



УДК 547.497+547.854

I. СИНТЕЗ И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ГИДРАЗИНКАРБОТИОАМИДОВ НА ОСНОВЕ 6-МЕТИЛУРАЦИЛА И ГИДРАЗИНОВ

© 2026 г. И. Б. Черникова*,[#], Т. А. Сапожникова*

* Уфимский институт химии УФИЦ РАН, Россия, 450054 Уфа, просп. Октября, 71

Поступила в редакцию 12.09.2025 г.

После доработки 25.09.2025 г.

Принята к публикации 28.09.2025 г.

Синтез гибридных молекул, объединяющих различные фармакофорные фрагменты, представляет собой современное направление в медицинской химии, позволяющее разрабатывать новые лекарственные средства с улучшенными свойствами. Такой подход способствует созданию соединений, обладающих повышенной эффективностью, сниженной токсичностью и расширенными терапевтическими возможностями, что особенно актуально для лечения групп связанных патологий. Использование гибридных молекул открывает перспективы для развития более целенаправленных и безопасных медикаментов, способных эффективнее бороться со сложными заболеваниями. Гидразинкарботиоамидный фрагмент содержится в известных лекарственных препаратах, таких как метисазон и амбазон (фарингосепт). Синтез гидразинкарботиоамидов с фрагментом 6-метилурацила заслуживает внимания и открывает новые возможности для разработки лекарственных средств. В ходе данного исследования были синтезированы с высокими выходами гидразинкарботиоамиды с фрагментом 6-метилурацила, которые представляют интерес для медицинской химии, и изучены их антиоксидантные свойства *in vitro* на моделях ABTS, FRAP, DPPH и ингибирования оксида азота. Выбрано соединение-лидер, содержащее в своей структуре динитрофенильный заместитель – 2-(2,4-динитрофенил)-*N*-(6-метил-2,4-диоксо-1,2,3,4-тетрагидропиримидин-5-ил)-гидразинкарботиоамид, которое продемонстрировало наивысшую активность в тесте ABTS в эффективной концентрации ($EC_{50} = 293.16$ мкг/мл), превосходящей значения EC_{50} аскорбиновой кислоты в 1.5 раза ($p < 0.01$), а в тесте ингибирования NO его активность была в 1.7 и 3.1 раза ($p < 0.0002$) выше, чем у тролокса и аскорбиновой кислоты соответственно. На основании полученных данных выбранное соединение-лидер может быть использовано для изучения противовоспалительной активности на животных моделях.

Ключевые слова: 6-метилурацил, гидразин, гидразинкарботиоамид, антиоксидантная активность *in vitro*

DOI: 10.7868/S1998286026020083

ВВЕДЕНИЕ

Планирование и синтез гибридных скелетных молекул – эффективный инструмент в получении соединений с новыми свойствами, заслуживающих особого внимания. Подход, который основан на объединении нескольких фармакофорных фрагментов, как правило, приводит к усилению уже известных биологических свойств или проявлению новых.

Класс гидразинкарботиоамидов, а также их производных представляет собой многообещающий класс полифункциональных соединений-фармакофоров благодаря широкому спектру потенциальной биологической активности. В литературе описаны гидразинкарботиоамиды, обладающие биологическими свойствами, такими как противотуберкулезные, антибактериальные, противовирусные, противоопухолевые [1–4]. С другой сто-

Сокращения: АОА – антиоксидантная активность; Tos – тозилъная группа.

[#] Автор для связи: (эл. почта: inna.b.chernikova@yandex.ru).

роны, 6-метилурацил – известная субстанция, которая широко используется в фармацевтике как препарат, влияющий на регуляцию перекисного окисления липидов и заживление ран [5–7]. В литературе описаны подходы к синтезу гидразинкарботиоамидов через взаимодействие альдегидов с тиосемикарбазидом [3, 8, 9] и изотиоцианатов с гидразинами и ацилгидразидами [10, 11].

Целью данной работы был целенаправленный синтез серии гидразинкарботиоамидов на основе 6-метилурацила и оценка их антиоксидантного потенциала в ряде стандартных тестов для выявления наиболее перспективного соединения-лидера.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе осуществлен синтез гидразинкарботиоамидов (VIII–XIII) с фрагментом 6-метилурацила при использовании в качестве субстрата 5-изотиоцианато-6-метилурацила (I) (схема 1) [12, 13]. Реакцию проводили при кипячении соединения (I) в 1,4-диоксане с гидразинами (II–VII). В случае использования кислых солей гидразинов (II, III, VI) в реакционную массу потребовалось ввести дополнительный компонент – CH_3COONa .

Строение синтезированных соединений установлено на основании данных ЯМР, масс-спектропии и элементного анализа. Так, подтверждением образования соединений (VIII–XIII) было появление в спектре ^{13}C -ЯМР сигнала, характерного для $\text{C}=\text{S}$ -группы, в области 183.03–184.17 м.д., тогда как в исходном 5-изотиоцианато-6-метилурациле (I) значение для C в группе $\text{N}=\text{C}=\text{S}$ составляет 144.94 м.д. Для соединений (VIII) и (XIII) структурное описание и отнесения сигналов ЯМР проводили с помощью методик HMBC, HSQC, COSY, NOESY.

С целью выявления антиоксидантной активности полученные соединения изучали *in vitro* на моделях ABTS, FRAP, DPPH и ингибирования оксида азота. Ранее в литературе было описано, что ряд производных тиосемикарбазидных про-

изводных гидроксибензойной кислоты проявляет антирадикальную активность [14].

