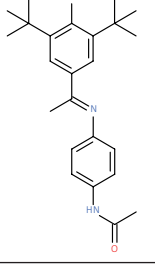
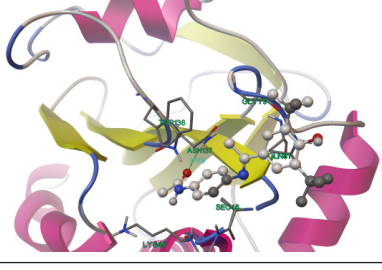
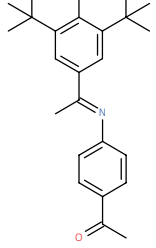
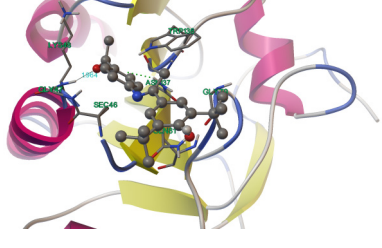
**Таблица 2 — Прогнозируемые виды биологической активности азометиновых производных пространственно-затруднённого фенола (3a–3h) с помощью веб-ресурса PASS Online**

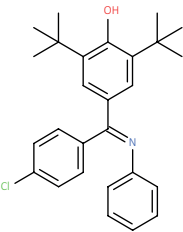
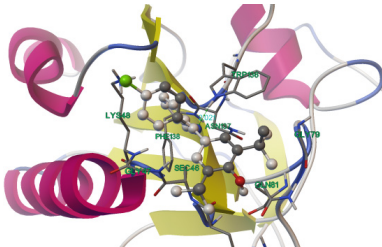
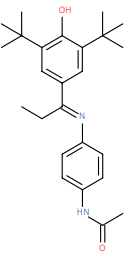
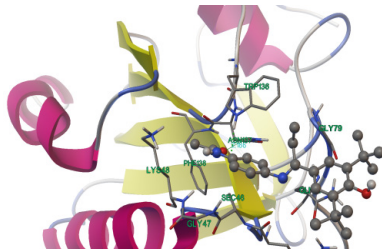
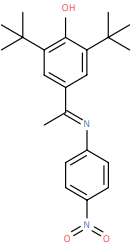
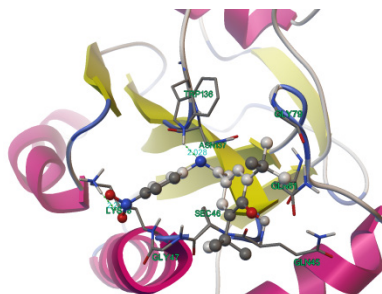
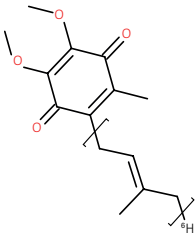
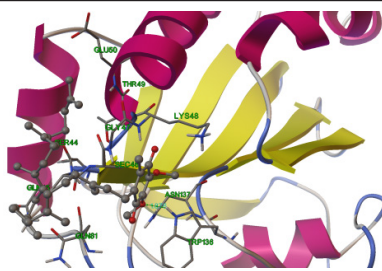
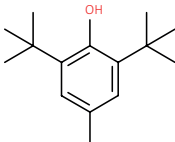
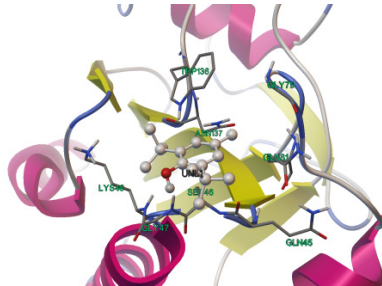
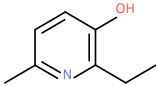
Шифр соединения	Структурная формула соединения	Вид биологической активности								
		Ингибитор убихин. цитохром-с	Мукомебранный протектор	Ингибитор аспульвинондим.	Лечение сердечной недостаточности	Агонист целостности мембраны	Ингибитор глутатионилест.	Ингибитор декарбокс. дегидрог.	Ингибитор NADP+	CYP2J субстрат
<b>3a</b>		72	71	65	65	–	55	–	57	–
<b>3b</b>		84	78	79	95	–	64	60	67	71

Шифр соединения	Структурная формула соединения	Вид биологической активности								
		Ингибитор убихин-цитохром-с	Мукомебранный протектор	Ингибитор аспульвинондим.	Лечение сердечной недостаточности	Агонист целостности мембраны	Ингибитор глутатионилест.	Ингибитор декарбок. дегидрог.	Ингибитор NADP+	CYP2J субстрат
3c		73	63	-	59	73	-	-	-	-
3d		71	85	68	69	86	57	58	63	65
3e		83	77	81	78	-	71	73	77	73
3f		73	66	-	69	71	-	-	-	-
3g		75	65	-	89	-	-	-	-	-
3h		89	76	65	56	-	-	-	-	-

Примечание: вероятность проявления биологической активности характеризует значение Pa в %.

