

М. В. Стасевич, В. І. Зварич, Д. Р. Спрейс, О. С. Яремкевич
Національний університет “Львівська політехніка”,
кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології,
maryna. v. stasevych@gmail. com

КОМП'ЮТЕРНЕ ПРОГНОЗУВАННЯ ТА ВЕРИФІКАЦІЯ АНТИОКСИДАТНОЇ АКТИВНОСТІ ЕКЗОФУНКЦІОНАЛІЗОВАНИХ ПОХІДНИХ 9,10-АНТРАХІНОНУ

<https://doi.org/10.23939/ctas2019.01.083>

Проведено комп'ютерне прогнозування фармакологічної активності ряду екзофункціоналізованих похідних 9,10-антрахінону з амінокислотними та тiazольними фрагментами з метою пошуку сполук з антиоксидантним ефектом за допомогою програм веб-ресурсу *Way2Drug*. Здійснено експериментальне тестування відібраних похідних у дослідженнях гепатоцитів *in vitro* на здатність пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) з визначенням вмісту тіобарбітурактивних (ТБК-активних) продуктів та окисної модифікації білка (ОМБ) через кількість утворених додаткових карбонільних груп (КГ) у бічних ланцюгах білків. Виявлено сполуки з антиоксидантною дією порівняно з контролем та в межах дії відомого антиоксиданту кверцетину за двома показниками оксидативного стресу ПОЛ та ОМБ серед досліджених похідних 9,10-антрацендіону, що спрогнозовані даними *in silico* прогнозу та узгоджуються із ними.

Ключові слова: 9,10-антрахінон, амінокислота, тiazол, *in silico* прогнозування, експериментальне тестування, антиоксидантна активність.

M. V. Stasevych, V. I. Zvarych, D. R. Spreis, O. S. Yaremkevych
Lviv Polytechnic National University,
Department of Technology of Biologically Active Compounds, Pharmacy and Biotechnology

COMPUTER PREDICTION AND VERIFICATION OF ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF EXO-FUNCTIONALIZED DERIVATIVES OF 9,10-ANTHRAQUINONE

A computer-aided prediction of the pharmacological activity of a number of exo-functionalized derivatives of 9, 10-anthraquinone with amino acid and thiazole fragments for the search of compounds with antioxidant effect using the programs of the web resource *Way2Drug* was carried out. Experimental testing of selected derivatives in *in vitro* hepatocyte studies on the ability of peroxide oxidation of lipids (POL) was carried out by determining the content of thiobarbituric (TBC-active) products. The oxidative modification of the protein (OMP) was determined by the number of formed additional carbonyl groups (CG) in the side chains of proteins. Compounds with antioxidant action in comparison with the control and within the limits of the known antioxidant quercetin according to two indicators of oxidative stress POL and OMP were detected among the studied 9,10-anthraquinone derivatives. It was predicted using the *in silico* prediction.

Key words: 9, 10-anthraquinone, amino acid, thiazole, *in silico* prediction, experimental testing, antioxidant activity.

Вступ

Антиоксидантна активність є однією з основних характеристик речовин, зокрема лікарських субстанцій, дослідженню якої

приділена велика кількість робіт. Головною задачею антиоксиданта є вловлювання продуктів вільнорадикальних процесів, які можуть атакувати життєво необхідні мішені в живій

клітині та призводити до різних патологічних процесів, якщо природний механізм нездатний впоратися з їх нейтралізацією. Окиснювальний стрес, що приводить до різкої інтенсифікації вільнорадикальних процесів в організмі, є наслідком посиленого утворення активних форм кисню (АФК), до яких відносять синглетний кисень, супероксидрадикал, гідроксилрадикал, аніонрадикал, продукти неповного відновлення атомарного кисню, озон, пероксинітрит [1]. Оскільки АФК мають високу реакційну здатність, вони вступають у взаємодію з рядом компонентів клітин, зокрема ліпідами, білками, нуклеїновими кислотами, вуглеводами, спричиняючи структурні та метаболічні зміни.

Посилення вільнорадикального окиснення в організмі спостерігається при багатьох хворобах. Доведений вплив вільнорадикальних механізмів у патогенезі різних видів онкозахворювань, атеросклерозу і його тромбонекротичних наслідків (інфаркт, інсульт), цукрового діабету, хронічних неспецифічних захворювань легень, захворювань репродуктивної системи, а також променевого ураження, гепатиту, зниження клітинного і гуморального імунітету, інтоксикації мембранними отрутами, тощо. Тому в останні роки ведеться постійний пошук антиоксидантів – як природних, так і синтетичних, які все ширше входять в клінічну практику, знайшовши застосування в різних сферах медицини – від хірургії до психіатрії.