Антиоксидантная активность. В норме свободные радикалы участвуют в процессах жизнедеятельности клеток. При их избытке происходит интенсификация процессов свободнорадикального окисления липидов, белков, генетического материала клеток и т.д., что лежит в основе патогенеза сердечно-сосудистых, аутоиммунных, нейродегенеративных и других заболеваний [15–17]. Оксид азота (NO) – универсальный медиатор в регуляции физиологических процессов в разных системах организма, и содержание его метаболитов (нитрита, *N*-нитрозосоединений, пероксинитрита) в крови очень мало. При воспалительных процессах в результате деструкции доноров NO в организме уровень метаболитов повышается. Так, пероксинитрит, образующийся при взаимодействии супероксида с NO, обладает сильными окислительными свойствами, инициирует перекисное окисление липидов, повреждая стенки сосудов [15, 18]. Антиоксиданты, как природные (аскорбиновая кислота, α -токоферол и др.), так и синтетические, играют важную роль в профилактике и лечении заболеваний, нейтрализуя свободнорадикальные процессы в организме [19]. В связи с этим актуален поиск новых биологически активных соединений, обладающих антиоксидантными свойствами.

Распространенные методы изучения антиоксидантной активности соединений в условиях *in vitro* – оценка их восстанавливающей способности (способности легко отдавать электроны) и способности ингибировать образование NO.

Метод восстановления радикала ABTS. Все изученные соединения (VIII–XIII) продемонстрировали способность восстанавливать катион ABTS^+ в порядке уменьшения их активности: (X) > (XI) > (VIII) > (IX) > аскорбиновая кислота > (XIII) > тролокс > (XII). Наименьшую восстанавливающую способность показало соединение (XII) (табл. 1). Наибольшую АОА на данной модели продемонстрировали соединения (X, XI), проявившие восстанавливающие свойства при значениях эффективных концентраций в 1.5 раза

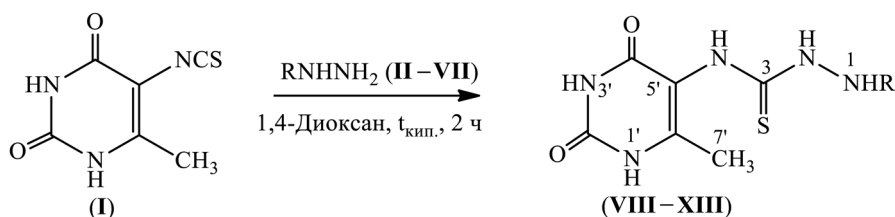


Схема 1. Синтез гидразинкарботиоамидов (VIII–XIII). R = Bn ((II), (VIII) – 86%), Ph ((III), (IX) – 85%), 3- $\text{COOH}\text{C}_6\text{H}_4$ ((IV), (X) – 90%), 2,4- $\text{NO}_2\text{-Ph}$ ((V), (XI) – 91%), $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Et}$ ((VI), (XII) – 83%), Tos ((VII), (XIII) – 92%).

Таблица 1. Антиоксидантная активность (мкг/мл) гидразинкарботиоамидов (VIII–XIII)

№	Соединение	ABTS EC ₅₀	FRAP EC ₅₀	DPPH EC ₅₀	Концентрация нитрита ^a
1	(VIII)	380.89 ± 2.65	13.18 ± 1.55	353.65 ± 25.86	0.94 ± 0.02*
2	(IX)	400.38 ± 19.58	15.20 ± 0.12	156.21 ± 0.50	1.23 ± 0.002*
3	(X)	289.57 ± 5.43 ^{#, ##}	14.78 ± 0.40	132.80 ± 4.64	1.56 ± 0.04*
4	(XI)	293.16 ± 6.53 ^{#, ##}	10.60 ± 0.55	120.07 ± 2.35	0.56 ± 0.03*, **
5	(XII)	754.13 ± 38.54	11.59 ± 0.46	—	0.50 ± 0.12*, **
6	(XIII)	464.02 ± 10.57	23.68 ± 0.64	114.29 ± 2.93	2.55 ± 0.09
7	Аскорбиновая кислота	435.83 ± 30.49	4.90 ± 0.09	79.02 ± 10.60	1.75 ± 0.003*
8	Тролокс	507.04 ± 9.86	8.36 ± 0.08	106.25 ± 1.96	0.97 ± 0.03*
9	Контроль + DMSO	—	—	—	2.45 ± 0.06

Примечание: данные представлены в виде $M \pm SD$; $n = 3$; EC₅₀ – эффективная концентрация, при которой соединение восстанавливает половину субстрата в реакционной смеси (радикалов DPPH и ABTS или K₃[Fe(CN)₆]). Для теста ABTS данные достоверны относительно тролокса при $p < 0.001$ ([#]) и аскорбиновой кислоты при $p < 0.01$ (^{##}).

^a Для теста ингибирования NO представлена концентрация нитрита в инкубационной смеси (мкг/мл) при концентрации соединений 100 мкг/мл; данные достоверны относительно контроля + DMSO (*) и тролокса (**) при $p < 0.0002$.

($p < 0.01$) и в 1.7 раза ($p < 0.001$) меньших, чем у аскорбиновой кислоты и тролокса соответственно. Соединения (X, XI) продемонстрировали линейную зависимость активности в изученном диапазоне концентраций (рис. 1а).

Метод FRAP. Все изученные соединения (VIII–XIII) проявили железовосстанавливающие свойства в порядке уменьшения их активности: аскорбиновая кислота > тролокс > (XI) > (XII) > (VIII) > (X) > (IX) > (XIII). Наибольшую железовосстанавливающую активность в ряду синтезированных соединений продемонстрировали соединения (XI, XII), хотя их активность была ниже, чем у стандартных антиоксидантов (табл. 1). Соединения (XI, XII) также показали линейную зависимость увеличения их активности в изученном диапазоне концентраций (рис. 1б).

