

ПРОИЗВОДНЫЕ 3-ФОРМИЛХРОМОНА КАК МОДУЛЯТОРЫ АКТИВНОСТИ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА III

В. М. Руковицина, Д. И. Поздняков, А. С. Чиряпкин, Э. Т. Оганесян

*Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал
ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»*

Поступила в редакцию 10.09.2020 г.

Аннотация. Проведено исследование, посвященное изучению модулирующих свойств производных 3-формилхромона в отношении активности митохондриального комплекса III в условиях ишемии головного мозга у крыс. *In silico* исследование проводилось с использованием виртуальной модели цитохром с оксидоредуктазы организма *Bos taurus* с идентификационным кодом 1NTZ из базы данных RCSB PDB. Пространственные структуры всех веществ, участвующих в исследовании, были построены в программе NupurChem 6.09. В этой же программе проведена оптимизация геометрии соединений методом молекулярной механики MM+. Молекулярный докинг проводился с помощью программы Molegro Virtual Docker 6.0.1. *In vivo* активность комплекса III оценивали у крыс в условиях ишемии головного мозга и у животных без сопутствующего патологического фона. Перманентную церебральную ишемию моделировали у крыс линии Wistar путем необратимой правосторонней окклюзии средней мозговой артерии. Исследуемые соединения вводили через 30 мин. после воспроизведения ишемии и однократно в сутки на протяжении четырех дней в дозе 20 мг/кг, *per os*. Активность комплекса III оценивали в супернатанте головного мозга спектрофотометрическим методом. Дополнительно оценивали влияние исследуемых веществ на изменение концентрации супероксид-радикала, содержание которого определяли в реакции восстановления нитро-синего тетразолия. В результате было установлено, что применение исследуемых веществ увеличивало активность комплекса III у крыс с ишемией головного мозга (при применении соединения X3Aphen2OH4OCH₃ – на 59.8% ($p < 0.05$), X3Aphen2OH3I5CH₃ – 50.1% ($p < 0.05$); X3Aphen2OH-35.4% ($p < 0.05$); X3Aphen2OH5F – 23.2% ($p < 0.05$) и X3Aphen2OH5CH₃ – 43.9% ($p < 0.05$), все показатели приведены в сравнении с группой животных, которым коррекция ишемии не проводилась) и не оказывало значимого влияния на изменение данного показателя у животных без патологии. Кроме того, на фоне введения изучаемых объектов отмечено уменьшение концентрации супероксид-радикала по сравнению с животными, лишенными фармакологической поддержки (X3Aphen2OH4OCH₃ – на 42.9% ($p < 0.05$), X3Aphen2OH3I5CH₃ – на 28.6% ($p < 0.05$), X3Aphen2OH – 20.0% ($p < 0.05$), X3Aphen2OH5F – 35.7% ($p < 0.05$) и X3Aphen2OH5CH₃ – 39.3% ($p < 0.05$)).

Ключевые слова: ишемия головного мозга, производные 3-формилхромона, убихинол цитохром с оксидоредуктаза, молекулярное моделирование, молекулярный докинг.

Митохондриальная дисфункция представляет собой нарушение функциональной активности митохондрий клетки и является неотъемлемой частью «ишемического каскада» повреждения головного мозга [1]. На сегодняшний день установлено, что большинство митохондриальных нарушений опосредуется аномальным ходом реакций электронного транспорта по митохондриальной дыхательной цепи. Известно, что электронтранспортная цепь состоит из пяти основных

субкомплексов, четыре из которых (I-IV) создают протонный градиент, а пятый комплекс (F_1F_0 АТФ-синтаза) непосредственно фосфорилирует АДФ до АТФ. Как правило, нарушение оптимального функционального митохондриальной дыхательной цепи связано с дисфункцией комплексов I и III, причем ряд экспериментальных работ указывает на то, что подавление активности комплекса III является превалирующим фактором митохондриальных нарушений [2].

Убихинол цитохром с оксидоредуктаза (цитохром bc_1 , комплекс III) является центральным компонентом цепи переноса электронов, участву-

