

## АНТИГЛИКИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ ИЗОИНДОЛА И ЕЕ ПРЕДСКАЗАНИЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭНЕРГИЙ ГРАНИЧНЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ОРБИТАЛЕЙ

© 2024 г. У. М. Ибрагимова<sup>a</sup>, Н. В. Валуйский<sup>a</sup>, С. А. Сорокина<sup>a</sup>,  
К. И. Жукова<sup>a</sup>, В. Р. Райберг<sup>a</sup>, Р. А. Литвинов<sup>a, b, \*</sup><sup>a</sup>Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, 400066<sup>b</sup>Волгоградский медицинский научный центр, Волгоград, 400066

\*e-mail: litvinov.volggmu@mail.ru

Поступила в редакцию 05.06.2024 г.

После доработки 18.06.2024 г.

Принята к публикации 21.06.2024 г.

Внеклеточный матрикс обеспечивает механическую поддержку клеток и участвует в регуляции клеточной активности. Нарушение функций внеклеточного матрикса при метаболических отклонениях или старении может приводить к развитию заболеваний. Разработка протекторов внеклеточного матрикса актуальна для этиотропной профилактики и лечения патологий, связанных с изменением внеклеточного матрикса. Ключевыми механизмами формирования патологических изменений во внеклеточном матриксе являются неэнзиматические реакции, такие как гликирование и гликоксидация. Перспективность потенциальных протекторов внеклеточного матрикса можно оценить по их способности ингибировать гликирование и гликоксидацию. Изучена способность соединений на основе гетероциклических скаффолдов, содержащих частично гидрированный изоиндольный фрагмент, замедлять образование конечных продуктов гликирования. Исследование проведено методами *in silico* и *in vitro*. В ходе исследования *in silico* с применением метода *ab initio* с базисным набором функций 6-311G(d, p) мы определили энергии граничных молекулярных орбиталей соединений. Затем оценили их антигликирующую активность в реакции гликирования бычьего сывороточного альбумина глюкозой (альбумин рассматривали в качестве модельного белка). В качестве соединения сравнения использовали пиридоксамин. Антигликирующую активность соединений оценивали спектрофлуориметрически путем измерения флуоресцирующих продуктов при длинах волн возбуждения/испускания 440/520 нм (обычно не используемых для оценки антигликирующих свойств). Использование этих длин волн позволяет выявлять продукты гликирования и окисления в коже человека, количество которых, в отличие от некоторых других продуктов гликирования, коррелирует с календарным возрастом. Экспериментально установлено, что значения энергий граничных молекулярных орбиталей могут служить предикторами способности соединений замедлять образование флуоресцирующих продуктов, определяемых при длинах волн возбуждения/испускания 440/520 нм. Ингибирование образования указанных флуоресцирующих продуктов может иметь значение для лечения и профилактики заболеваний, в том числе метаболических, фиброзирующих или возрастных. Установлено также, что антигликирующие свойства наиболее выражены в ряду гидрированных 3а,6-эпоксиизоиндола-7-карбоновых кислот (соединения типа XIII) и циклопента[b]фуоро[2,3-с]пиррола-3-карбоновых кислот (структуры типа XIX), взятых в концентрации 100 мкМ.

**Ключевые слова:** гликирование, гликоксидация, внеклеточный матрикс, альбумин, циклопента[b]фуоро[2,3-с]пиррол, 3а,6-эпоксиизоиндол

DOI: 10.31857/S0026898424060153, EDN: IACGIA

## ВВЕДЕНИЕ

Внеклеточный матрикс выполняет множество функций, включая каркасную (поддержка клеток), регуляторную (регуляция пролиферативной и секреторной активности, влияние на дифференцировку, миграцию и апоптоз), барьерную и др. [1–3]. Нарушение организации внеклеточного матрикса способно негативно влиять на со-

стояние находящихся в нем клеток, что на уровне организма проявляется развитием патологий и наблюдается при наследственных заболеваниях (например, при синдроме Марфана), метаболических патологиях (сахарный диабет), в ходе старения и при фиброзирующих болезнях [4–8]. Повреждение внеклеточного матрикса может быть приобретенным, сформированным в результате

неэнзиматических посттрансляционных модификаций его белков. К важным повреждающим механизмам относятся гликирование, гликоксидация и др. [7, 9]. Реакция гликирования стимулирует окислительный стресс, усиление воспаления. Образование конечных продуктов гликирования (КПГ) во внеклеточном матриксе влияет на его структурные и механические свойства, а сами КПГ относятся к молекулярным паттернам, ассоциированным с повреждением (DAMP) [10–12].