Метод восстановления стабильного радикала DPPH. Все синтезированные соединения, кроме соединения (XII), проявили восстанавливающие свойства в отношении стабильного радикала DPPH в порядке уменьшения их активности: аскорбиновая кислота > тролокс > (XIII) > (XI) > (X) > (IX) > (VIII). Из них соединения (XIII, XI) про-

демонстрировали наибольшие восстанавливающие радикал DPPH свойства, хотя их активность была ниже стандартов антиоксидантов (табл. 1).

На данной модели соединения (XI, XIII) и антиоксиданты-стандарты показали схожую линейную зависимость в диапазоне концентраций 1–100 мкг/мл, с последующим снижением активности в концентрации 200 мкг/мл (рис. 1в).

Метод ингибирования оксида азота. Соединения (VIII–XII) в скрининговой дозе 100 мг/кг ингибировали образование NO из нитропрусида натрия эффективнее, чем аскорбиновая кислота в той же дозе. Соединение (VIII) по ингибирующей способности было на уровне тролокса. Наиболее активными ингибиторами NO оказались соединения (XI, XII), снижающие образование нитритов в инкубационной смеси в 4.5 раза ($p = 0.000173$) и 4.9 раза ($p = 0.000173$) по сравнению с контролем и в 1.7 раза ($p = 0.0002$) и 1.9 раза ($p = 0.000173$) по сравнению с тролоксом. Соединение (XIII) ингибирующие свойства не проявило (табл. 1, рис. 2).

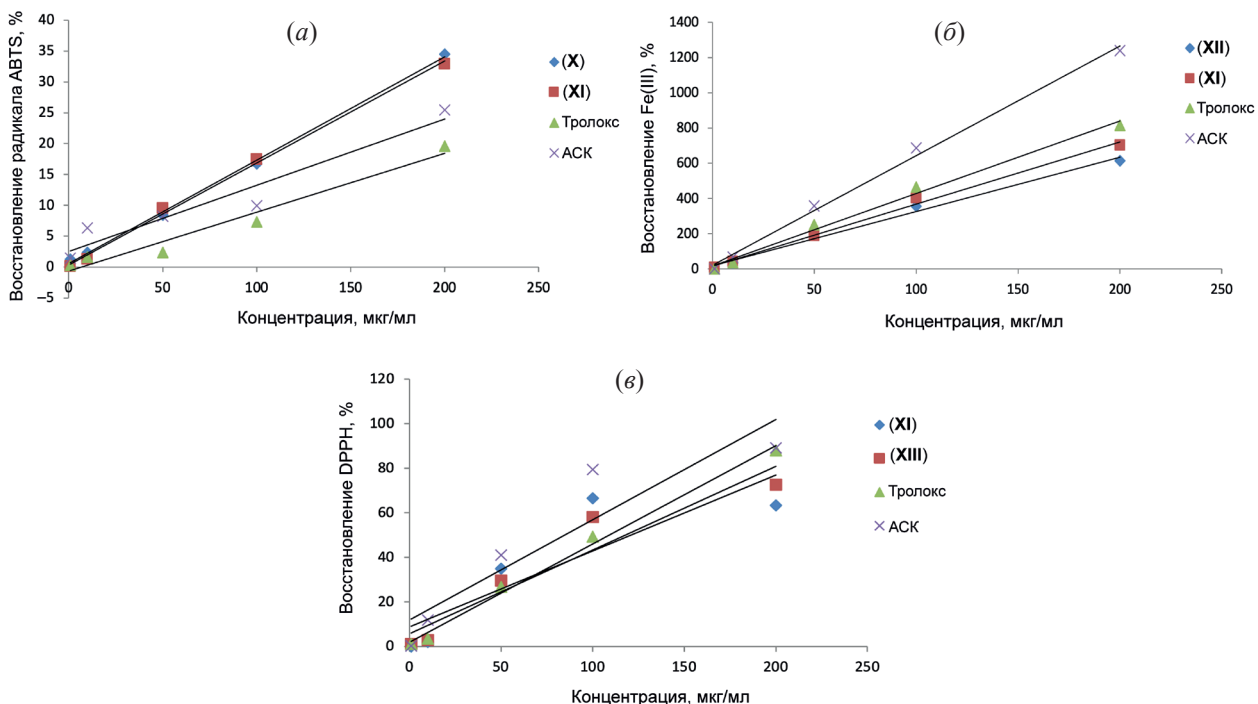


Рис. 1. Графики зависимости увеличения продуктов восстановления (%) радикала ABTS (а), Fe(III) (б) и стабильного радикала DPPH (в) от концентраций (мкг/мл) гидразинкарботиоамидов (X–XIII), аскорбиновой кислоты (АСК) и тролокса.

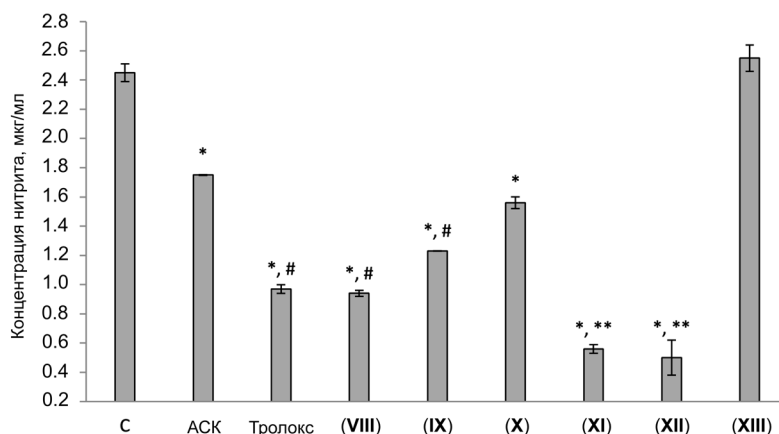


Рис. 2. Влияние гидразинкарботиоамидов (VIII–XIII) в дозе 100 мкг/мл на уровень нитрита (мкг/мл), образовавшегося из нитропруссид натрия (5 ммоль). При $p < 0.0002$ данные достоверны относительно контроля + DMSO (К, *), тролокса (**), аскорбиновой кислоты (АСК, #). $M \pm SD$, $n = 3$.