ющий в процессе синтеза АТФ. У эукариот комплекс III существует в виде димера, встроенного во внутреннюю мембрану митохондрий. Функция комплекса III заключается в переносе электронов к диффузно растворенному цитохрому *c* через окисление мембранно-локализованного хинола. Данная окислительно-восстановительная реакция сочетается с транслокацией протонов через липидный бислой [3]. В зависимости от вида митохондрии комплекс III содержит до одиннадцати субъединиц, из которых восемь существенно не влияют на ферментативную активность. Согласно описанному на настоящий момент механизму Q-цикла, молекулы QH₂ (восстановленный убихинон) диффундируя из Q-пула в Q_o-сайт комплекса III окисляются окисленным железосерным кластером [2Fe-2S]. В результате один электрон поступает через подвижный головной домен к окисленному цитохрому *c*₁. Далее электрон транспортируется по электронтранспортной цепи к терминальной оксидазе. В результате описанных реакций образуется крайне нестабильный семихинонный радикал, являющийся донатором электрона для гема цитохрома *b*. В завершении каталитического цикла комплекса III QH₂ повторно окисляется с образованием восстановленной формы комплекса [4]. Учитывая, что каталитическая активность убихинола цитохром *c* оксидоредуктазы непосредственно связана с образованием свободных радикалов, именно с генерацией активных форм кислорода (АФК) связывают дисфункцию данного комплекса. Как было установлено Bleier & Dröse, 2013 комплекс III дыхательной цепи митохондрий является ведущим продуцентом АФК, представленных, как правило, супероксид-радикалом [5], который активизирует процессы перекисного окисления липидов, индуцируя окислительный стресс. Таким образом, на основании имеющихся литературных данных, можно предположить, что целенаправленное фармакотерапевтическое воздействие на активность убихинола цитохром *c* оксидоредуктазы позволит уменьшить степень негативного воздействия АФК на клетки. При этом, как указывает Rafikova, et al., 2018 модуляция каталитических свойств комплекса III является более предпочтительным подходом [6].

В ранее проведенных исследованиях было установлено, что некоторые производные 3-формилхромола оказывают положительное влияние на изменение функциональной активности митохондрий головного мозга при его ишемическом поражении [7] на основании чего данная группа

соединений была включена в структуру данного исследования.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объектами прогнозирования биологической активности выступают ли производные 3-формилхромола с лабораторными шифрами X3Aphen2OH4OCH₃ (3-[3-(2-гидрокси-4-метокси-фенил)-3-оксо-пропенил]-хромен-4-он), X3Aphen2OH3I5CH₃ (3-[3-(2-гидрокси-3-йодо-5-метил-фенил)-3-оксо-пропенил]-хромен-4-он), X3Aphen2OH (3-[3-(2-гидрокси-фенил)-3-оксо-пропенил]-хромен-4-он), X3Aphen2OH5F (3-[3-(5-фторо-2-гидрокси-фенил)-3-оксо-пропенил]-хромен-4-он), X3Aphen2OH5CH₃ (3-[3-(2-гидрокси-5-метил-фенил)-3-оксо-пропенил]-хромен-4-он). Синтез данных соединений был осуществлен на кафедре органической химии ПМФИ филиала ВолгГМУ.

В качестве биологической мишени для молекулярного моделирования методом молекулярного докинга [8] выступает трехмерная структура митохондриального комплекса цитохрома *bc*₁ с молекулой убихинона организма *Bos taurus* [9] с шифром 1NTZ, которая была представлена в базе данных RCSB Protein Data Bank (rcsb.org) [10]. Трехмерные структуры моделируемых соединений были построены в программе HyperChem 6.0.9. В этой же программе проведена оптимизация геометрии методом молекулярной механики MM+ [11]. Молекулярный докинг осуществлялся в программе Molegro Virtual Docker 6.0.1. [12]. Областью проведения молекулярного докинга выступает сфера с радиусом 12 Å с координатами: $x = 72.40$ $y = 54.34$ $z = 165.12$. В качестве функции подсчета общей энергии образования устойчивого комплекса лиганд-рецептор, которая является суммой лиганд-рецепторного и внутрилигандного взаимодействия, была использована функция MolDock Score [GRID] с разрешением grid 0.30 Å. В итоге было получено 50 вариантов образования стабильного молекулярного лиганд-рецепторного комплекса для каждого исследуемого соединения.

Фармакологическая часть работы выполнена на 72 крысах-самцах линии Wistar, полученных из питомника лабораторных животных «Рапполово» и прошедших двухнедельный карантин. На время эксперимента крысы содержались в стандартных условиях вивария ПМФИ-филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ при температуре воздуха 20±0С, относительной влажности 60±5% и естественной смене суточного цикла.