Дослідження щодо перетворення антиоксидантів у живих клітинах в основному стосуються препаратів, які давно використовуються в клінічній практиці, таких як вітаміни, фенольні сполуки, карбонові кислоти, амінокислоти та ін. [2]. Класичним представником антиоксидантів є токоферол, який застосовують для лікування захворювань, спричинених аутоокисненням (атеросклероз, цукровий діабет, бронхолегенева патологія, порушення роботи репродуктивної системи). Також широке застосування у медицині як антиоксидант має дибунол (2,6-дитрет-бутил-4-метил-фенол), який використовують у кардіології для лікування атеросклерозу, наслідків тромбонекротичних станів, а також в онкології, зокрема, в терапії раку сечового міхура. Також відомим антиоксидантом є одержаний синтетичним шляхом пробукол

(структурна похідна дибунолу 4,4-(ізопропілендитіо)-біс-2,6-дитребутилфенол). Серед природних антиоксидантів чільне місце займають препарати женьшеню та елеутерококу, активні компоненти яких підвищують стійкість організму до охолодження, перегрівання, різних травм, інтоксикацій тощо. Аскорбінова кислота як антиоксидант широко застосовується у клінічній практиці для лікування ряду стоматологічних патологій (пародонтиту, гінгівіту, стоматиту, карієсу). Рутин та кверцетин, як антиоксиданти прямої дії, використовують при різноманітних кардіологічних захворюваннях. Інший препарат такої ж дії емоксипін (похідна 3-оксипіридину) є ефективним при швидкому надмірному наростанні вільнорадикальних процесів, тому призначається при гострій променевої хворобі, під час впливу світла високої інтенсивності, при захворюваннях порожнини рота. Нещодавно одержаний синтетичний препарат з антиоксидантною дією мексидол підвищує резистентність організму до киснезалежних патологічних станів (шок, гіпоксія, ішемія, порушення мозкового кровообігу, інтоксикація алкоголем і нейролептиками), тому його призначають при серцево-судинній патології та захворюваннях печінки. Тіотриазолін – давно відомий синтетичний протектор, який застосовують широко у клінічній практиці завдяки здатності активувати антиоксидантну систему організму та гальмувати процеси перекисного окиснення ліпідів при печінкових та серцево-судинних патологіях. Як антиоксиданти непрямої дії в терапії різних патологічних станів використовують ліпоеву кислоту (6,8-дитіооктанову кислоту), метіонін, метилметіонінсульфоній, триметазидин, які виявляють антиоксидантну дію і нормалізують ліпідний обмін.

Хіноїдна система є структурним елементом багатьох природних біологічно активних молекул, як наприклад вітамінів К і Е, а також сполук, які безпосередньо залучені в окисний метаболізм, таких як кофермент Q10. Багато з антиоксидантів, знайдених у харчових продуктах, є хінонами (наприклад, флавоноїди та флавоноїди). До хіноїдних сполук відносяться похідні кверцетину (у фруктах і овочах), ресвератрол (у червоному вині), катехіни та епікатехін (у шоколаді та чаї), а також сполуки, отримані з амінокислот, таких

як тирозин і триптофан (гідрокситирозол, 5-гідрокситриптофан, і, звичайно, піролохінолінхінон) [3]. Головною перевагою хінонів є ароматична природа багатьох з них, що надає їм хімічну стабільність, необхідну для функціонування в окиснювальному середовищі, і здатність ефективно вступати в окисно-відновні реакції. Багато природних антрахінонів (хризопанол, емодин, алое-емодин, рейн, фізіоніт, обтузін, аурантіообтузін, руброфусарин, торахрисон і торалактон), виділених з рослин, проявляють антиоксидантні властивості [4, 5]. Серед синтетичних похідних 9,10-антрахінону виявлені сполуки з антиоксидантними властивостями [6–8], а деякі похідні досліджені одночасно на цитотоксичність та оксидативний стрес [9]. Також показано, що кількість і положення замісників в антрахіноновому кільці мають значний вплив на прояв антиоксидантної активності [10–12].

Підсумовуючи викладене вище, можна сказати, що в останні роки активізувалися дослідження з пошуку та розроблення нових антиоксидантів, які б володіли суттєвим гальмуючим впливом на активність продуктів вільнорадикальних процесів, які можуть стати як пусковим механізмом у розвитку багатьох захворювань, так і супроводжувати їх перебіг [13].

Тому *метою* роботи було провести пошук сполук з антиоксидантною активністю серед функціоналізованих амінокислотними та тiazольними фрагментами похідних 9,10-антрахінону з використанням верифікації результатів комп'ютерного прогнозування та експериментального тестування гепатоцитів *in vitro*.

Матеріали та методи досліджень

Для проведення комп'ютерного прогнозування біологічної активності був використаний веб-сервіс програми *PASS Online* веб-порталу *Way2Drug* [14]. Для отримання результатів прогнозу *Pa* у програмі вводилася структурна формула речовини як вихідна інформація, представлена у вигляді MOL або SDF файлу. Підготовка таких файлів проводилася за допомогою програми *ChemDraw* [15].

Експериментальне дослідження амінокислотних похідних 2-хлор-*N*-ацетаміду **2a-e** та тiazолів **3a-d** 9,10-антрахінону (рис. 1) проводили *in vitro* на гепатоцитах курячої печінки

у концентрації 10^{-6} М. Розморожені тканини були гомогенізовані у калій-фосфатному буфері у співвідношенні 1:10 (маса: об'єм). Визначення обох показників оксидативного стресу здійснювали в одній пробі. Кількість білка у пробах визначали за методом Лоурі [16]. Як контроль був використаний розчин ДМСО. Для порівняння були обрані відомий антиоксидант кверцетин та 1-аміно-9,10-антрахінон **1**. Дані досліджень обробляли статистично з врахуванням середніх арифметичних величин *M* та стандартної похибки середнього арифметичного *m* при *n*=3.