**Таблица 3 – Значения энергий образования лиганд-ферментного комплекса лигандов с глутатионпероксидазой-4**

Шифр соединения	Энергия докинга, ккал/моль	Химическая формула лиганда	Расположение лиганда
3a	-6,02		
3b	-5,51		
3c	-4,49		
3d	-4,54		
3e	-4,67		

Шифр соединения	Энергия докинга, ккал/моль	Химическая формула лиганда	Расположение лиганда
3f	-6.10		
3g	-4.53		
3h	-6.60		
Убихинон	-4.23		
Гидрокси-бутилированный толуол	-5.12		
Мексидол	-4.39		

**Таблица 4 — Антиоксидантная активность соединений 3a-3h и референтных веществ в тест-системе с УФО/Fe<sup>2+</sup>**

Шифр соединения	Концентрация, моль/л	Оптическая плотность		АОА, Q-ed
		$\lambda=450$ нм	$\lambda=532$ нм	
3a	$1,0 \times 10^{-3}$	0,325±0,004	0,125±0,002	55,0 (5,0)
3b	$1,0 \times 10^{-3}$	0,352±0,005	0,168±0,003	48,0 (4,4)
3c	$1,0 \times 10^{-3}$	0,328±0,004	0,152±0,001	52,0 (4,7)
3d	$1,0 \times 10^{-3}$	0,402±0,006	0,278±0,003	32,0 (2,9)
3e	$1,0 \times 10^{-3}$	0,431±0,02	0,369±0,01	20,0 (1,8)
3f	$1,0 \times 10^{-3}$	0,445±0,01	0,375±0,03	18,0 (1,6)
3g	$1,0 \times 10^{-3}$	0,354±0,005	0,196±0,002	45,0 (4,1)
3h	$1,0 \times 10^{-3}$	0,454±0,01	0,396±0,02	15,0 (1,4)
Убихинон	$1,0 \times 10^{-3}$	0,354±0,005	0,196±0,002	45,0 (4,1)
Гидрокси-бутилированный толуол	$1,0 \times 10^{-3}$	0,460±0,003	0,430±0,001	11,0 (1,0)

Примечание: АОА — антиоксидантная активность; УФО — ультрафиолетовое облучение.

**Таблица 5 — Антиоксидантная активность соединений 3a-h и веществ сравнения в тест-системе с Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

Шифр соединения	Концентрация, моль/л	Оптическая плотность		АОА, Q-ed
		$\lambda=450$ нм	$\lambda=532$ нм	
3a	$1,0 \times 10^{-3}$	0,330±0,004	0,160±0,002	51,0 (3,2)
3b	$1,0 \times 10^{-3}$	0,355±0,005	0,185±0,003	45,0 (2,8)
3c	$1,0 \times 10^{-3}$	0,332±0,004	0,168±0,001	50,0 (3,1)
3d	$1,0 \times 10^{-3}$	0,412±0,006	0,298±0,003	29,0 (1,8)
3e	$1,0 \times 10^{-3}$	0,448±0,02	0,382±0,01	17,0 (1,1)
3f	$1,0 \times 10^{-3}$	0,451±0,01	0,389±0,03	16,0 (1,0)
3g	$1,0 \times 10^{-3}$	0,361±0,005	0,219±0,002	42,0 (2,6)
3h	$1,0 \times 10^{-3}$	0,460±0,01	0,430±0,02	12,0 (0,7)
Убихинон	$1,0 \times 10^{-3}$	0,450±0,003	0,390±0,001	16,0 (1,0)
Гидрокси-бутилированный толуол	$1,0 \times 10^{-3}$	0,398±0,005	0,237±0,002	36,5 (2,3)

Примечание: АОА — антиоксидантная активность.

Таким образом, фрагмент 2,6-ди-*трет*-бутилфенола служит эффективным фармакофорным модулем, критически важным для реализации мощного антиоксидантного потенциала молекул. Полученные экспериментальные данные убедительно подтверждают эту роль и хорошо согласуются с известными литературными положениями о механизмах действия стерически затрудненных фенолов.