Таким образом, в ряду гидразинкарботиоамидов соединения (VIII–XIII) продемонстрировали АОА на моделях *in vitro* ABTS и FRAP. Соединение (XII) не обладало активностью на модели DPPH и было малоактивным на модели ABTS, что, вероятно, связано с наличием сложноэфирной группы, которая может снижать его донорские

свойства в условиях pH, близких к нейтральным. В то же время на модели FRAP железовосстанавливающие свойства соединения (XII) были близки значению соединения (XI). Поскольку реакция восстановления Fe(III) протекает при низких значениях pH, то вероятно, что донорно-акцепторный потенциал сложноэфирной группы

соединения (XII) зависит от кислотности среды. Для соединений (VIII–XI, XIII) независимо от заместителей изменение pH смеси не оказало влияния на их восстанавливающие свойства. Навысшая ингибирующая способность соединения (XI) может быть связана с окислительно-восстановительным потенциалом динитрофенильной группы, которая может восстанавливаться до аминогруппы. Наибольшей ингибирующей активностью в отношении NO среди изученных гидразинкарботиоамидов показали соединения (XI, XII), что, вероятно, связано с их взаимодействием с нитропруссидом натрия по механизму, схожему с механизмом взаимодействия с гексацианоферратом калия в тесте FRAP.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Оборудование и реактивы. Спектры ^1H - и ^{13}C -ЯМР регистрировали на импульсном спектрометре Avance-III (500 МГц; Bruker, Германия) с рабочей частотой 500.13 МГц для ^1H , 125.47 МГц для ^{13}C и 50.68 МГц для ^{15}N (для соединений (VIII, XIII)) с использованием 5-мм датчика с Z-градиентом PABBO при постоянной температуре образца 298 К в DMSO- d_6 . Химические сдвиги в спектрах ^1H - и ^{13}C -ЯМР приведены в м.д. относительно сигнала растворителя (δ_{H} 2.50 м.д. и δ_{C} 39.52 м.д.). Химические сдвиги для ядер ^{15}N получали из F_1 -проекции $\{^1\text{H}, ^{15}\text{N}\}$ HMBC-спектров, значения приведены в аммиачной шкале. Элементный анализ выполняли на приборе EURO-3000 (Hekatech, Германия). Масс-спектры получали на квадрупольном жидкостном хромато-масс-спектрометре LCMS-2010 EV (Shimadzu, Япония) (шприцевой ввод, раствор образца в ацетонитриле/хлороформе, элюент – ацетонитрил/вода в соотношении 95/5, скорость потока 0.1 мл/мин) в режиме регистрации положительных и отрицательных ионов при потенциале капилляра 4.5 и –3.5 кВ соответственно в условиях химической ионизации при атмосферном давлении. Температуру плавления определяли в стеклянном капилляре на приборе “ПТП-М” (Химлаборприбор, Россия).

Синтез соединений (VIII–XIII) (общая методика). Смесь 0.075 г (0.40 ммоль) 5-изотиоцианато-6-метилурацила (I) и соответствующего гидразина (II–VII) (0.46 ммоль) перемешивали в 2 мл 1,4-диоксана при кипячении с обратным холодильником в течение 2 ч. Для кислых солей гидразинов (II, III, VI) добавляли 0.038 г (0.46 ммоль) CH_3COONa . Выпавший осадок отфильтровывали, промывали 1,4-диоксаном, дистиллированной H_2O , ацетоном и высушивали.

2-Бензил-N-(6-метил-2,4-диоксо-1,2,3,4-тетрагидропиримидин-5-ил)гидразинкарботиоамид (VIII). Прозрачные иглы, т. пл. 222–223°C (DMSO) с разлож., выход 0.108 г (86%). Спектр ^1H -ЯМР (δ , м.д.): 1.97 с (3H, H7'), 5.30 уш.с (2H, $\text{CH}_2\text{-C}_q$), 7.15–7.48 м (5H, H_{orto} , H_{meta} , H_{para}), 8.98 уш.с (1H, H4), 10.90 уш.с (1H, H1'), 11.02 уш.с (1H, H3'). Спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м.д.): 15.44 (C7'), 57.08 (C-Cq), 112.08 (C5'), 127.28 (C $_{\text{para}}$), 127.67 (C $_{\text{orto}}$), 128.47 (C $_{\text{meta}}$), 136.65 (C $_{\text{q}}$), 150.14 (C2'), 151.61 (C6'), 161.77 (C4'), 183.03 (C3). Спектр ^{15}N -ЯМР (δ , м.д.): 105.51 (N4), 134.65 (N1'), 155.43 (N3'). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн.}}$, %): 304 (100) [M-H] $^-$ $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$. Найдено (%): C, 51.07; H, 4.88; N, 23.04; S, 10.53. $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$. Вычислено (%): C, 51.13; H, 4.95; N, 22.94; S, 10.50.