Методика дослідження показників оксидативного стресу у гомогенаті курячої печінки: пероксидного окиснення ліпідів і окисної модифікації білків. До 0,5 г подрібненої тканини курячої печінки додавали 5 мл калій-фосфатного буферу. До 0,3 мл одержаного гомогенату додавали 0,3 мл досліджуваного сполуку хіноїдної структури (10^{-6} М в розчині ДМСО), а для індукції ПОЛ додавали 0,3 мл 2,8 % розчину FeSO_4 і через 10 хв додавали 0,3 мл 4 % розчину H_2O_2 та інкубували 2 год. Реакцію зупиняли за допомогою 1,2 мл 40 % трихлороацетатної кислоти, котра одночасно осаджує білки, після чого проводили центрифугування протягом 10 хв при 5000 г. Визначення обох показників оксидативного стресу здійснювали в одній пробі – вміст тіобарбітурактивних продуктів визначали в супернатанті, а КГ – в осаді [17].

Методика визначення тіобарбітурактивних продуктів (ТБКАП). У відібраних зразках реакцією малонового діальдегіду з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) визначали вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ (малоновый діальдегід (МДА)). Принцип методу ґрунтується на активації ПОЛ іонами двовалентного заліза до рівня, який реєструється спектрофотометрично. При високій температурі в кислому середовищі МДА реагує з ТБК, утворюючи забарвлений триметиновий комплекс з максимумом поглинання $\lambda=532$ нм. Кількість білку у пробах визначали за методом Лоурі (Lowry, 1951). До 2 мл супернатанту додавали 1,5 мл 0,8 % розчину ТБК в 0,1 М HCl (рН = 2,5) та інкубували на водяній бані при температурі 95–100 °С протягом 60 хв. Після охолодження додавали 3 мл бутанолу, центрифугували впродовж 10

хвилин при 5000 г. Вимірювання екстинкції проводили у верхньому бутаноловому шарі при $\lambda = 532$ нм.

Методика визначення вмісту КГ білків.
Ступінь ОМБ визначали за кількістю утворених додаткових карбонільних груп у бічних ланцюгах амінокислот, вміст яких визначали в реакції з 2,4-динітрофенілгідрaziном [17]. Для визначення вмісту КГ білків до одержаних осадів, після центрифугування гомогенатів, додавали 1 мл 1 % 10 мМ розчину 2,4-динітрофенілгідрaziну на 2 М НСІ. Суміш розтирали і інкубували 1 год при кімнатній температурі, після чого центрифугували (10 хв, 5000 г). Осад тричі промивали 1 мл суміші етанолу та етил-ацетату (1:1) і центрифугували в попередньому режимі. Промитий осад розчиняли протягом 45 хв в 3 мл 50 % розчині сечовини. Нерозчинений матеріал відділяли центрифугуванням у попередньому режимі. В супернатантах визначали вміст КГ білків на спектрофотометрі "Specord M-40" при довжині хвилі $\lambda=370$ нм (поглинанням світла 2,4-дифенілгідразонами).

Результати досліджень та їх обговорення

Базуючись на попередніх даних прогнозування серед ряду похідних 9,10-антрахінону [18, 19], нами були обрані амінокислотні **2** [19] та тiazольні **3** [20] сполуки як об'єкти для комп'ютерного прогнозування (рис. 1) і верифікації отриманих даних за допомогою біологічних тестів з метою виявлення нових сполук з антиоксидантним ефектом. Як сполуки порівняння були взяті

відомий антиоксидант кверцетин та 1-аміно-9,10-антрахінон **1**, який є вихідною сполукою для одержання похідних **2** та **3**.

Комп'ютерне прогнозування біологічної активності було проведено в режимі онлайн-доступу програмою *PASS Online* (PASS Online, 2018) і отримані результати були проаналізовані щодо ймовірності механізму антиоксидантної дії (табл. 1) як поглиначка радикалів (*Radical Scavenger*), антигіпоксанта (*Antihypoxic*), поглиначка кисню (*Oxygen Scavenger*), агоністу утворення радикала (*Radical Formation Agonist*) та стимулятора каталази (*Catalase stimulant*).

Згідно з даними табл. 1 більшість прогнозованих активностей для досліджуваних сполук мають невеликі значення P_a ($P_a > 30\%$), проте це є свідченням новизни наших сполук порівняно з відповідними фармацевтичними агентами з навчальної вибірки *PASS*, що раніше спостерігалось для інших похідних 9,10-антрахінону [19]. Згідно з одержаними даними для всіх досліджених сполук прогнозується ймовірність дії як агоністу утворення радикала. Наявність амінокислотного залишку може дещо знижувати, а заміна на гетероцикл – незначно підвищувати цей показник. Показано, що введення амінокислотного фрагмента може сприяти деякому підвищенню антиоксидантної активності як поглиначка радикалів та антигіпоксанта, в той час як для гетероциклічних похідних **3** ці активності не прогножуються при $P_a > 0,3$ та *in silico* з'являється ймовірний механізм антиоксидантної дії як стимулятора каталази.