#### Ограничения исследования

Ограниченность метода характеристики для синтезированных азометинофенолов: для подтверждения конфигурации азометиновой связи (E/Z изомерия) могли бы потребоваться дополнительные методы (например, рентгеноструктурный анализ для кристаллов).

Ограничения *in silico* прогнозирования: молекулярный докинг выполнен только на одну мишень (ГТ-4), хотя биологические эффекты, особенно, антиоксидантный могут опосредоваться через другие рецепторы или механизмы.

Исследование представляет собой предварительный скрининг нового класса соединений с антиоксидантным потенциалом. Компьютерные предсказания о кардиоактивности. Мембраностабилизирующей активности требуют целенаправленной проверки на соответствующих биологических моделях.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оптимизированный метод синтеза позволил получить 8 производных 2,6-ди-*трет*-бутил-4-[С-алкил-(арил)-(N-фенил)-азометино]-фенолов, структура которых подтверждена методами ядерного магнитного резонанса, элементного анализа, ИК-спектроскопии. По данным *in silico* прогноза изучаемые соединения в значительной степени могут обладать кардиотоническими свойствами, стабилизировать клеточные мембраны, повышенная экспрессия фермента CYP2J2 усиливает активацию mitoKATP и, как считается, приносит физиологическую пользу, изменяя выработку активных форм кислорода. В соответствие с

результатами расчетов методом молекулярного докинга, можно предположить, что оптимальная энергия лиганд-рецепторного взаимодействия с ГТ-4 будет сравнима с значениями, проявляемыми убихиноном, гидроксibuтилированным толуолом и мексидолом.

В ходе фармакологического скрининга *in vitro* исследуемые вещества проявили выраженную антиоксидантную активность. Соединениями-лидерами являются **3a**, **3c** и **3h**, превосходящие референтные соединения — убихинон и гидроксibuтилированный толуол.

### ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### ВКЛАД АВТОРОВ

Т.В. Цацулова — сбор и анализ данных, проведение исследования, валидация, написание черновика рукописи; И.П. Кодониди — определение концепции, валидация, анализ данных, пересмотр и редактирования рукописи; А.С. Чиряпкин — анализ данных; Ф.Н. Бидарова — пересмотр и редактирования рукописи; М.Т. Кисиева — сбор данных, валидация; Л.А. Усманова — сбор данных.