N-(6-Метил-2,4-диоксо-1,2,3,4-тетрагидропиримидин-5-ил)-2-фенилгидразинкарботиоамид (IX). Иглы светло-бежевого цвета, т. пл. 237–238°C (DMSO) с разлож., выход 0.101 г (85%). Спектр ^1H -ЯМР (δ , м.д.): 1.89 с (3H, H7'), 6.70–6.82 м (3H, H_{orto} , H_{para}), 7.19 т (2H, H_{meta} , J_3 7.5), 8.01 уш.с (1H, H4), 8.52 уш.с (1H, H2), 9.71 уш.с (1H, H1), 10.83 уш.с (1H, H1'), 11.00 уш.с (1H, H3'). Спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м.д.): 15.67 (C7'), 111.46 (C5'), 113.58 (C $_{\text{orto}}$), 120.19 (C $_{\text{para}}$), 129.24 (C $_{\text{meta}}$), 148.57 (C $_{\text{q}}$), 150.39 (C2'), 151.06 (C6'), 161.93 (C4'), 184.17 (C3). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн.}}$, %): 290 (100) [M-H] $^-$ $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$. Найдено (%): C, 49.41; H, 4.46; N, 24.11; S, 11.06. $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$. Вычислено (%): C, 49.47; H, 4.50; N, 24.04; S, 11.01.

3-(2-((6-Метил-2,4-диоксо-1,2,3,4-тетрагидропиримидин-5-ил)карбамотионил)гидразинил)бензойная кислота (X). Кристаллы бежевого цвета, т. пл. 266–267°C (DMSO) с разлож., выход 0.123 г (90%). Спектр ^1H -ЯМР (δ , м.д.): 1.89 с (3H, H7'), 6.95 д (1H, C6'', J_3 6.0), 7.30 д (1H, C2'', J_3 6.0), 7.40 уш.с (2H, C4'', C5''), 8.25 уш.с (1H, H4), 8.80 уш.с (1H, H2), 9.75 уш.с (1H, H1), 10.85 уш.с (1H, H1'), 11.05 уш.с (1H, H3'). Спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м.д.): 15.57 (CH $_3$), 111.42 (C5'), 114.10 (C2''), 117.76 (C6''), 121.06 (C4''), 129.44 (C5''), 131.94 (C3''), 148.77 (C1''), 150.48 (C2'), 151.05 (C6'), 161.92 (C4'), 167.93 (COOH), 184.15 (C3). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн.}}$, %): 334 (100) [M-H] $^-$ $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_4\text{S}$. Найдено (%): C, 46.49; H, 3.84; N, 20.99; S, 9.60. $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_4\text{S}$. Вычислено (%): C, 46.56; H, 3.91; N, 20.88; S, 9.56.

2-(2,4-Динитрофенил)-N-(6-метил-2,4-диоксо-1,2,3,4-тетрагидропиримидин-5-ил)гидразинкарботиоамид (XI). Кристаллы желтого цвета, т. пл. 204–205°C (DMSO) с разлож., выход 0.142 г (90%). Спектр ^1H -ЯМР (δ , м.д.): 1.88 с (3H, H7'), 7.15 д (1H, H6'', J_3 7.6), 8.40 д (1H, H5'', J_3 7.6),

8.84 с (1H, H4), 9.08 уш.с (1H, H3''), 10.25 уш.с (2H, H1, H2), 10.88 уш.с (1H, H1'), 11.10 уш.с (1H, H3'). Спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м.д.): 15.67 (CH_3), 110.85 ($\text{C5}'$), 115.60 ($\text{C6}''$), 123.11 ($\text{C3}''$), 130.53 ($\text{C5}''$), 131.70 ($\text{C2}''$), 137.65 ($\text{C4}''$), 148.46 ($\text{C1}''$), 150.95 ($\text{C2}'$), 151.46 ($\text{C6}'$), 161.77 ($\text{C4}'$), 183.39 (C3). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн.}}$, %): 380 (100) [$M - \text{H}$] $^-$ $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_7\text{O}_6\text{S}$. Найдено (%): C, 37.72; H, 2.84; N, 25.80; S, 8.45. $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{N}_7\text{O}_6\text{S}$. Вычислено (%): C, 37.80; H, 2.91; N, 25.71; S, 8.41.

Этил 2-(2-((6-Метил-2,4-диоксо-1,2,3,4-тетрагидропиримидин-5-ил)карбамотионил)гидразинил)ацетат (XII). Прозрачные иглы, т. пл. 214–215°C (DMSO) с разлож., выход 0.102 г (83%). Спектр ^1H -ЯМР (δ , м.д.): 1.18 т (3H, CH_2CH_3 , J_3 7.1), 1.89 с (3H, H7'), 4.10 кв (3H, H7', CH_2CH_3 , J_3 7.0), 4.93 уш.с (2H, $\text{CH}_2\text{C}(\text{O})$), 9.01 уш.с (1H, H4), 10.89 уш.с (1H, H1'), 11.03 уш.с (1H, H3'). Спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м.д.): 14.49 (CH_3), 15.72 ($\text{C7}'$), 56.22 ($\text{CH}_2\text{C}(\text{O})$), 61.18 (CH_2CH_3), 112.19 ($\text{C5}'$), 150.71 ($\text{C2}'$), 151.02 ($\text{C6}'$), 162.09 ($\text{C4}'$), 169.20 ($\text{C}(\text{O})$), 183.93 (C3). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн.}}$, %): 300 (100) [$M - \text{H}$] $^-$ $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}_4\text{S}$. Найдено (%): C, 39.79; H, 4.96; N, 23.29; S, 10.69. $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_4\text{S}$. Вычислено (%): C, 39.86; H, 5.02; N, 23.24; S, 10.64.

