

УДК 616.365: 547.567.5

## АНТИГИПОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРОИЗВОДНЫХ БЕНЗОХИНОНА В УСЛОВИЯХ ГИПЕРКАПНИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

*Рашкевич О. С., Волчек А. В.*

*Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь*

**Реферат.** В работе изучено антигипоксическое действие гидрохинона, 1,4-бензохинона и тимохинона при однократном внутрибрюшинном введении мышам на модели гиперкапнической гипоксии в герметическом объеме. Установлено, что 1,4-бензохинон в дозе 5 мг/кг на данной модели обладает существенным антигипоксическим эффектом, увеличивая время жизни животных в среднем на 82 % ( $p = 0,00017$ ), превосходя по этому показателю препарат сравнения беметил в дозе 100 мг/кг (54 %,  $p = 0,003$ ). В нашем исследовании в ряду гидрохинон — 1,4-бензохинон антигипоксической активностью обладала именно окисленная форма бензохинона. Также была установлена определенная тенденция к антигипоксическому действию тимохинона в дозе 5 мг/кг (увеличение продолжительности жизни на 28 %,  $p = 0,048$ ). В другой серии экспериментов было показано, что защитное антигипоксическое действие 1,4-бензохинона не сопровождается обнаруживаемыми неврологическими нарушениями и не ведет к отложенной гибели животных. Тимохинон и 1,4-бензохинон могут представлять интерес для дальнейших исследований в качестве индивидуальных антигипоксических средств, а также возможных компонентов в составе антигипоксических комбинаций.

**Ключевые слова:** 1,4-бензохинон, тимохинон, гидрохинон, мельдоний, беметил, гипоксия, гиперкапния, мыши.

**Введение.** Ишемическая цереброваскулярная и коронарная патологии сегодня занимают ведущие позиции во всем мире. Частота неотложных состояний, вызванных этими заболеваниями, и риск летальных осложнений чрезвычайно высоки. Эффективность фармакотерапии ишемической патологии недостаточна, а она сама в основном носит паллиативный характер. В частности, в США ежегодно регистрируют около 800 тыс. инсультов, из которых приблизительно 130 тыс., несмотря на терапию, заканчиваются летально [1]. В основе патологических изменений в тканях при ишемии лежит подавление аэробного образования энергии в результате нарушения энергосинтезирующей функции дыхательной цепи митохондрий. Другим вероятным фактором, имеющим важное значение в патогенезе ишемии, является активация перекисного окисления липидов и мембраноповреждающее действие свободных радикалов. Жизнеспособность клеток в зоне ишемии определяется многими факторами, главным из которых является сбалансированность ряда высокоэнергетических процессов — обеспечение функциональной активности клеток, поддержание мембранных структур и состава органелл [2]. В целях коррекции ишемических нарушений очевидна потребность в цитопротекторах и средствах, восста-

навливающих метаболические процессы. Подобным действием обладают так называемые антигипоксанты, применяемые в некоторых странах мира, однако эффективность и универсальность имеющихся препаратов требует уточнения. Помимо ишемической патологии сердца и мозга, антигипоксические средства могут быть полезны в терапии респираторной гипоксии (например, при тяжелом течении COVID-19 инфекции) и других состояниях.

В связи с этим поиск средств, повышающих устойчивость клеток и тканей к гипоксии, представляет большой интерес и является весьма актуальной задачей. Одно из перспективных направлений поиска потенциальных антигипоксических средств — производные хинона, которые известны антиоксидантными свойствами и влиянием на процессы генерации энергии в клетке.

**Цель работы** — изучение антигипоксических свойств 1,4-бензохинона, тимохинона и гидрохинона в скрининговом объеме исследования.

**Материалы и методы.** Исследование проведено в условиях экспериментальной лаборатории НИЧ БГМУ в соответствии с нормами биомедицинской этики и правилами гуманного обращения с животными, с соблюдением требований Европейской конвенции 86/609

ЕЕС. Антигипоксическое действие субстанций исследовали в опытах на 80 мышах-самцах линии С57В1/6 массой 28–38 г на модели гиперкапнической гипоксии в герметическом объеме [3].