Соединения, способные ингибировать гликирование и образование КПГ, могут рассматриваться в качестве этиотропных средств профилактики/лечения некоторых заболеваний, связанных с повреждением внеклеточного матрикса, в том числе фиброзирующих, поздних осложнений сахарного диабета, воспалительных заболеваний и др. Альбумины, особенно бычий сывороточный альбумин (БСА), часто служат модельными белками в различных исследованиях, включая фармакологические [13, 14]. Благодаря универсальной природе гликирования, а также высокой степени изученности и хорошей водорастворимости, альбумины могут использоваться в качестве модельных белков при разработке антигликаторов, служащих протекторами внеклеточного матрикса.

Индол и изоиндол рассматриваются в качестве основы для поиска и направленного конструирования протекторов внеклеточного матрикса. Производные индола и изоиндола обладают антиоксидантными [15], антигликирующими свойствами [16]. Кроме того, производные индола способны снижать вызванную КПГ активацию циклооксигеназы-2 (COX-2) и продукцию простагландина  $E_2$  ( $PGE_2$ ), благодаря подавлению связи КПГ-АФК-NF- $\kappa$ B [16]. Результаты настоящего исследования дают представление о способности производных изоиндола ингибировать образование продуктов, флуоресцирующих на длинах волн возбуждения/испускания 440/520 нм, возникающих в реакции глюкозы с БСА. Это позволяет оценить перспективы применения соединений в качестве средств защиты внеклеточного матрикса.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Объекты исследования.** Скаффолды с фрагментом изоиндола и других азотистых гетероциклов синтезированы по известным методикам [17–25]. Морфолины, пиперидины и гидрированные изоиндолы I–VI получены согласно [17–20]. 5-Метилизоиндоло[2,1-*a*]хинолин-5-оны VII–X синтезированы по [21–23]. 3-Аллил-1-оксо-1,2,3,6,7,7а-гексагидро-3а,6-эпоксиизоиндол-7-карбоновые кислоты XI–XVI получены согласно [24, 25]. Эфиры 4-оксо-2-винил-3,3а,4,5,5а,6-гексагидро-2*H*-циклопента[b]

фура[2,3-*c*]пиррол-3-карбоновых кислот XVII–XIX получены по методикам, описанным в [26].

Ряд субстанций IV, V, XI–XVI использовали в виде диастереомерных смесей с соотношением пространственных изомеров, близким к 50/50.

Субстанции IV–XIX для проведения биологического скрининга очищали путем кристаллизации из смесей гексан/этилацетат или *i*PrOH/DMF. Гетероциклы I–III очищали фракционированием при пониженном давлении. Строение и индивидуальность образцов контролировали, сравнивая экспериментальные  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектры с опубликованными данными [17–26].

**Расчет энергий молекулярных орбиталей.** Построение оптимальных 3D-моделей исследуемых соединений выполняли в несколько этапов. На предварительном этапе – путем минимизации энергии через вращение торсионно-подвижных связей с использованием программного обеспечения Chem3D (Dihedral Driver). Затем геометрию молекул последовательно оптимизировали с использованием метода молекулярной механики MM<sup>+</sup>, полуэмпирического метода PM3, метода *ab initio* с базисным набором функций 6-31G(d, p) с помощью программного обеспечения HyperChem. Энергии граничных  $\alpha$  и  $\beta$  молекулярных орбиталей ( $E_{\text{HOMO}}$  и  $E_{\text{LUMO}}$ ) оптимизированных конформаций вычисляли методом *ab initio* с базисным набором функций 6-311G(d, p). Используя результаты расчета, определяли разницу в значениях энергий  $E_{\text{HOMO}}$  и  $E_{\text{LUMO}}$ . Энергетическая щель  $\Delta E_{\text{HOMO-LUMO}}$  представляет собой классический параметр в квантово-химических расчетах и обычно обозначает наименьшее возможное электронное возбуждение в молекуле.

**Оценка антигликирующей активности.** Согласно механистическому взгляду на гликирование/гликоксидацию, пути реакции, зависимые от процессов окисления (окислительный распад продуктов Амандори, образование некоторых карбонильных соединений), тесно сопряжены с процессами, способными протекать в отсутствие окисления [27]. В настоящей работе для упрощения все события, приводящие к образованию флуоресцирующих конечных продуктов взаимодействия глюкозы и альбумина, объединены термином “реакция гликирования”. Соответственно, сами продукты обозначены как “конечные продукты гликирования”.