N-(6-Метил-2,4-диоксо-1,2,3,4-тетрагидропиримидин-5-ил)-2-тозилгидразинкарботиоамид (XIII). Прозрачные иглы, т. пл. 235–236°C (DMSO) с разлож., выход 0.139 г (83%). Спектр ^1H -ЯМР (δ , м.д.): 1.76 с (3H, H7'), 2.37 с (3H, CH_3), 7.39 уш.с (2H, H_{meta}), 7.71 уш.с (2H, H_{orto}), 8.77 уш.с (1H, H4), 9.74 уш.с (1H, H2), 9.97 уш.с (1H, H1), 10.84 уш.с (1H, H1'), 11.02 уш.с (1H, H3'). Спектр ^{13}C -ЯМР (δ , м.д.): 15.18 ($\text{C7}'$), 21.52 (CH_3), 111.29 ($\text{C5}'$), 128.60 (C_{orto}), 130.01 (C_{meta}), 135.32 (C_q), 144.20 (C_{para}), 150.54 ($\text{C2}'$), 151.04 ($\text{C6}'$), 161.67 ($\text{C4}'$), 183.89 (C3). Спектр ^{15}N -ЯМР (δ , м.д.): 134.75 ($\text{N1}'$). Масс-спектр, m/z ($I_{\text{отн.}}$, %): 368 (100) [$M - \text{H}$] $^-$ $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}_4\text{S}_2$. Найдено (%): C, 42.19; H, 4.00; N, 19.02; S, 17.42. Вычислено (%): C, 42.27; H, 4.09; N, 18.96; S, 17.36.

Антиоксидантная активность *in vitro*. Соединения (VIII–XIII) растворяли в DMSO и 98%-ном EtOH в концентрациях 1, 10, 50, 100, 200 и 500 мкг/мл. В качестве препаратов сравнения использовали аскорбиновую кислоту (ч.д.а.; ООО “Компонент-Реактив”, Россия) [20] и тролокс (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновая кислота, 97%; Masklin, Китай) [21]. Оптическую плотность реакционных смесей измеряли на микропланшетном спектрофотометре FlexA-200HT (Alsheng, Китай).

Метод восстановления радикала ABTS (ABTS radical scavenging activity). Способность соединений восстанавливать катион-радикал 2,2'-азино-бис-(3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой кислоты) (ABTS^+) изучали по методу, описанному в работе [22]. Для приготовления раствора катиона ABTS к 7 mM водному раствору ABTS (Lear Chem Co, Ltd., Китай) добавляли 2.45 mM раствор персульфата калия ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, Ч, ГОСТ 4146-74) в соотношении 1 : 0.5 и оставляли на 6–10 ч в темноте при комнатной температуре до развития темно-синего окрашивания. Использовали рабочий раствор катиона ABTS, имеющий оптическую плотность 0.70 ± 0.02 при 734 нм. К 10 мкл изучаемых образцов в различных концентрациях добавляли 1 мл рабочего раствора ABTS^+ . В качестве отрицательного контроля 1 мл раствора ABTS^+ смешивали с 10 мкл EtOH или фосфатного буфера. В качестве положительного контроля использовали тролокс и аскорбиновую кислоту.

Антиоксидантную активность (АОА) изучаемых образцов рассчитывали по формуле (1):

$$\text{АОА (\%)} = (A_{\text{конт}} - A_{\text{оп}}) / A_{\text{конт}} \times 100, \quad (1)$$

где $A_{\text{конт}}$ – оптическая плотность отрицательного контроля раствора ABTS^+ с EtOH или фосфатным буфером, $A_{\text{оп}}$ – оптическая плотность опытного соединения или положительного контроля с раствором ABTS^+ .

Метод FRAP (ferric reducing antioxidant power). На модели *in vitro* оценивали способность соединений восстанавливать Fe(III) в гексацианоферрате калия ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) до Fe(II): $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ с последующей реакцией с хлоридом Fe(III) с образованием окрашенного комплекса $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$ (берлинская лазурь), имеющим максимум поглощения при 700 нм [23].

Растворы разных концентраций по 100 мкл добавляли в пробирки, содержащие 250 мкл фосфатного буфера (pH 6.6) и 250 мкл 1%-ного раствора $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. Реакционную смесь инкубировали при 50°C в течение 20–30 мин. Реакцию останавливали внесением 250 мкл 10%-ного раствора CCl_3COOH . Затем смесь центрифугировали для осаждения выпавшего осадка в течение 10 мин при 1500 об/мин. К 250 мкл надосадочной жидкости добавляли 250 мкл дистиллированной H_2O и 50 мкл 0.1%-ного раствора FeCl_3 . Контрольным раствором служила реакционная смесь, содержащая 100 мкл DMSO или дистиллированной H_2O . Оптическую плотность растворов измеряли в трех повторях при длине волны 700 нм [23]. Результат выражали в эффективной концентрации анализируемых соединений EC_{50} (мкг/мл), при которой соединения восстанавливали половину содержащегося в реак-

ционной смеси Fe(III) до Fe(II) относительно контрольного раствора.

Антиоксидантную активность (АОА) изучаемых образцов рассчитывали по формуле (2):

$$\text{АОА (\%)} = (A_{\text{оп}} - A_{\text{конт}}) / A_{\text{конт}} \times 100, \quad (2)$$

где $A_{\text{конт}}$ – оптическая плотность отрицательного контроля реакционной смеси с растворителем, $A_{\text{оп}}$ – оптическая плотность опытного соединения или положительного контроля с реакционной смесью.

Метод восстановления радикала DPPH. Способность соединений восстанавливать стабильный свободный радикал 1,1-дифенил-2-пикрилгидраза (DPPH, TCI, Япония) изучали по методу [24] с некоторыми изменениями. Для этого к 10 мкл изучаемых образцов в различных концентрациях добавляли 200 мкл раствора DPPH (25 мкг/мл в этаноле). В качестве отрицательного контроля раствор DPPH смешивали с 10 мкл EtOH. Тролокс и аскорбиновую кислоту использовали в качестве положительного контроля. Смесью перемешивали и инкубировали 30 мин при комнатной температуре. Оптическую плотность раствора измеряли при длине волны 517 нм.