Подопытные и контрольные группы по 8 мышей формировали методом рандомизации по массе тела в качестве ведущего признака. Опытные группы получали производные бензохинона в дозе 5 мг/кг, беметил в дозах 50 мг/кг и 100 мг/кг, мельдоний в дозе 50 мг/кг. Испытуемые соединения вводили внутривентрально однократно за 40 мин до эксперимента в объеме 0,1 мл/10 мг массы тела. Для растворения субстанций использовали изотонический водный раствор хлорида натрия с добавлением 1 % этанола и 1 % диметилсульфоксида. Контрольные животные получали эквивалентный объем растворителя. Для оценки антигипоксического действия животных по одному помещали в стеклянные контейнеры объемом 270 см<sup>3</sup>, герметичность контролировали путем погружения в сосуд с водой. Время жизни мышей регистрировали секундомером.

В другой серии экспериментов выживших после 30-минутной экспозиции при гиперкапнической гипоксии животных освобождали из герметического контейнера и немедленно подвергали тестированию общего неврологического статуса (пробы на нейротоксичность). Влияние соединений на ЦНС и вегетативные функции исследовали по методике Irvin в модификации Morigano. Наблюдение за животными проводили непрерывно на протяжении первых 6 ч после введения препаратов. В последующий период состояние животных отмечали дважды в сутки в течение 14 дней.

Тимохинон, гидрохинон и 1,4-бензохинон были предоставлены кафедрой радиационной медицины и химико-фармацевтических технологий химического факультета Белорусско-

го государственного университета; субстанция беметил (2-этилтиобензимидазола гидробромид) производства Института физико-органической химии Национальной Академии наук Беларуси, мельдоний производства Grin-dex (Латвия).

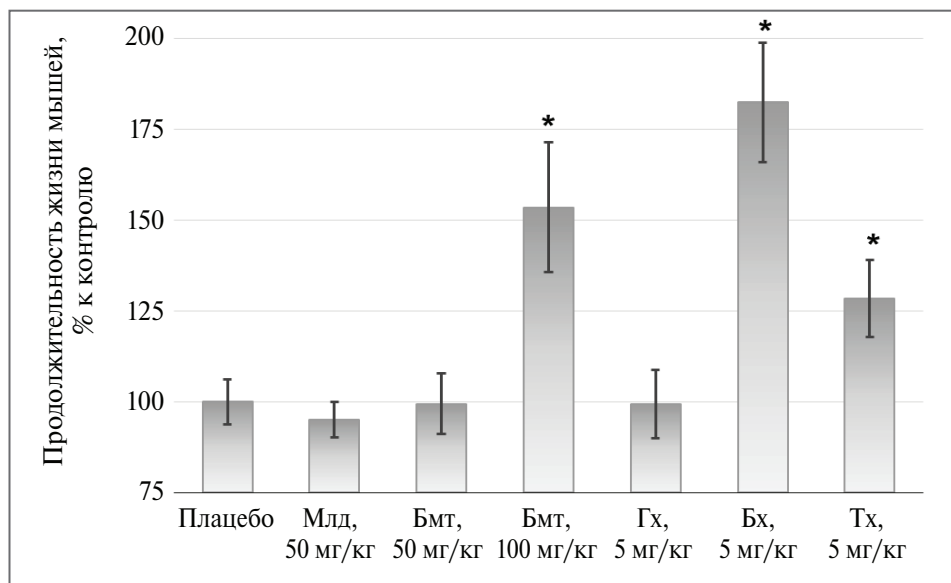
Полученные данные обрабатывали с использованием параметрического и непараметрического анализа по критериям *U*-Уилкоксона Манна – Уитни и Ньюмена – Келса. Различия между группами признавали достоверными при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** При помещении мышей в герметически закрытые емкости по мере потребления кислорода концентрация его в воздухе сосуда и организме снижается, а количество углекислого газа, наоборот, возрастает – развивается гипоксическая гипоксия с гиперкапнией. Первые признаки гипоксии у животных, получавших плацебо, появлялись, в среднем, на 15-й минуте нахождения в герметическом объеме. Вначале отмечали нарушение типичного поведения, отдельные признаки возбуждения, увеличение частоты дыхательных движений. В дальнейшем последовательно появлялись: шаткость и не координированность походки, утрачивалась способность удерживать позу, отдельные агональные вдохи, остановка дыхания и гибель. Средняя продолжительность жизни мышей контрольной группы в условиях гиперкапнической гипоксии в герметическом объеме 270 см<sup>3</sup> составляло  $19,9 \pm 1,2$  мин (таблица 1, рисунок 1). Препарат сравнения беметил при однократном внутривентральном введении в дозе 100 мг/кг повышал устойчивость животных к гипоксии. Типичные поведенческие проявления кислородного голодания у мышей появлялись значительно позже, а средняя продолжительность жизни была на 54 % больше в сравнении с группой контроля ( $30,5 \pm 3,6$  мин,  $p = 0,003$ ).