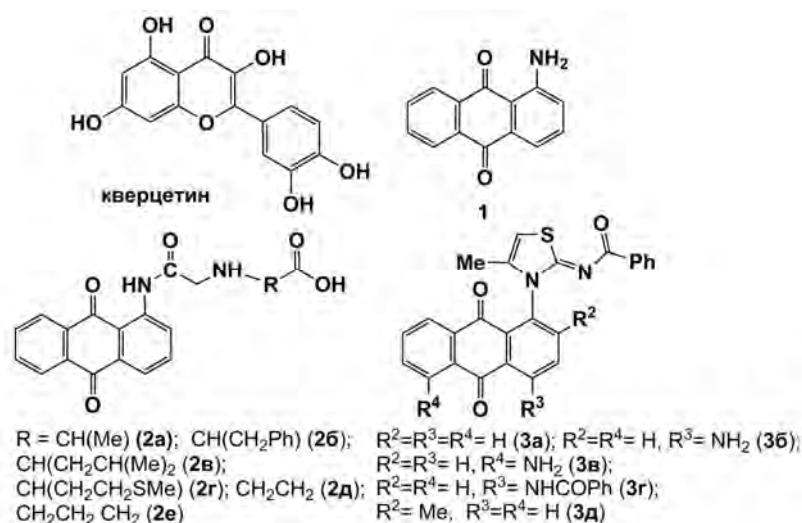


Рис. 1. Об'єкти для віртуального скринінгу і біологічного тестування антиоксидантної активності

Таблиця 1

Дані прогнозування антиоксидантної активності програмою *PASS Online* при $P_a > 0,3$

Сполука \ Активність	Oxygen scavenger	Antihypoxic	Radical formation agonist	Catalase stimulant
кверцетин	0,527	0,359	0,380	0,304
1	0,535	0,483	0,360	–
2б	0,591	0,447	0,314	–
2в	0,443	0,411	0,307	–
2д	0,399	0,398	0,303	–
2е	0,369	0,379	0,305	–
2з	0,511	0,426	0,308	–
2і	0,534	0,463	0,328	–
3а	–	–	0,377	0,375
3б	–	–	0,384	0,364
3в	–	–	0,384	0,364
3г	–	–	0,381	0,384
3д	–	–	0,369	0,363

“–” – фармакологічний ефект не виявлений при $P_a > 0,3$.

Для кверцетину прогноуються всі чотири типи антиоксидантної активності, що корелює з результатами відповідних експериментальних досліджень цієї активності [21, 22].

Таким чином, одержані результати комп'ютерного прогнозування вказують на необхідність досліджень цих сполук на антиоксидантний ефект.

Для експериментальної оцінки антиоксидантної дії α -, β - та γ -амінокислотних похідних **2а-е** та тіазолів **3а-д** (рис. 1) використані такі показники оксидативного стресу, як ПОЛ через визначення вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації – тіобарбітурактивних (ТБК-активних) продуктів [23] та ОМБ через кількість утворених додаткових карбонільних груп (КГ) у бічних ланцюгах білків [17].

Експериментальне тестування антиоксидантної активності амінокислотних похідних 2-хлор-*N*-ацетаміду 9,10-антрахінону **2а-е** у процесах ПОЛ показало (рис. 2), що досліджувані сполуки спричиняють незначне зростання рівня ТБК-активних продуктів (ТБКАП), а саме **2а, б** на (11,4 \pm 2,4) % та (10,6 \pm 6,7) % відповідно, а **2д** на (16,9 \pm 7,5) %. Похідні **2в, г, е** у порівнянні з контролем проявляють антиоксидантні властивості, оскільки вони ведуть до зменшення утворення вмісту продуктів вільнорадикального окиснення ліпідів на (5,8 \pm 3,0) %, (24,9 \pm 5,6) % та (33,3 \pm 7,7) % відповідно. Сполуки **2в, г, е** проявляють більш виражений антиоксидантний ефект, ніж вихідна сполука **1**, та є активнішими за кверцетин.