Антиоксидантную активность (АОА) изучаемых образцов рассчитывали по формуле (3):

$$\text{АОА (\%)} = (A_{\text{конт}} - A_{\text{оп}}) / A_{\text{конт}} \times 100, \quad (3)$$

где $A_{\text{конт}}$ – оптическая плотность отрицательного контроля раствора DPPH с EtOH, $A_{\text{оп}}$ – оптическая плотность опытного соединения или положительного контроля с раствором DPPH.

Ингибирование спонтанной реакции образования NO(II). Оксид азота образуется из нитропруссиды натрия и взаимодействует с кислородом с образованием нитритов, которые в реакции с реактивом Грисса образуют окрашенные диазосоединения с первичными ароматическими аминами. Интенсивность окраски диазосоединений пропорциональна содержанию нитритов [25]. В раствор нитропруссиды натрия (5 ммоль), приготовленного на фосфатном буферном растворе (pH 7.4), вносили соединения, тролокс и аскорбиновую кислоту в одинаковой концентрации 100 мкг/мл. В контрольный раствор вместо изучаемых соединений добавляли эквивалентное количество DMSO. Смесью инкубировали 120 мин при комнатной температуре. Затем в 100 мкл смеси вносили 100 мкл реактива Грисса, инкубировали 10 мин и измеряли оптическую плотность при длине волны 550 нм. Количество образовавшегося из NO нитрита в инкубационных смесях определяли с помощью стандартной кривой, построенной с использованием растворов нитрита натрия в разных концентрациях [26].

Статистическая обработка данных. Каждую концентрацию образцов соединений изучали в трех параллельных анализах. Результаты представляли как среднее (М) и стандартная ошибка среднего ($\pm$ SEM). АОА соединений выражали в виде их эффективной концентрации (EC_{50} , мкг/мл), при которой происходит 50%-ное восстановление радикалов DPPH, ABTS⁺ или восстановление Fe(III) до Fe(II) от их общего содержания в реакционной смеси. EC_{50} рассчитывали с помощью графиков, построенных в программе Microsoft Excel 7, где по оси абсцисс расположена концентрация тестируемых соединений, а по оси ординат – процент АОА. Экспериментальные данные обрабатывали методом дисперсионного анализа в программе Statistica 10 (Statsoft), для множественных сравнений использовали критерий Тьюки, при $p < 0.05$ межгрупповые различия считали достоверными.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Синтезированы гидразинкарботиоамиды с фрагментом 6-метилурацила с высокими выходами и исследована их биологическая активность. Изучение антиоксидантной активности полученных соединений с использованием методов восстановления Fe^{3+} , катиона ABTS, стабильного радикала DPPH и ингибирования оксида азота в условиях *in vitro* позволило выявить несколько соединений с высокой антиоксидантной активностью (**X–XIII**), среди которых выбрано соединение-лидер (**XI**), содержащее в своей структуре динитрофенильный заместитель, для дальнейшего изучения противовоспалительной активности в тестах на животных.

БЛАГОДАРНОСТИ

Спектральная часть исследования проводилась на оборудовании Центра обслуживания пользователей “Химия” Уфимского института химии УФИЦ РАН.

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по теме № 125020601629-0.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов исследования. Информированное согласие не требовалось.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концептуализация, написание статьи, администрирование проекта – ИБЧ; написание статьи, анализ данных – ТАС. Все авторы дали одобрение на окончательный вариант рукописи.