42 животным моделировали ишемию головного мозга по методу *Tamura*, основанном на односторонней правосторонней термокоагуляции средней мозговой артерии [13]. При этом были сформированы следующие экспериментальные группы животных: ЛО – ложноперированные крысы; НК – группа животных негативного контроля (фармакологическая коррекция данной группе крыс не проводилась, вводили воду очищенную в эквивалентном объеме); группы крыс, получавших исследуемые производные 3-формилхромона под шифрами X3Aphen2OH4OCH₃, X3Aphen2OH3I5CH₃, X3Aphen2OH, X3Aphen2OH5F, X3Aphen2OH5CH₃ в дозе 20 мг/кг (*per os*) каждое соединение (n=6). Изучаемые вещества вводили через 30 мин. после воспроизведения церебральной ишемии и далее однократно в сутки на протяжении трех дней. На четвертый день исследования крыс декапитировали, извлекали головной мозг, который гомогенизировали в среде ЭГТА (1 ммоль/л), маннит (215 ммоль/л), сахараза (75 ммоль/л), БСА (0.1% от общего объема), NERES (20 ммоль/л). Полученный гомогенат центрифугировали при 500g 5 минут. Далее полученный супернатант повторно центрифугировали при 14000g 10 минут. Во вторичном супернатанте оценивали изменение активности митохондриального комплекса III [14].

Оставшимся 30 животным (n=6 каждая экспериментальная группа) вводили изучаемые производные 3-формилхромона на протяжении 10 дней (20 мг/кг, интрагастрально), после чего крыс также декапитировали и оценивали изменение активности комплекса III. Подготовка биоматериала соответствовала описанной выше.

Активность убихинол цитохром *c* оксидоредуктазы оценивали спектрофотометрически при 550 нм по методу, предложенному *Spinazzi, et al., 2012*. Данный метод основан на детекции изменения светопоглощения раствора цитохрома *c*. Активность комплекса III выражали в IU/г белка. Концентрацию белка определяли по методу Бредфорда [15]. Содержание супероксид-радикала оценивали по изменению оптической плотности хлороформного экстракта формазана в реакции восстановления нитросинего тетразолия, как описано *Bournonville & Diaz-Ricci, 2011* [16].

Полученные данные обрабатывали статистическими методами. Результаты выражали в виде M±SEM (стандартная ошибка среднего). Сравнение групп осуществляли методом ANOVA с пост-тестом Ньюмена-Кейсла при p<0.05 (программный пакет STATISTICA 6.0).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В ходе осуществленного вычислительного эксперимента были определены наиболее энергетически выгодные расположения моделируемых соединений в сайте связывания убихинона цитохром с оксидоредуктазы. Наибольшим родством к изучаемой биологической мишени обладает коэнзим Q, который, как известно, является физиологическим агонистом митохондриального комплекса. В ряду исследуемых веществ более выраженным родством к моделируемой мишени обладает X3Aphen2OH4OCH₃.

Далее осуществлен анализ полученных моделируемых комплексов на предмет изучения силы связывания соединений с аминокислотным окружением сайта связывания убихинона митохондриального комплекса цитохрома bc₁. При этом в случае убихинона (коэнзима Q10) для изучения с какими аминокислотами он образует связи, мы брали его расположение согласно рентгеноструктурному анализу трехмерной структуры комплекса INTZ. Согласно данным рентгеноструктурного анализа молекула убихинона связывается со следующим аминокислотами митохондриального цитохрома bc₁: Leu 121, Met 124, Phe 128, Tyr 131, Trp 141, Gly 142, Ala 143, Val 145, Ile 146, Leu 149, Ile 268, Lys 269, Pro 270, Glu 271, Phe 274, Ala 277, Tyr 278, Leu 281, Leu 294, Ala 295, Ile 298 (табл. 1). Наиболее выраженное взаимодействие у физиологического агониста наблюдается с аминокислотами Ile 146, Pro 270 и Phe 274. С Leu 121. С аминокислотами Leu 121, Tyr 131, Ala 143, Leu 149, Ile 268, Glu 271 и с Ala 277 сила взаимодействия не превышает 1 ккал/моль. Это говорит о том, что данные аминокислоты сайта связывания митохондриального комплекса цитохрома bc₁ не играют значительной роли в его активации. По результатам молекулярного докинга последние перечисленные аминокислоты также не образовывали выраженные связи с исследуемыми соединениями. При этом с аминокислотами Ile 146, Pro 270 и Phe 274. С Leu 121 все моделируемые соединения, как и молекула убихинона, образует наиболее сильные связи, что говорит о структурной схожести синтезированных соединений и препаратов сравнений к физиологическому агонисту цитохром с-редуктазы. Стоит отметить, что у новых производных 3-формилхромона сила взаимодействия к аминокислоте Phe 274 превосходит более чем на 11.5 ккал/моль. Самая выраженная связь с этой аминокислотой у X3Aphen2OH4OCH₃ -39.6839 ккал/моль. Результаты проведенного вычисли-

тельного эксперимента позволяют предположить высокое сродство производных 3-формилхромона к сайту связывания убихинона цитохром с-редуктазы, что должно обуславливать их агностические свойства к данному митохондриальному комплексу.