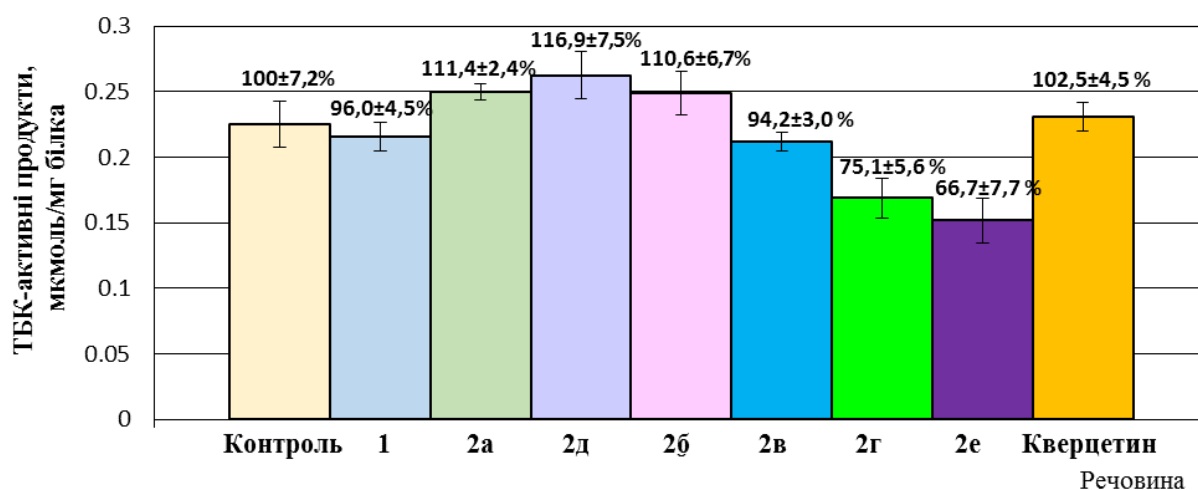


Рис. 2. Вміст ТБК-активних продуктів у гомогенаті курячої печінки за умови дії похідних **2**

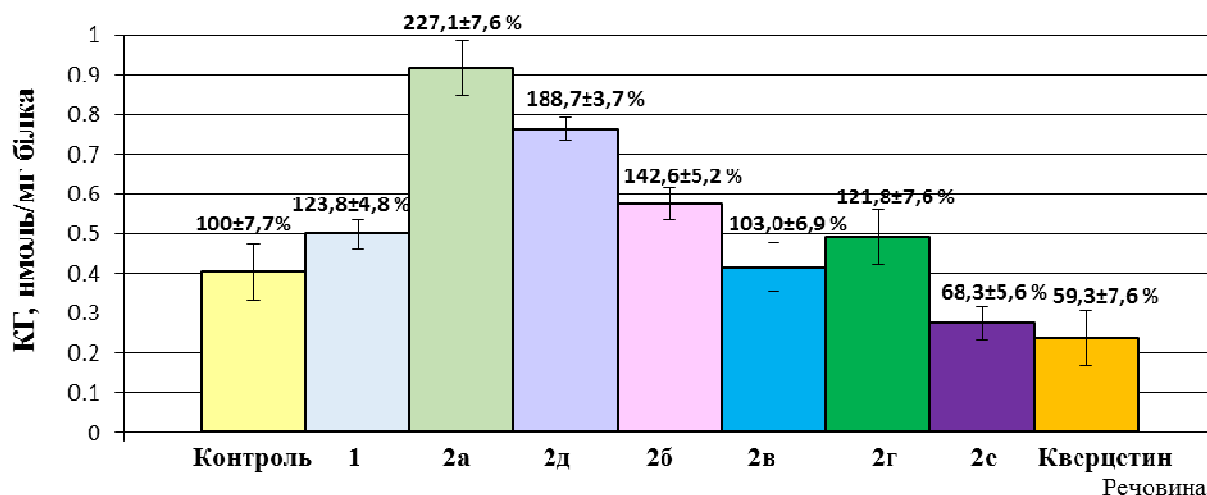


Рис. 3. Вміст КГ у гомогенаті курячої печінки за умови дії амінокислотних похідних 2

Дослідження окисної модифікації білка за показником вмісту КГ у гомогенаті курячої печінки за умови впливу досліджуваних похідних з амінокислотними залишками 2 (рис. 3) дозволило встановити, що при дії похідних 1, 2а, 2д, 2б та 2г спостерігається зростання кількості утворення КГ на (23,8±4,8) %, (127,1±7,6) %, (88,7±3,7) %, (42,6±5,2) %, (21,8±7,6) %, відповідно. Для сполуки 2в виявлена дія в межах контролю (3±6,9 %), яка порівняно з контролем не впливає на процеси утворення вільних радикалів у білках. За дії похідної 2е відбувається зменшення вмісту КГ у порівнянні з контролем на 31,7±5,6 %. Вплив даної сполуки на вміст КГ у гомогенаті курячої печінки наближається до кверцетину, що

свідчить про її високу антиоксидантну властивість.

Таким чином, експериментальне тестування амінокислотних похідних 9,10-антрацендіону 2а-е виявило сполуки 2в та 2е, які проявляють антиоксидантні властивості. Серед них слід відмітити похідну 2е, для якої за двома показниками окисативного стресу показане зменшення утворення ТБК-активних продуктів та КГ, що є свідченням зниження процесів пероксидного окиснення ліпідів та окисної модифікації білка. Також визначено, що заміна фрагмента α-амінокислоти з розгалуженим алкільним залишком на γ-амінокислотний веде до збільшення антиоксидантної активності, знижуючи досліджені показники ОМБ та ПОЛ.