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Aboonabia A. The effectiveness of antioxidant therapy in aspirin resistance, diabetes population for prevention of thrombosis // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2016. – Vol. 83. – P. 277–282. DOI: 10.1016/j.biopha.2016.06.044
2. Спасов А.А., Кучерявенко А.Ф., Косолапов В.А., Анисимова В.А. Анти тромботическая активность антиоксидантных соединений // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2013. – Т. 155, № 6. – С. 740–742. EDN: QMVMXGL
3. Kudriashova M. Possibilities of correction of rheological properties of the blood and free radical processes in patients with acute myocardial infarction combined with type 2 diabetes mellitus // *Kardiologiya*. – 2010. – Vol. 5, No. 50. – P. 9–12.
4. Desai N., Shah K.N., Monapara J., Dave B.P., Ahmad I., Patel H. Design, synthesis, biological profile and molecular modeling and MD simulation studies of heterocyclic benzimidazole and thiazolidine-4-one based 5-arylidene analogues as prospective antimicrobial agents // *Journal of Molecular Structure*. – 2024. – Vol. 1299. – P. 137166. DOI: 10.1016/j.molstruc.2023.137166
5. Mohsen A., Tawfik S.S., Bhongade B.A., Massoud M.A.M., Mostafa A.S. Design, synthesis, and *in silico* insights into dual-inhibition of CDK-6 / Aurora A kinase by 2-phenylbenzimidazole-based small molecules // *Journal of Molecular Structure*. – 2023. – Vol. 1300, No. 10229. – P. 137215. DOI: 10.1016/j.molstruc.2023.137215
6. Hayat Sh., Ullah H., Rahim F., Ullah I., Taha M., Iqbal N., Khan F., Khan M.S., Ali Shah S.A., Wadood A., Sajid M., Abdalla A.N. Synthesis, biological evaluation and molecular docking study of benzimidazole derivatives as  $\alpha$ -glucosidase inhibitors and anti-diabetes candidates // *Journal of Molecular Structure*. – 2023. – Vol. 1276. – P. 134774. DOI: 10.33394/hjkk.v13i5.17725
7. Mushtaq I., Ahmad M., Saleem M., Ahmed A. Pharmaceutical significance of Schiff bases: an overview // *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2024. – Vol. 10, No. 16. – P. 7215–7221. DOI: 10.18433/J30G62
8. Kareem H.S., Ariffin A., Nordin N., Heidelberg T., Abdul-Aziz A., Kong K.W., Yehye W.A. Correlation of antioxidant activities with theoretical studies for new hydrazone compounds bearing a 3,4,5-trimethoxy benzyl moiety // *European Journal Medicinal Chemistry*. – 2015. – Vol. 103. – P. 497–505. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.09.016
9. Yang L., Liu H., Xia D., Wang S. Antioxidant properties of camphene-based thiosemicarbazones: experimental and theoretical evaluation // *Molecules*. – 2020. – Vol. 25, No. 5. – P. 1192. DOI: 10.3390/molecules25051192
10. Shatokhin S.S., Tuskaev V.A., Gagieva S.Ch., Markova A.A., Pozdnyakov D.I., Melnikova E.K., Bulychev B.M., Oganessian E.T. Synthesis, cytotoxic and antioxidant activities of new n-substituted 3-(benzimidazol-2-yl)-chromones containing 2,6-di-tert-butylphenol fragment // *Journal of Molecular Structure*. – 2022. – Vol. 1249. – P. 131683. DOI: 10.1016/j.molstruc.2021.131683
11. Shahab S., Sheikhi M., Filippovich L., Dikusar E., Pazniak A., Rouhani M., Kumar R. Molecular investigations of the newly synthesized azomethines as antioxidants: theoretical and experimental studies // *Curr Mol Med*. – 2019. – Vol. 19, No. 6. – P. 419–433. DOI: 10.2174/1570178617666200319121649
12. Plotnikov M.B., Smolyakova V.I., Ivanov I.S., Kuchin A.V., Chukicheva I.J., Krasnov E.A. Antithrombotic and antiplatelet activity of ortho-isobornyl phenol derivative // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2008. – Vol. 145, No. 3. – P. 328–302. DOI: 10.1007/s10517-008-0082-x
13. Poroikov V.V., Filimonov D.A., Glorizova T.A., Lagunin A.A., Druzhilovskiy D.S., Rudik A.V., Stolbov L.A., Dmitriev A.V., Tarasova O.A., Ivanov S.M., Pogodin P.V. Computer-aided prediction of biological activity spectra for organic compounds: the possibilities and limitations // *Russian Chemical Bulletin*. – 2019. – Vol. 68, No. 12. – P. 2143–2154. DOI: 10.18097/BMCRM00004
14. Berman H.M., Burley S.K. Protein Data Bank (PDB): Fifty-three years young and having a transformative impact on