Рис. 1. Трехмерная структура митохондриального комплекса цитохрома bc1 с обозначением области осуществления молекулярного докинга

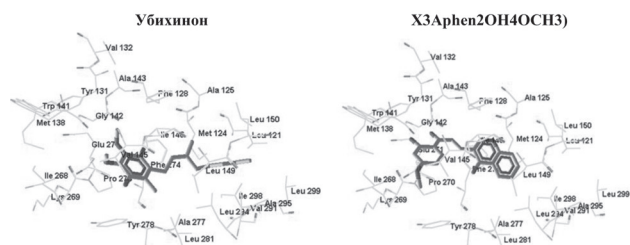


Рис. 2. Расположение убихинона согласно данным рентгеноструктурного анализа и X3Aphen2OH4OCH3 по результатам молекулярного докинга

Таблица 1

Минимальное значение энергии взаимодействия исследуемых соединений с сайтом связывания убихинона цитохром с оксидоредуктазы

Лиганд	Минимальная энергия лиганд-рецепторного взаимодействия, ккал/моль
X3Aphen2OH4OCH3	-117.387
X3Aphen2OH3I5CH3	-113.727
X3Aphen2OH	-108.136
X3Aphen2OH5F	-116.738
X3Aphen2OH5CH3	-115.113
Убихинон	-131.616

Далее в ходе оценки изменения активности комплекса III митохондриальной дыхательной цепи у крыс с воспроизведенной церебральной ишемией (рис.3) было установлено, что у НК группы животных активность убихинол цитохром с оксидоредуктазы уменьшилась по отношению к ЛО группе в 3.0 раза ($p < 0.05$). В тоже время у крыс, которым вводили исследуемые производные 3-формилхромона отмечено повышение каталитических свойств комплекса III, при этом у

животных, получавших соединение под шифром X3Aphen2OH4OCH3, данный показатель увеличился на 59.8% ($p < 0.05$), X3Aphen2OH3I5CH3 – 50.1% ($p < 0.05$); X3Aphen2OH – 35.4% ($p < 0.05$); X3Aphen2OH5F – 23.2% ($p < 0.05$) и X3Aphen2OH5CH3 – 43.9% ($p < 0.05$). В тоже время активность убихинол цитохром с оксидоредуктазы у животных на фоне введения изучаемого вещества X3Aphen2OH4OCH3 была выше таковой у животных, которым вводили соединения X3Aphen2OH3I5CH3 и X3Aphen2OH на 18.0% ($p < 0.05$) и 29.7% ($p < 0.05$) соответственно (рис.3).

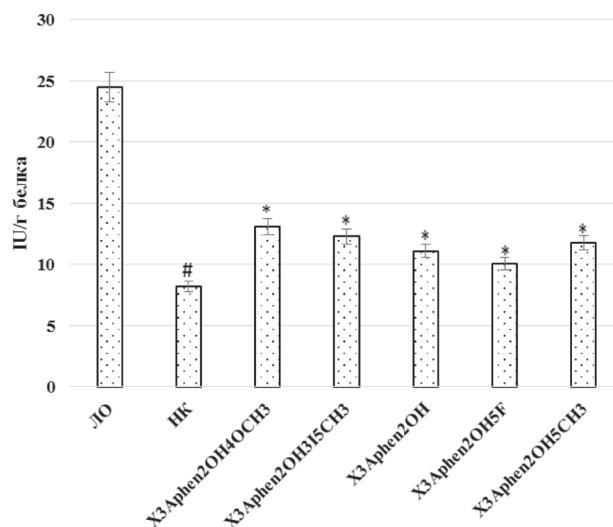


Рис. 3. Изменение активности комплекса III на фоне коррекции экспериментальной ишемии головного мозга исследуемыми производными 3-формилхромона. Примечание: # - статистически значимо относительно ЛО животных, * - статистически значимо относительно НК группы крыс.