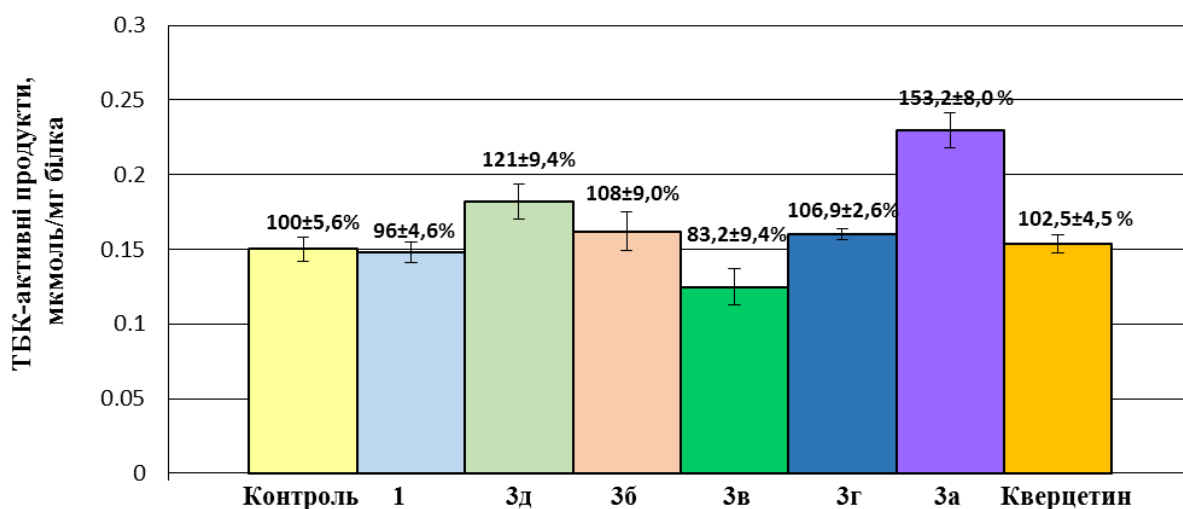


Рис. 4. Вміст ТБК-активних продуктів у гомогенаті курячої печінки за умови дії 3а-д

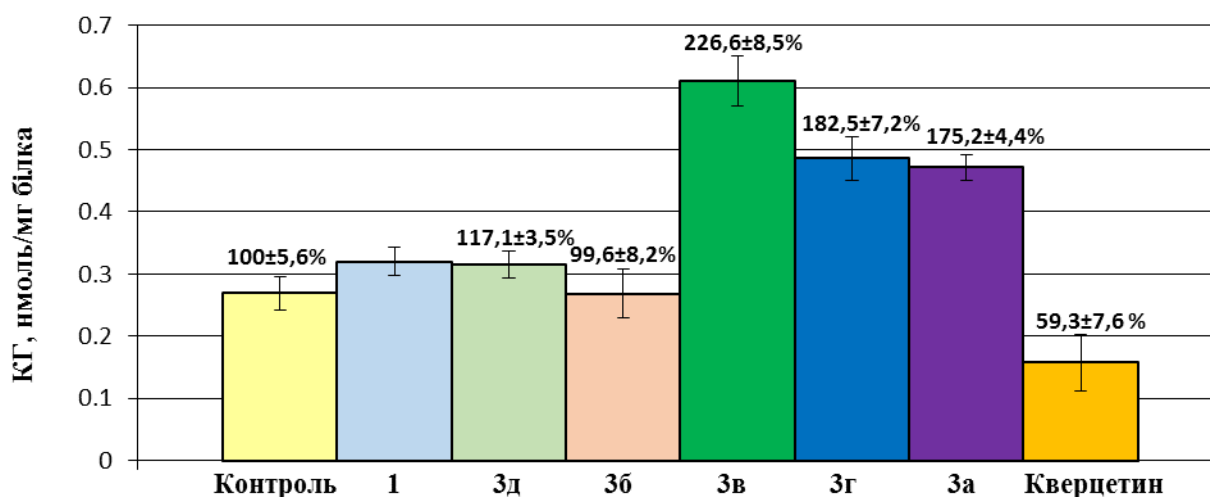


Рис. 5. Вміст КГ у гомогенаті курячої печінки за умови дії 3а-д

Дослідження антиоксидантного ефекту за умов впливу тіазолів 9,10-антрацендіону **3а-д** на зміни кількості ТБК-активних продуктів (рис. 4) встановило, що сполуки **3а** та **3д** порівняно з контролем кверцетином та аміноантрахіноном **1** спричиняють суттєве підвищення ТБКАП, тим самим активуючи процеси ПОЛ і викликаючи негативні зміни у клітинному метаболізмі. Як сполука з антиоксидантною активністю з високим ступенем достовірності відзначена похідна **3в**, для якої вміст ТБКАП є меншим за контроль на (16,8±9,4) %, а для сполук **3б**, г знаходиться в його межах (7–8 %). За цим показником сполуки **3б**, г наближаються до дії кверцетину (рис. 4). Встановлено, що введення аміногрупи або ацильного залишку у положення 4 та 5 до антрахінонового кільця приводить до підвищення антиоксидантної дії у порівнянні з незаміщеною похідною **3а**, в той час як присутність метильної групи у положенні 2 спричиняє збільшення вмісту ТБКАП.