Таблица 1 — Влияние субстанций на продолжительность жизни мышей в условиях острой гипоксии с гиперкапнией

Субстанция	Продолжительность жизни, мин			Продолжительность жизни, в % к контролю		
	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>m</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>m</i>
Плацебо ( $n = 16$ )	19,9	4,7	1,2	100	23,8	6,3
Мельдоний, 50 мг/кг ( $n = 8$ )	18,9	2,8	1,0	95,0	13,8	4,9
Беметил, 50 мг/кг ( $n = 8$ )	19,8	4,7	1,7	99,4	23,6	8,3
Беметил, 100 мг/кг ( $n = 8$ )	30,5*	10,0	3,6	153,5*	50,1	17,9
Гидрохинон, 5 мг/кг ( $n = 8$ )	19,8	5,3	1,9	99,4	26,5	9,4
1,4-бензохинон, 5 мг/кг ( $n = 8$ )	36,3*	9,3	3,3	182,5*	46,6	16,5
Тимохинон, 5 мг/кг ( $n = 8$ )	25,5*	6,0	2,1	128,4*	30,1	10,6

\*  $p < 0,05$  в сравнении с плацебо по критерию Ньюмена – Келса.



**Рисунок 1 — Влияние субстанций на продолжительность жизни мышей в условиях острой гипоксии с гиперкапнией:**

Млд — мельдоний; Бмт — беметил; Гх — гидрохинон; Бх — 1,4-бензохинон; Тх — тимохинон  
 (\* $p < 0,05$  в сравнении с плацебо по критерию Ньюмена — Келса)

Учитывая, что данная экспериментальная методика стабильно воспроизводилась, а результаты характеризовались относительно невысокой индивидуальной вариабельностью (коэффициент вариабельности  $SD \% < 15$  %), а также эффектом эталонного средства беметила, примененную модель можно считать репрезентативной для оценки антигипоксической активности и эффективности лекарственных средств. Другой препарат сравнения мельдоний в дозе 50 мг/кг однократно, который по данным литературы является эффективным на моделях гипоксии [3], не обнаруживал эффекта, и средняя продолжительность жизни животных была неотличима от получавших плацебо ( $p = 0,988$ ). Не оказывал антигипоксического действия и беметил в дозе 50 мг/кг ( $p = 0,999$ ).

Продолжительность жизни мышей, получавших тимохинон в дозе 5 мг/кг, составила  $25,5 \pm 2,1$  мин, что больше чем в группе плацебо на 28 % ( $p = 0,048$ ). Гидрохинон в дозе 5 мг/кг не влиял на показатель времени жизни животных ( $p = 0,970$  в сравнении с плацебо). Установлено, что 1,4-бензохинон при однократном введении в дозе 5 мг/кг обладал существенным антигипоксическим эффектом на данной модели, увеличивая время жизни животных в среднем на 82 % ( $p = 0,00017$ ), превосходя по этому показателю препарат сравнения беметил в дозе 100 мг/кг (54 %).

В другом эксперименте и аналогичных условиях проведения после 30-минутной экс-

позиции при гиперкапнической гипоксии в герметичном объеме животных, получавших 1,4-бензохинон в дозе 5 мг/кг ( $n = 8$ ), освобождали и определяли их общий неврологический статус. Среднее время жизни мышей из группы плацебо этой серии было  $21,0 \pm 1,76$  мин ( $n = 8$ ). Показано, что защитное антигипоксическое действие 1,4-бензохинона на всем протяжении эксперимента не сопровождалось обнаруживаемыми неврологическими нарушениями. К моменту извлечения животных из гипоксических условий не зафиксировано поведенческих проявлений кислородного голодания ( $n = 8$ ). Влияние 1,4-бензохинона на мышечный тонус определяли в тесте подтягивания на перекладине: все мыши при подвешивании за передние лапы на горизонтальную проволоку подтягивали задние конечности. Моторно-координационные функции тестировали по удержанию на вращающемся барабане тредбана при скорости 18 об/мин, критерием нормы служило сохранение равновесия более 3 мин. Дальнейшее наблюдение в течение 14 суток не выявило каких-либо отклонений либо гибели животных.