Оценивая изменение концентрации супероксид-радикала у ишемизированных животных было отмечено, что у группы крыс, лишенных фармакологической поддержки, наблюдалось повышение содержания супероксид-радикала в супернатанте головного мозга в 7.0 раз ($p < 0.05$) по сравнению с ЛО животными. Введение изучаемых соединений – производных 3-формилхромона X3Aphen2OH4OCH3, X3Aphen2OH3I5CH3, X3Aphen2OH, X3Aphen2OH5F и X3Aphen2OH5CH3 способствовало снижению концентрации супероксид-радикала относительно НК группы крыс на 42.9% ($p < 0.05$); 28.6% ($p < 0.05$); 20.0% ($p < 0.05$); 35.7% ($p < 0.05$) и 39.3% ($p < 0.05$) соответственно (рис.4). В тоже время у крыс, получавших изучаемое вещество под шифром X3Aphen2OH4OCH3,

Энергии взаимодействия исследуемых соединений с аминокислотами, а сайта связывания убихинона митохондриального комплекса цитохрома *bc1* в ккал/моль

Аминокислоты	Убихинон*	X3Aphen2OH4OCH3	X3Aphen2OH3I5CH3	X3Aphen2OH	X3Aphen2OH5F	X3Aphen2OH5CH3
<i>Leu 121</i>	-0.7849	-	-	-	-	-
Met 124	-3.3627	-2.6177	-2.6177	-1.5225	-1.4486	-1.87
<i>Phe 128</i>	-4.4309	-16.0607	-16.0607	-10.9684	-12.0957	-12.6091
<i>Tyr 131</i>	-0.3476	-9.3733	-9.3733	-3.5402	-4.726	-4.5191
<i>Trp 141</i>	-1.0671	-0.9712	-0.9712	-4.4188	-4.1061	-3.9146
<i>Gly 142</i>	-5.8731	-5.0207	-5.0207	-7.8502	-8.6996	-8.9730
<i>Ala 143</i>	-0.5979	-3.4809	-3.4809	-1.2093	-1.1887	-1.1337
<i>Val 145</i>	-5.2626	-	-	-5.6385	-3.8586	-2.9376
<i>He 146</i>	-14.5084	-14.5020	-14.502	-17.588	-18.6037	-18.8031
<i>Leu 149</i>	-0.8219	-	-	-	-3.5741	-
<i>He 268</i>	-0.8933	-	-	-5.399	-5.4998	-5.4124
<i>Lys 269</i>	-5.1170	-2.4318	-2.4318	-4.1049	-3.7681	-2.9135
<i>Pro 270</i>	-17.2343	-15.6484	-15.6484	-24.2385	-26.0046	-25.8881
<i>Glu 271</i>	-0.8554	-1.9268	-1.9268	-2.7524	-3.5856	-3.2941
<i>Phe 274</i>	-18.5953	-39.6839	-39.6745	-30.4749	-30.5015	-30.0991
<i>Ala 277</i>	-0.9902	-	-	-2.132	-1.9259	-1.4443
<i>Tyr 278</i>	-9.9442	-6.2256	-6.2256	-3.012	-4.2712	-4.3899
<i>Leu 281</i>	-1.0424	-	-	-	-	-
<i>Leu 294</i>	-8.1647	-6.3609	-6.3609	-3.8243	-	-3.5463
<i>Ala 295</i>	-4.5154	-	-	-	-	-
<i>He 298</i>	-1.4080	-0.7383	-0.7383	-	-	-
сумма	-105.8173	-125.0422	-125.0328	-128.6739	-133.8578	-131.7479

содержание супероксид-радикала было ниже аналогичного у животных, которым вводили соединения X3Aphen2OH3I5CH3, X3Aphen2OH, на 20.0% ($p < 0.05$) и 28.5% ($p < 0.05$) соответственно (рис.4).

Стоит отметить, что у животных без патологического фона введение исследуемых объектов значимого влияния на изменение активности комплекса III не оказало (рис.5).

Несмотря на достигнутые успехи в диагностике, лечении и профилактике ишемических поражений головного мозга, данные состояния, в частности ишемический инсульт, по-прежнему остаются одной из ведущих причин смертности и инвалидизации трудоспособного населения, что, в свою очередь, требует разработки новых стратегий терапии [17]. Недавние экспериментальные исследования показывают, что одним из новых векторов комплексного лечения ишемического инсульта является применение церебропротек-

торных средств [18], воздействующих на изменение митохондриальной функции. Кроме того, многими авторами выдвигается предположение, что целенаправленное воздействие на активность убихинол цитохром с оксидоредуктазы (митохондриального комплекса III) может способствовать восстановлению оптимального хода митохондриальных реакций [19], в частности окислительно-восстановительных, которые в большинстве случаев сопровождаются генерацией АФК, что может предотвратить активацию липопероксидативных процессов [20]. Так в ходе данного исследования было установлено, что применение производных 3-формилхрона увеличивало активность комплекса III и снижало содержание супероксид-радикала в супернатанте головного мозга у крыс с экспериментальной церебральной ишемией. В тоже время у животных без патологического фона курсовое введение изучаемых объектов значимого влияния на активность убихинол цитохром с оксидо-