Результати тестування гетероциклічних похідних **3а-д** на вільнорадикальні процеси у білках показали, що для сполук **3а**, **в**, **г**, **д** спостерігається зростання процесів ОМБ за рахунок підвищення утворення додаткових КГ (рис. 5) у бічних ланцюгах амінокислот у порівнянні з контролем на (75,2±4,4) %, (126,6±8,5) %, (82,5±7,2) %, (17,1±3,5) %, відповідно. Було визначено вплив замісників у молекулі антрахінону на вміст КГ у гомогенаті курячої печінки, який показав, що присутність аміногрупи у положенні 4 веде до появи

антиоксидантної активності. Тому з ряду досліджених сполук за показником впливу на утворення КГ слід відмітити лише тіазольну похідну **3б**, для якої характерна дія в межах контролю за показником вмісту карбонільних груп (–0,4 %), в той час як за антиоксидантною активністю досліджена сполука поступається кверцетину.

Також слід зауважити, що наявність аміногрупи у положенні 1 9,10-антрахінону **1** у дослідах (рис. 2–5) щодо пероксидного окиснення ліпідів та окисної модифікації білка за показниками вмісту ТБКАП та КГ поступається кверцетину за антиоксидантним ефектом, спричиняючи прооксидантну дію.

Висновки

Отримані результати проведених досліджень з використанням *in silico* та *in vitro* методів дозволили виявити перспективні речовини, а саме похідні 9,10-антрахінону **2а**, **2в**, **2е** з вираженою антиоксидантною активністю за двома показниками оксидативного стресу ПОЛ та ОМБ порівняно з контролем та в межах дії відомого антиоксиданту кверцетину. Експериментальна валідація *in silico* одержаних даних показує, що для кверцетину ($P_a=0,527$) та амінокислотних похідних **2в** ($P_a=0,399$) та **2е** ($P_a=0,534$) спостерігається досить висока узгодженість із результатами комп'ютерного прогнозування, в той час як для тіазолу **3б** експериментально досліджена незначна антиоксидантна активність не прогнозувалася при $P_a>0,3$, проте це є свідченням новизни цих структур для робочої вибірки

програми *PASS Online*. Експериментально визначено, що *N*-функціоналізація ациламіно-кислотними та тіазольними залишками дозволяє в деяких випадках знизити утворення активних форм кисню (АФК) та ініційовані ними вільнорадикальні процеси. Були встановлені деякі залежності між структурою та дією досліджених сполук. Зокрема, виявлено, що при модифікації аміногрупи 9,10-антрацендіону *N*-ацильним фрагментом із залишками аланіну, фенілаланіну, лейцину, метіоніну, γ -аміномасляної кислоти на прояв антиоксидантного ефекту суттєвим є вплив лінійності алкільного ланцюга та кількості метиленових ланок між карбоксильною та аміногрупою в молекулі амінокислоти. Перефункціоналізація аміногрупи 9,10-антрацендіону в тіазольний цикл за наявності NH_2 -групи у положенні 4 веде до підвищення антиоксидантного ефекту та наближення її дії до кверцетину. Проведені дослідження є важливими для медичної хімії, оскільки дозволяють виокремити найперспективніші сполуки з вираженою антиоксидантною або відсутньою дією на метаболізм клітин та організм в цілому. В свою чергу, наявність антиоксидантних властивостей досліджених сполук дозволяє їх розглядати як потенційні об'єкти для подальших досліджень, зокрема як антитромботичних та протипухлинних субстанцій.