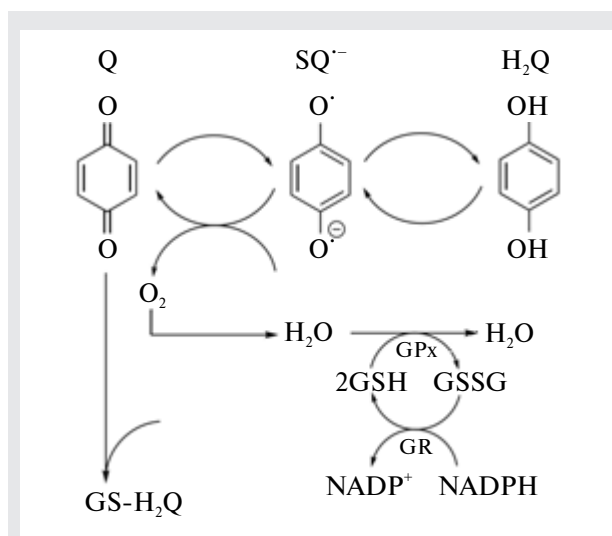
Таким образом, на экспериментальной модели гипоксии-гиперкапнии в герметичном объеме при однократном введении среди исследованных производных бензохинона в использованных дозах наибольшей антигипоксической активностью и эффективностью обладал 1,4-бензохинон, который статистически

значимо увеличивал продолжительность жизни мышей по сравнению с плацебо на 83 %. Действие тимохинона было существенно слабее, время жизни мышей в тех же условиях повышалось на 28 % по отношению к контролю. Восстановленное соединение 1,4-бензохинона — гидрохинон в эквимолярной дозе при однократном применении не оказывал антигипоксического действия, а по показателю продолжительности жизни животные этой экспериментальной группы принадлежали к единой генеральной совокупности с группой плацебо с вероятностью более 97 %. Установлено, что на данной экспериментальной модели антигипоксическим эффектом обладает именно окисленная форма бензохинона, различия показателей средней продолжительности жизни групп, получавших гидрохинон и 1,4-бензохинон, достоверны при  $p = 0,000037$ .

Определенный интерес представляют возможные механизмы обнаруженного в настоящем исследовании антигипоксического действия 1,4-бензохинона и тимохинона. Тимохинон, по литературным данным, ингибирует окислительный стресс *in vitro* и *in vivo* на различных экспериментальных моделях атеросклероза, метаболического синдрома, воспаления, цитотоксичности [4, 5]. Тимохинон ингибирует NF- $\kappa$ B и p53-зависимые процессы, а также повышает экспрессию супероксид дисмутазы 1, каталазы, глутатион пероксидазы 2 [4, 5]. Следует отметить, что однократного назначения препарата, примененного в нашем исследовании, было бы недостаточно для реализации перечисленных выше геномных эффектов. В целях активации геномных процессов адаптации следовало использовать индукционный режим введения.

В биохимических процессах хиноны могут существовать в трех формах окисленной (1,4-бензохинон), семихинон и восстановленной (гидрохинон). Для понимания возможных механизмов антигипоксического действия 1,4-бензохинона на рисунке 2 представлена схема окислительно-восстановительных превращений в системе бензохинон-семихинон-гидрохинон [6].

Известно, что превращения в системах бензохинон-семихинон-гидрохинон и бензохинон-гидрохинон протекают как с участием ферментов, так и неферментативно [6, 7]. Хиноны (бензохиноны) могут подвергаться биоредуктивной активации двумя путями — восстановлением одним или двумя электронами. Восстановление одним электроном дает семихинон, а восстановление двумя электронами



**Рисунок 2 — Окислительно-восстановительные превращения в системе бензохинон-семихинон-гидрохинон:**  
**Q — бензохинон; SQ<sup>•-</sup> — семихинон радикал анион; H<sub>2</sub>Q — гидрохинон; GSH — восстановленная форма глутатиона; GS-H<sub>2</sub>Q — глутатион-хинон; GSSG — окисленная форма глутатиона; GPx — глутатион-пероксидаза; GR — глутатион-редуктаза**

дает соответствующий гидрохинон. При нормальном уровне кислорода семихинон может окисляться до хинона, в процессе чего O<sub>2</sub> восстанавливается, приводя к образованию супероксидных анион-радикалов (O<sub>2</sub><sup>-</sup>). В отсутствие кислорода семихиноны, образующиеся в результате одноэлектронного восстановления, не могут окисляться до хинонов, что приводит к накоплению семихинона и меньшего количества гидрохинона [7]. Таким образом, 1,4-бензохинон и его производное семихинон являются акцепторами электронов, а семихинон дополнительно может служить источником активных форм кислорода. Указанные превращения можно считать одним из возможных механизмов влияния 1,4-бензохинона на биоэнергетику для обеспечения выживания клеток при гипоксии.