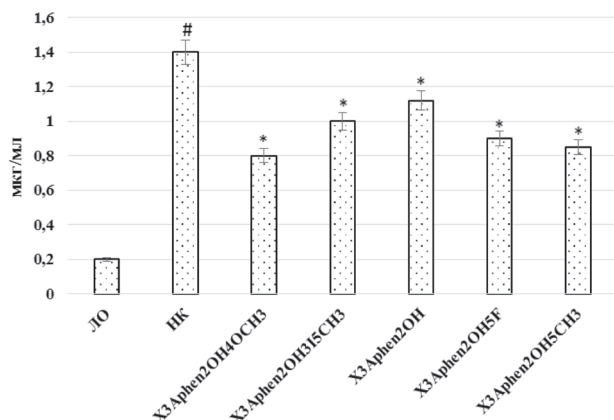


Рис. 4. Изменение концентрации супероксид-радикала в супернатанте головного мозга животных на фоне коррекции экспериментальной церебральной ишемии исследуемыми производными 3-формилхромона. Примечание: # - статистически значимо относительно ЛО животных, * - статистически значимо относительно НК группы крыс.

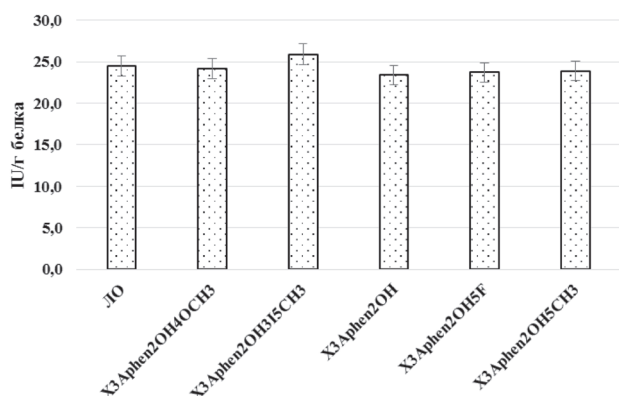


Рис.5. Влияние исследуемых производных 3-формилхромона на изменение активности убихинол цитохром с оксидоредуктазы у крыс без патологического фона.

редуктазы не оказало, на основании чего можно предполагать наличие модулирующей активности у дериватов 3-формилхромона в отношении митохондриального комплекса III.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе данного исследования было установлено, что производные 3-формилхромона оказывают модулирующее действие в отношении убихинол цитохром с оксидоредуктазы, что выразилось в повышении активности данного ферментативного комплекса у животных ишемией головного мозга и стабильными показателями активности фермента у крыс без патологического фона и получавших изучаемые соединения. При этом, увеличение каталитических свойств

комплекса III у ишемизированных животных способствовало уменьшению концентрации супероксид-радикала в супернатанте головного мозга.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Anastacio J.B.R, Sanches E.F., Nicola F., Odorcyk F., Fabres R.B., Netto C.A. // *Int J Dev Neurosci*. 2019. Vol.79, pp.86-95.
- Fiorillo M., Lamb R., Tanowitz H.B. // *Oncotarget*. 2016. Vol.7. No 23, pp. 34084-34099.
- Kim H.J. Khalimonchuk O., Smith P.M., Winge D.R. // *Biochim Biophys Acta*. 2012. Vol. 1823. No 9, pp. 1604-1616
- Lanciano P., Khalfaoui-Hassani B., Selamoglu N., Ghelli A., Rugolo M., Daldal F. *Biochim Biophys Acta*. 2013. Vol.1827. No 11-12, pp. 1332-1339.
- Bleier L., Dröse S. // *Biochim Biophys Acta*. 2013. Vol.1827. No.11-12, pp. 1320-1331.
- Rafikova O., Srivastava A., Desai A.A., Rafikov R., Tofovic S.P. // *Respir Res*. 2018. Vol.19. No 1, pp. 69-73.
- Pozdnyakov D., Voronkov A., Rukovitsyna V. // *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2020. Vol. 23. No 9, pp. 1172-1183.
- Руковицина В.М., Оганесян Э.Т., Глушко А.А., Воронков А.В., Поздняков Д.И., Чиряпкин А.С., Олохова Е.А. // *Вестник новых медицинских технологий*. 2019. №3. С. 99–102.
- Gao X., Wen X., Esser L., Quinn B., Yu L., Yu C.-A., Xia D. // *Biochemistry*. 2003. Vo.42, pp. 9067-9080.
- Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H., Shindyalov I.N., Bourne P.E. // *Nucleic Acids Res*. 2000. Vol. 28. No. 1, pp. 235-42.
- Brian J. // *J. Chem. Inf. Comput. Sci*. 1992. Vol. 32, pp. 757 – 759.
- Thomsen R., Christensen M.H. // *Journal of Medicinal Chemistry*. 2006. Vol. 49, pp. 3315-3321.
- Tamura A., Graham D.I., McCulloch J., Teasdale G.M. // *J Cereb Blood Flow Metab*. 1981. Vol. 1. No 1, pp. 53–60
- Chinopoulos C., Zhang S.F., Thomas B., Ten V., Starkov A.A. // *Methods Mol Biol*. 2011. Vol.793, pp. 311-324.
- Spinazzi M., Casarin A., Pertegato V., Salvati L., Angelini C. // *Nat Protoc*. 2012. Vol. 7, pp. 1235–46.
- Bournonville C.F., Díaz-Ricci J.C. // *Phytochem Anal*. 2011. Vol.22. No 3, pp. 268-271