- science and society // Quarterly Reviews of Biophysics. – 2025. – Vol. 58. – P. E9. DOI: 10.1017/S0033583525000034
15. Morris G.M., Huey R., Lindstrom W., Sanner M.F., Belew R.K., Goodsell D.S., Olson A.J. Autodock4 and AutodockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*. 2009. – Vol. 30, No. 16. – P. 2785–2791. DOI: 10.1002/jcc.21256
  16. Ravi L., Krishnan K. Handbook on protein-ligand Docking tool: AutoDock4 // *Journal of Medical Science*. – 2016. – Vol. 4. – P. 28–33. DOI: 10.22037/jmlis.v1i1.31726
  17. Teppen B.J. Hyperchem, release 2: molecular modeling for the personal computer // *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*. – 1992. – Vol. 32. – P. 757–759. DOI: 10.1021/ci00010a025
  18. Moosmayer D., Hilpmann A., Hoffmann J., Schnirch L., Zimmermann K., Badock V., Furst L., Eaton J.K., Viswanathan V.S., Schreiber S.L., Gradl S., Hillig R.C. Crystal structures of the selenoprotein glutathione peroxidase 4 in its apo form and in complex with the covalently bound inhibitor ML162 // *Biological Crystallography*. – 2021. – Vol. 77, No. 2. – P. 237–248. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.3c00967
  19. Monova T., Konstantinov O., Kalenderova S., Tsakovski S., Kossekova G. Design and implementation of virtual models in medical biochemistry learning // *Journal AIP Conference Proceedings*. – 2018. – Vol. 2048. – P. 20033. DOI: 10.1063/1.5082051
  20. Procko K., Bakheet S., Beckham J.T., Franzen M.A., Jakubowski H., Novak W.R.P. Modeling an enzyme active site using molecular visualization freeware // *Journal Vis. Exp.* – 2021. – Vol. 178. DOI: 10.53964/jmbdd.2025005
  21. Хубаева Т.О., Хубаева И.В. Исследования антимикробной активности в области производных бензимидазола с фрагментом пространственно-затрудненного фенола // *Актуальные инновационные исследования: наука и практика*. – 2013. – № 4. – С. 7. EDN: RSTTBF
  22. Wang X., Ni L., Yang L., Duan Q., Chen C., Edin M.L., Zeldin D.C., Wang D.W. CYP2J2-derived epoxyeicosatrienoic acids suppress endoplasmic reticulum stress in heart failure // *Mol Pharmacol.* – 2014. – Vol. 85, No. 1. – P. 105–115. DOI: 10.1124/mol.113.087122
  23. Grigoriev S.M., Skarga Y.Y., Mironova G.D., Marinov B.S. Regulation of mitochondrial KATP channel by redox agents // *Biochim Biophys Acta.* – 1999. – Vol. 1410, No. 1. – P. 91–96. DOI: 10.1016/S0005-2728(98)00179-0
  24. Wang H., Wang C., Li B., Zheng C., Liu G., Liu Z., Zhang L., Xu P. Discovery of ML210-Based glutathione peroxidase 4 (GPX4) degrader inducing ferroptosis of human cancer cells // *Eur J Med Chem.* – 2023. – Vol. 254. – P. 115343. DOI: 10.1016/j.ejmech.2023.115343
  25. Воронина Т.А., Литвинова С.А., Гладышева Н.А., Шульдин А.В. Известные и новые представления о механизме действия и спектре эффектов Мексидола // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. – 2025. – Т. 125, № 5. – С. 22–33. DOI: 10.17116/jnevro202512505122
  - Shatokhin S.S., Tuskaev V.A., Gagieva S.Ch., Markova A.A., Pozdnyakov D.I., Denisov G.L., Melnikova E.K., Bulychev B.M., Oganesyana E.T. Synthesis, cytotoxicity and antioxidant activity of new 1,3-dimethyl-8-(chromon-3-yl)-xanthine derivatives containing 2,6-*di-tret*-butylphenol fragments // *New Journal of Chemistry*. – 2022. – Vol. 46, No. 2. – P. 621–631. DOI: 10.1039/D1NJ03726A
  26. Pozdnyakov D.I. Administration of 4-Hydroxy-3,5-*di-tret*-butyl cinnamic acid restores mitochondrial function in rabbits with cerebral ischemia // *Serbian Journal of Experimental and Clinical Research*. – 2021. – Vol. 23, No. 2. – P. 121–125. DOI: 10.2478/sjocr-2019-0075
  27. Поздняков Д.И., Зацепина Е.Е., Арлыт А.В. Влияние соединений, содержащих 4-гидрокси-3,5-*ди-трет*-бутилфенильную группировку, на активность митохондриальных ферментов и содержание таубелка в гиппокампе крыс на экспериментальной модели болезни Альцгеймера // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. – 2022. – Т. 85, № 6. – С. 9–13. DOI: 10.30906/0869-2092-2022-85-6-9-13

#### АВТОРЫ

**Цакулова Тамара Владимировна** – старший преподаватель кафедры фармации ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России; соискатель кафедры фармацевтической химии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0009-0004-9358-6772. E-mail: tsakulova7@mail.ru

**Кодониди Иван Панайотович** – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической химии, ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-1333-3472. E-mail: kodonidiip@mail.ru

**Чиряпкин Алексей Сергеевич** – кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры фармацевтической химии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава

России. ORCID ID: 0000-0001-8207-2953. E-mail: alexey.chiriapkin@yandex.ru

**Бидарова Фатима Николаевна** – кандидат фармацевтических наук, доцент, заведующий кафедрой фармации ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-6346-9872. E-mail: pharm-sogma@mail.ru

**Кисиева Манана Тенгизовна** – кандидат фармацевтических наук, доцент, доцент кафедры фармации, ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-0960-0980. E-mail: mananakisieva@mail.ru

**Усманова Луиза Ахмедовна** – студентка 4 курса фармацевтического факультета, ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России. ORCID ID: 0009-0004-2266-6353. E-mail: 0221262@mail.ru