**Заключение.** Результаты исследования показали, что 1,4-бензохинон и тимохинон обладают антигипоксическим эффектом и могут рассматриваться в качестве возможных индивидуальных антигипоксантов, а также как компоненты в составе синергичных антигипоксических комбинаций и представляют интерес для дальнейших изысканий.

**Список цитированных источников**

1. Heart Disease and Stroke Statistics — 2018 Update: A Report from the American Heart Association / E. J. Benjamin [et al.] // *Circulation*. — 2018. — Vol. 137. — P. e67–e492.
2. Егорова, М. С. Современные цитопротекторы (антигипоксанты, антиоксиданты): в чем феномен популярности в кардиологии и неврологии? / М. С. Егорова, Ю. Ю. Гармаш // *Український медичний часопис*. — 2017. — № 1. — С. 72–76.
3. Potentiation of the hypoxic preconditioning effect by antihypoxants / V. E. Novikov [et al.] // *Rev. Clin. Pharm. and Drug. Therapy*. — 2019. — № 17. — P. 37–44.
4. Thymoquinone and its pharmacological perspective: A review / S. Tabassum [et al.] // *Pharm. Res. Mod. Chin. Medicine*. — 2021. — Vol. 1. — P. 100020.
5. Thymoquinone and its therapeutic potentials. / S. Darakhshan [et al.] // *Pharm. Res.* — 2015. — Vol. 95–96. — P. 138–158.
6. Modelling changes in glutathione homeostasis as a function of quinone redox metabolism / R. A. Kelly [et al.] // *Sci. Rep.* — 2019. — № 9. — P. 6333.
7. Wellington, K. W. Understanding cancer and the anticancer activities of naphthoquinones / K. W. Wellington // *RSC Adv.* — 2015. — № 5. — P. 20309–20338.

## **Antihypoxic effect of benzoquinone derivatives under hypercapnic hypoxia**

*Rashkevich O. S., Vauchok A. U.*

*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

Due to the high incidence of ischemic pathology and the insufficient effectiveness of its therapy, the search for agents that increase the resistance of cells and tissues to hypoxia is of great interest and is a very urgent task. One of the promising directions in the search for potential antihypoxic agents is quinone derivatives, which are known for their antioxidant properties and influence on the processes of energy generation in the cell. In this work, the antihypoxic effect of hydroquinone, 1,4-benzoquinone and thymoquinone after a single intraperitoneal injection to mice on a model of hypercapnic hypoxia in a hermetic volume was studied. The experimental groups received benzoquinone derivatives at a dose of 5 mg/kg, bemethyl at doses of 50 mg/kg and 100 mg/kg, meldonium at a dose of 50 mg/kg intraperitoneally once 40 minutes before the experiment in a volume of 0.1 ml/10 mg of body weight. It was found that 1,4-benzoquinone at a dose of 5 mg/kg has a significant antihypoxic effect, increasing the life time of animals by an average of 82 %, surpassing the reference drug bemethyl at a dose of 100 mg/kg (54 %) in this model. In our study, in the series hydroquinone — 1,4-benzoquinone, the oxidized form of benzoquinone had antihypoxic activity. A certain trend towards the antihypoxic effect of thymoquinone at a dose of 5 mg/kg was also established (an increase in life expectancy by 28 %). In another series of experiments was shown that the protective antihypoxic effect of 1,4-benzoquinone is not accompanied by detectable neurological disorders and does not lead to delayed death of animals. Thymoquinone and 1,4-benzoquinone may be of interest for further research as individual antihypoxic agents, as well as possible components in synergetic antihypoxic combinations.

**Keywords:** 1,4-benzoquinone, thymoquinone, hydroquinone, meldonium, bemethyl, hypoxia, hypercapnia, mice.

*Поступила 27.06.2022*