17. Randolph S.A. // *Workplace Health Saf.* 2016. Vol.64. No9, pp. 444-454.
18. MacDougall G., Anderton R.S., Mastaglia F.L., Knuckey N.W., Meloni B.P. // *Neurobiol Dis.* 2019. Vol.121, pp.17-33.
19. Guzy R.D., Hoyos B., Robin E., Chen H., Liu L, Mansfield K.D., Simon M.C., Hammerling U., Schumacker P.T. // *Cell Metab.* 2005. Vol.1. No6, pp.401-408.
20. Yang J.L., Mukda S., Chen S.D. // *Redox Biol.* 2018. Vol. 16, pp. 263-275.

Пятигорский медико-фармацевтический институт

Руковицина В.М., аспирант кафедры органической химии

E-mail: rukovitsina.vika@mail.ru

**Поздняков Д.И., к.ф.н., доцент кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии*

E-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru

Чиряпкин А.С., аспирант кафедры органической химии

E-mail: alexey.chiriapkin@yandex.ru

Оганесян Э.Т., д.ф.н., заведующий кафедрой органической химии

E-mail: edwardov@mail.ru

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute

Rukovitsyna V. M., PhD-student of the Department of organic chemistry

E-mail: rukovitsina.vika@mail.ru

Pozdnyakov D. I. PhD, associate Professor of the Department of pharmacology with the course of clinical pharmacology

E-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru

Chiriapkin A. S., PhD-student of the Department of organic chemistry

E-mail: alexey.chiriapkin@yandex.ru

E. T. Oganesyana, Doctor of science (Pharm), head of the Department of organic chemistry

E-mail: edwardov@mail.ru

3-FORMYLCHROMONE DERIVATIVES AS MODULATORS OF MITOCHONDRIAL COMPLEX III ACTIVITY

V. M. Rukovitsyna, D. I. Pozdnyakov, A. S. Chiriapkin, E. T. Oganesyana

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute

Abstract. A study was conducted to evaluate the modulating properties of 3-formylchromone derivatives in relation to the activity of mitochondrial complex III in the conditions of brain ischemia in rats. *In silico*, study was performed using a virtual model of cytochrome C oxidoreductase of the *Bos taurus* organism with the identification code 1NTZ from the RCSB PDB database. The spatial structures of all the substances involved in the study were constructed in the HyperChem 6.09 program. In the same program, the geometry of compounds was optimized using the MM+molecular mechanics method. Molecular docking was performed using Molegro Virtual Docker 6.0.1. *In vivo*, the activity of complex III was evaluated in rats with brain ischemia and in animals without a concomitant pathological background. Permanent cerebral ischemia was modeled in Wistar rats by irreversible right-sided occlusion of the middle cerebral artery. The studied compounds were administered 30 minutes after ischemia reproduction and once a day for four days at a dose of 20 mg / kg, *per os*. The activity of complex III was evaluated in the brain supernatant by spectrophotometric method. Additionally, the influence of the studied substances on the change in the concentration of the superoxide radical the content of which was determined in the reaction of reduction of nitro-blue tetrazolium was evaluated. As a result, it was found that the use of the studied substances increased the activity of complex III in rats with brain ischemia (in the condition of test-substances administration: X3Aphen2OH4OCH₃ - on 59.8% (p<0.05), X3Aphen2OH3I5CH₃ – 50.1% (p<0.05); X3Aphen2OH -35.4% (p<0.05); X3Aphen2OH5F -23.2%(p<0.05) and X3Aphen2OH5CH₃ – 43.9% (p<0.05), all values represented in comparison with group with deprived pharmacological support) and did not significantly affect the change in this indicator in animals without pathology. In addition, against the background of the administration of the studied objects, a decrease in the concentration of superoxide radi-

cal (relative to animals that deprived pharmacological support (X3Aphen2OH4OCH₃ – on 42.9% (p<0.05), X3Aphen2OH3I5CH₃ – on 28.6% (p<0.05), X3Aphen2OH – 20.0% (p<0.05), X3Aphen2OH5F – 35.7% (p<0.05) and X3Aphen2OH5CH₃ – 39.3% (p<0.05)) was noted.