ДОСТУПНОСТЬ ДАННЫХ

Данные, подтверждающие выводы настоящего исследования, можно получить у корреспондирующего автора по обоснованному запросу.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Oliveira D.D.S., Dit Lapierre T.J.W.J., Silva F.C., Cunha I.V., Souza R.A.C., Matos P.A., Almeida G.M., Oliveira C.G., Araújo Th.G., Tsubone T.M., Rezende C.O., Jr. // J. Braz. Chem. Soc. 2023. V. 35. P. e-20230128.
<https://doi.org/10.21577/0103-5053.20230128>
2. Havrylyuk D., Roman O., Lesyk R. // Eur. J. Med. Chem. 2016. V. 113. P. 145–166.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.02.030>
3. Karakaya A., Ercetin T., Yildirim S., Kocyigit Ü.M., Rudrapal M., Rakshit G., Acar Çevik U., Özkay Y. // Chem. Select. 2024. V. 9. P. e202401587.
<https://doi.org/10.1002/slct.202401587>
4. Енгоян А.П., Пивазян В.А., Казарян Э.А., Акопян Р.С. // Журнал общей химии. 2019. Т. 89. С. 39–44.
<https://doi.org/10.1134/S0044460X19010062>
5. Маиковский М.Д. // Лекарственные средства (16-е изд., перераб., испр. и доп.). Москва: Новая волна, 2012. С. 698–699.
6. Грех В.В., Краснюк-мл. И.И., Краснюк И.И., Беляцкая А.В., Степанова О.И., Кошелева Т.М., Овсянникова Л.В., Плахотная О.Н., Король Л.А., Галайко А.Н. // Фармация. 2016. Т. 65. № 3. С. 9–13.
7. Shaposhnik A.M., Dyakonenko V.V., Baumer V.M., Rudiuk V.V., Yanchuk I.B., Levandovskiy I.A. // ACS Omega. 2023. V. 8. P. 20661–20674.
<https://doi.org/10.1021/acsomega.3c01231>
8. Antonov D.I., Dmitriev M.V., Kourova O.A., Maslits A.N. // Russ. J. Org. Chem. 2021. V. 57. P. 2063–2066.
<https://doi.org/10.1134/S1070428021120241>
9. Chernikova I.B., Belyaeva E.R., Lobov A.N. // Russ. Chem. Bull. 2023. V. 72. P. 1815–1820.
<https://doi.org/10.1007/s11172-023-3964-1>
10. Isaeva A.O., Krutov I.A., Burangulova R.N., Komunarova D.K., Samigullina A.I., Gavrilova E.L. // Russ. J. Gen. Chem. 2023. V. 93. P. S463–S471.
<https://doi.org/10.1134/S1070363223150070>
11. Vafina G.F., Poptsov A.I. // Russ. J. Gen. Chem. 2024. V. 94. P. 514–521.
<https://doi.org/10.1134/S1070363224030034>
12. Chernikova I.B., Lobov A.N., Mescheryakova E.S., Khalilov L.M., Yunusov M.S. // Mendeleev Commun. 2023. V. 33. P. 714–716.
<https://doi.org/10.1016/j.mencom.2023.09.039>
13. Chernikova I.B., Yunusov M.S. // Russ. Chem. Bull. 2024. V. 73. P. 2778–2780.
<https://doi.org/10.1007/s11172-024-4392-6>
14. Satpaeva Z.B., Shulgau Z.T., Akhmetova S.B., Nurkenov O.A., Fazylov S.D., Burkeev M.Zh. // Russ. J. Bioorg. Chem. 2020. V. 46. P. 537–541.
<https://doi.org/10.1134/S1068162020040172>
15. Воробьева Е.Н., Воробьев Р.И. // Бюлл. СО РАМН. 2005. Т. 118. № 4. С. 24–30.
16. Рыбакова А.А., Платонова Н.М., Трошина Е.А. // Пробл. эндокринологии. 2019. Т. 65. С. 451–457.
<https://doi.org/10.14341/probl11827>
17. Васенина Е.Е., Левин О.С. // Современ. терапия в психиатрии и неврологии. 2013. № 3–4. С. 39–46.
18. Тимов В.Ю., Крейнина М.В., Петров В.А., Иванова А.В., Болдырихин В.С., Балякин Ю.В., Осипов А.Н. // Вестник РГМУ. 2012. № 4. С. 11–15.
19. Миронов А.Н., Бунятян Н.Д. // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (часть первая). Москва: Гриф и К, 2013. С. 769–777.
20. Njus D., Kelley P.M., Tu Y.-J., Schlegel H.B. // Free Radic. Bio. Med. 2020. V. 159. P. 37–43.
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.07.013>
21. Papagiouvannis G., Theodosios-Nobelos P., Rekka E.A. // Molecules. 2024. V. 29. P. 3763.
<https://doi.org/10.3390/molecules29163763>
22. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. // Free Radic. Bio. 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)
23. Adjimani J.P., Asare P. // Toxicol Rep. 2015. V. 2. P. 721–728.
<https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2015.04.005>
24. Wu Z., Tan B., Liu Y., Dunn J., Martorell Guerola P., Tortajada M., Cao Zh., Ji P. // Molecules. 2019. V. 24. P. 2825.
<https://doi.org/10.3390/molecules24152825>
25. Sreejayan Rao M.N. // J. Pharm. Pharmacol. 1997. V. 49. P. 105–107.
<https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1997.tb06761.x>
26. Marcocci L., Maguire J.J., Droy-Lefaix M.T., Packer L. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1994. V. 201. P. 748–755.
<https://doi.org/10.1006/bbrc.1994.1764>

I. Synthesis and Antioxidant Activity of Hydrazinecarbothioamides Based on 6-Methyluracil and Hydrazines

I. B. Chernikova*, # and T. A. Sapozhnikova*

E-mail: inna.b.chernikova@yandex.ru

* Ufa Institute of Chemistry UFIC RAS, prosp. Oktyabrya 71, Ufa, 450054 Russia

The synthesis of hybrid molecules combining various pharmacophore fragments is a modern trend in medical chemistry that makes it possible to develop new drugs with improved properties. This approach contributes to the creation of compounds with increased efficacy, reduced toxicity and enhanced therapeutic capabilities, which is especially important for the treatment of groups of related pathologies. The use of hybrid molecules opens up prospects for the development of more targeted and safe medicines that can more effectively combat complex diseases. The hydrazinecarbothioamide fragment is found in well-known drugs such as metisazone and ambazone (faringocept). The synthesis of hydrazinecarbothioamides with a 6-methyluracil fragment deserves attention and opens up new possibilities for drug development. In the course of this study, hydrazinecarbothioamides with a 6-methyluracil fragment were synthesized in high yields, which are of interest for medicinal chemistry, and their antioxidant properties were studied *in vitro* using ABTS, FRAP, DPPH, and nitric oxide inhibition models. A leader compound was selected containing in its structure a dinitrophenyl substituent – 2-(2,4-dinitrophenyl)-N-(6-methyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-yl)hydrazinecarbothioamide, which demonstrated the highest activity in the ABTS test, at an effective concentration ($EC_{50} = 293.16 \mu\text{g/mL}$) exceeding the EC_{50} values of ascorbic acid by 1.5 times ($p < 0.01$). And in the NO inhibition test, its activity was 1.7 and 3.1 times ($p < 0.0002$) higher than that of trolox and ascorbic acid, respectively. Based on the data obtained, the selected leader compound can be used to study anti-inflammatory activity in animal models.

Keywords: 6-methyluracil, hydrazine, hydrazinecarbothioamide, antioxidant activity *in vitro*