Література

1. Владимиров, Ю. А. (2000). Свободные радикалы в биологических системах. *Сорос. обр. журн.*, 2, 13–19.
2. Новиков, В. Е., & Левченкова О. С. (2013). Новые направления поиска лекарственных средств с антигипоксической активностью и мишени их действия. *Экспериментальная и клиническая фармакология*, 76(5), 37–47.
3. Cadenas, E., Hochstein, P., Ernster, L. (1992). Pro- and Antioxidant Functions of Quinones and Quinone Reductases in Mammalian Cells. *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol Biol.*, 65, 97–146. doi: 10.1002/9780470123119.ch3
4. Duke, J. A. (1992). Handbook of phytochemical constituents of GRAS herbs and other economic plants. *Boca Raton, FL: CRC Press* (pp. 143–144).
5. Storozhok, N. M., Drulle, A., Login, I., Dregeris, I., Khrapova, N. G., & Burlakova, E. B. (1995). Antioxidant activity of natural and synthetic quinones. *Vopr. Med. Khim.*, 41(1), 16–21. Retrieved from
6. Yen, G., Duh, P., & Chuang, D. (2000). Antioxidant activity of anthraquinones and anthrones. *Food Chem.*, 70(4), 437–441. doi: 10.1016/S0308-8146(00)00108-4
7. Marković, Z., Filipović, M., Manojlović, N., Amić, A., Jeremić, S., & Milenković, D. (2018). QSAR of the free radical scavenging potency of selected hydroxyanthraquinones. *Chem. Pap.*, 72, 2785–2793. doi: 10.1007/s11696-018-0534-3
8. Liu N., Sun G. (2011). Production of Reactive Oxygen Species by Photoactive Anthraquinone Compounds and Their Applications in Wastewater Treatment. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 50(9), 5326–5333. doi: 10.1021/ie101423v
9. Lin, L., & Du, H. (2018). An anthraquinone compound and its protective effects against homocysteine-induced cytotoxicity and oxidative stress. *Spectrochimica Acta – Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 202, 314–318. doi: 10.1016/j.saa.2018.05.058
10. Marković, Z., Jeremić, S., Dimitrić Marković J., Stanojević Pirković M., & Amić, D. (2016). Influence of structural characteristics of substituents on the antioxidant activity of some anthraquinone derivatives. *Comput. Theor. Chem.*, 1077, 25–31. doi: 10.1016/j.comptc.2015.10.004
11. Zvarych, V., Stasevych, M., Lunin, V., Deniz, N. G., Sayil, C., Ozyurek, M., Guclu, K., Vovk, M., & Novikov, V. (2016). Synthesis and investigation of antioxidant activity of the dithiocarbamates derivatives of 9,10-anthracenedione. *Monatshefte für Chemie – Chemical Monthly*, 147(12), 2093–2101. doi: 10.1007/s00706-016-1839-y.
12. Stasevych, M., Zvarych, V., Lunin, V., Kopak, N., Komarovska-Porokhnyavets, O., Deniz, N. G., Sayil, C., Ozyurek, M., Guclu, K., Vovk, M., & Novikov, V. (2018). Synthesis, investigation of antimicrobial and antioxidant activity of anthraquinonylhydrazones. *Monatshefte für Chemie – Chemical Monthly*, 149, 1111–1119. doi: 10.1007/s00706-018-2157-3.
13. Shakhmardanova, S. A., Gulevskaya, O. N., Seletskaya, V. V., Zelenskaya, A. V., Khananashvili, Y. A., Nefedov, D. A., & Galenko-Yaroshevsky, P. A. (2016). Antioxidants: classification, pharmacological properties the use in the practice of medicine antioxidants: classification, pharmacological properties the use in the practice of medicine. *Journal of fundamental medicine and biology*, 3, 4–15.
14. *PASS Online*, 2018. <http://www.way2drug.com/PASSOnline/index.php> (accessed 22 February 2018).
15. Chemaxon, <http://www.chemaxon.com>, 2018. (accessed 21 February 2018).
16. Lowry, O. H., Rosebrough, N. G., Farr, A. L., & Randall, R. C. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193(1), 265–275.
17. Лушак, В. І, Багнюкова, Т. В., & Лушак, О. В. (2004). Показники оксидативного стресу.

1. Тиобарбітурат-активні продукти і карбонільні групи білків. *Укр. біохім. журн.*, 3, 136–141.
18. Стасевич, М. В., Зварич, В. І., Луїнін, В. В., Копак, Н. А., Новіков, В. П. (2017). Прогнозування *in silico* біологічної активності перифункціоналізованих похідних аміно-9,10-антрацендіонів. *Вісник Національного університету „Львівська політехніка”, Хімія, технологія речовин та їх застосування.*, 868, 203–215.
19. Zvarych, V. I., Stasevych, M. V., Stanko, O. V., Komarovskaya-Porokhnyavets, E. Z., Poroikov, V. V., Rudik, A. V., Lagunin, A. A., Vovk, M. V., & Novikov, V. P. (2014). Computerized Prediction, Synthesis, and Antimicrobial Activity of New Amino-Acid Derivatives of 2-Chloro-N-(9,10-Dioxo-9,10-Dihydroanthracen-1-yl) Acetamide. *Pharm. Chem. J.*, 48(9), 584-588. doi: 10.1007/s11094-014-1154-z
20. Stasevych, M. V., Zvarych, V. I., Stan'ko, O. V., Vovk, M. V., & Novikov, V. P. (2014). Synthesis of 2-(N-benzoylimino)-N-(9,10-dioxo-9,10-dihydroanthracen-1-yl) thiazoles. *Chem. Heterocycl. Compd.*, 49, 1831-1833. doi: 10.1002/chin.201434164
21. Кулагин, О. Л., Куркин, В. А., Додонов, Н. С., Царёва, А. А., Авдеева, Е. В., Куркина, А. В., Дремова, Е. А., & Сатдарова, Ф. Ш. (2007). Антиоксидантная активность некоторых фитопрепаратов, содержащих флавоноиды и фенилпропаноиды. *Фармация*, 55(2), 26–31.
22. Куркин, В. А., Кулагин, О. Л., Додонов, Н. С., Царёва, А. А., Авдеева, Е. В., Барабаш, С. В., Ляшенко, М. В., Куркина, А. В., Дрёмова, Е. А., Сатдарова, Ф. Ш., & Рыжов, В. М. (2008). Антиоксидантная активность некоторых тонизирующих и гепатопротекторных фитопрепаратов, содержащих флавоноиды и фенилпропаноиды. *Растительные ресурсы*, 44(1), 122–129.
23. Тимирбулатов, Р. Р., Селезнев, Е. И. (1981). Методы повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидосодержащих компонентов крови и его диагностическое значение. *Лаб. Дело*, 4, 209–211.