Keywords: brain ischemia, 3-formylchromone derivatives, ubiquinol cytochrome C oxidoreductase, molecular modeling, molecular docking.

REFERENCES

- Anastacio J.B.R., Sanches E.F., Nicola F., Odorcyk F., Fabres R.B., Netto C.A., *Int J Dev Neurosci.*, 2019, Vol.79, pp.86-95. DOI:10.1016/j.ijdevneu.2019.10.009
- Fiorillo M., Lamb R., Tanowitz H.B., *Oncotarget.*, 2016, Vol.7, No 23, pp. 34084-34099. DOI:10.18632/oncotarget.9122
- Kim H.J., Khalimonchuk O., Smith P.M., Winge D.R., *Biochim Biophys Acta.*, 2012, Vol. 1823, No 9, pp. 1604-1616. DOI:10.1016/j.bbamcr.2012.04.008
- Lanciano P., Khalfaoui-Hassani B., Selamoglu N., Ghelli A., Rugolo M., Daldal F. *Biochim Biophys Acta.*, 2013, Vol.1827, No 11-12, pp. 1332-1339. DOI:10.1016/j.bbabi.2013.03.009
- Bleier L., Dröse S., *Biochim Biophys Acta.*, 2013, Vol.1827, No.11-12, pp. 1320-1331. DOI:10.1016/j.bbabi.2012.12.002
- Rafikova O., Srivastava A., Desai A.A., Rafikov R., Tofovic S.P., *Respir Res.*, 2018, Vol.19, No 1, pp. 69-73. DOI:10.1186/s12931-018-0776-1
- Pozdnyakov D., Voronkov A., Rukovitsyna V., *Iranian Journal of Basic Medical Sciences.*, 2020, Vol. 23, No 9, pp. 1172-1183. DOI: 10.22038/ijbms.2020.46369.10710
- Rukovitsina V. M., Oganessian E. T., Glushko A. A., Voronkov A.V., Pozdnyakov D. I., Chiryapkin A. S., Olokhova E. A., *Bulletin of new medical technologies.*, 2019, No. 3, pp. 99-102.
- Gao X., Wen X., Esser L., Quinn B., Yu L., Yu C.-A., Xia D., *Biochemistry.*, 2003, Vo.42, pp. 9067-9080.
- Berman H.M., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat T.N., Weissig H., Shindyalov I.N., Bourne P.E., *Nucleic Acids Res.*, 2000., Vol. 28, No. 1, pp. 235-42.
- Brian J., *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1992, Vol. 32, pp. 757 – 759.
- Thomsen R., Christensen M.H., *Journal of Medicinal Chemistry.*, 2006, Vol. 49, pp. 3315-3321.
- Tamura A., Graham D.I., McCulloch J., Teasdale G.M., *J Cereb Blood Flow Metab.*, 1981, Vol. 1, No 1, pp. 53–60
- Chinopoulos C., Zhang S.F., Thomas B., Ten V., Starkov A.A., *Methods Mol Biol.*, 2011, Vol.793, pp. 311-324. DOI:10.1007/978-1-61779-328-8_20
- Spinazzi M., Casarin A., Pertegato V., Salviati L., Angelini C., *Nat Protoc.*, 2012, Vol. 7, pp. 1235–46.
- Bourmonville C.F., Diaz-Ricci J.C., *Phytochem Anal.*, 2011. Vol.22. No 3, pp. 268-271. DOI:10.1002/pca.1275
- Randolph S.A., *Workplace Health Saf.*, 2016, Vol.64, No9, pp. 444-454. DOI:10.1177/2165079916665400
- MacDougall G., Anderton R.S., Mastaglia F.L., Knuckey N.W., Meloni B.P., *Neurobiol Dis.* 2019, Vol.121, pp.17-33. DOI: 10.1016/j.nbd.2018.09.010
- Guzy R.D., Hoyos B., Robin E., Chen H., Liu L, Mansfield K.D., Simon M.C., Hammerling U., Schumacker P.T., *Cell Metab.* 2005, Vol.1. No6, pp.401-408. DOI:10.1016/j.cmet.2005.05.001
- Yang J.L., Mukda S., Chen S.D., *Redox Biol.*, 2018, Vol. 16, pp. 263-275. DOI:10.1016/j.redox.2018.03.002