Реакция гликирования проведена в фосфатном буферном растворе pH 7.4. Состав реакционной среды: 0.36 М глюкоза и 1 мг/мл БСА (фракция V). Объем реакционной среды в каждой пробе составлял 900 мкл. Исследуемые соединения растворяли в 99%-ном диметилсульфоксиде (ДМСО)

и вносили в реакционную среду в объеме, равном 30 мкл (конечная концентрация ДМСО в реакционной среде ~3%). Определяли активность соединений в концентрации 100 мкМ. Контрольные пробы содержали эквивалентный объем растворителя без соединений. В качестве соединения сравнения использовали пиридоксамин. Образцы инкубировали в течение 24 ч при 60°C.

Конечные продукты реакции определяли спектрофлуориметрически при длинах волн возбуждения/испускания 440/520 нм (спектрофлуориметр M 200 PRO, "TECAN", Австрия). Учитывая, что при использованных нами длинах волн возбуждения/испускания удастся зарегистрировать конечные продукты "гликирования и окисления" [28], накапливающиеся в коже с возрастом, нельзя исключать их образования и в ходе реакции гликирования *in vitro*. Эти продукты, хотя они и не охарактеризованы, обоснованно рассматриваются как связанные с реакциями гликирования и окисления, что с определенным допущением позволяет моделировать процессы, характерные для старения.

С целью исключения ложноположительных результатов для соединений, подавляющих флуоресценцию образующихся КППГ за счет интерференции, проводили логарифмическое нормирование получаемых значений по формуле 1:

$$\text{Flu}(\lg) = 10^{(\lg(\text{Exp}) - \lg(\text{Blank}))} - 1, \quad (1)$$

где Flu(lg) – нормированная интенсивность флуоресценции КППГ, lg(Exp) и lg(Blank) – десятичные логарифмы фактических уровней флуоресценции гликированных и соответствующих им негликированных проб.

Нормирование значений, получаемых для прочих соединений (не способных к интерференции или умеренно флуоресцирующих при используемых длинах волн возбуждения/испускания), проводили по формуле 2:

$$\text{Flu}(\text{lin}) = \text{Exp} - \text{Blank}, \quad (2)$$

где Flu(lin) – нормированная интенсивность флуоресценции КППГ, Exp и Blank – фактические уровни флуоресценции гликированных и соответствующих им негликированных проб.

Активность соединений, выраженную как % снижения флуоресценции КППГ в опытных пробах в сравнении с контролем, определяли по формуле 3:

$$\% = 100 - (\text{Flu}(\text{Exp}) \times 100 / \text{Flu}(\text{Contr})), \quad (3)$$

где Flu(Exp) и Flu(Contr) – предварительно нормированные интенсивности флуоресценций КППГ опытных и контрольных проб соответственно.

Статистическую значимость различий опытных и контрольных проб оценивали с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с пост-тестом Тьюки (при уровне значимости  $p \leq 0.05$ , GraphPad Prism 7.0). Корреляцию между результатами исследований *in silico* и *in vitro* оценивали с помощью метода ранговой корреляции Спирмена (GraphPad Prism 7.0). Основные статистические характеристики получены с применением Microsoft Excel.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для исследования был выбран пул соединений, представляющий собой ряд пяти-шестичленных гетероциклов с постепенно возрастающей молекулярной сложностью. Структурным мотивом, присутствующим практически во всех объектах, за исключением простейших уретанов I–III, является фрагмент изоиндола. Известно, что изоиндольное ядро [29] встречается во многих природных субстанциях [30, 31]. Производные изоиндола проявляют широчайший спектр биологической активности, включая методы ранговой корреляции Спирмена (GraphPad Prism 7.0). Основные статистические характеристики получены с применением Microsoft Excel.

Структуры соединений представлены на рис. 1.

### Результат расчета энергий молекулярных орбиталей

Согласно [36–38], значения энергий молекулярных орбиталей служат эффективными предикторами антигликирующей активности соединений. В данном исследовании для расчета энергий граничных молекулярных орбиталей использован метод *ab initio* и базисный набор функций 6-311G(d, p) [36]. Результаты расчета представлены в табл. 1. Данные дополнены рассчитанными значениями разностей  $E_{\text{HOMO}}$  и  $E_{\text{LUMO}}$  для  $\alpha$  и  $\beta$  орбиталей.

Показано, что соединения этого ряда имеют идентичные значения энергий  $\alpha$  и  $\beta$  орбиталей, которые, очевидно, могут взаимозаменяемо использоваться в прогнозировании активности.

### Результат исследования антигликирующих свойств соединений

Согласно [28], использованный нами диапазон длин волн возбуждения/испускания соответствует конечным продуктам "гликирования и окисления", определяемым в коже у лиц без сахарного диабета. В ходе исследования антигликирующих свойств соединений I–XIX в концентрации 100 мкМ данный вид активности выявлен у соединений VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII, XIX. Показано, что наивысшей активностью обладают соединения VIII и XIX – производные изоиндола[2,1-*a*]хинолина и цикло-

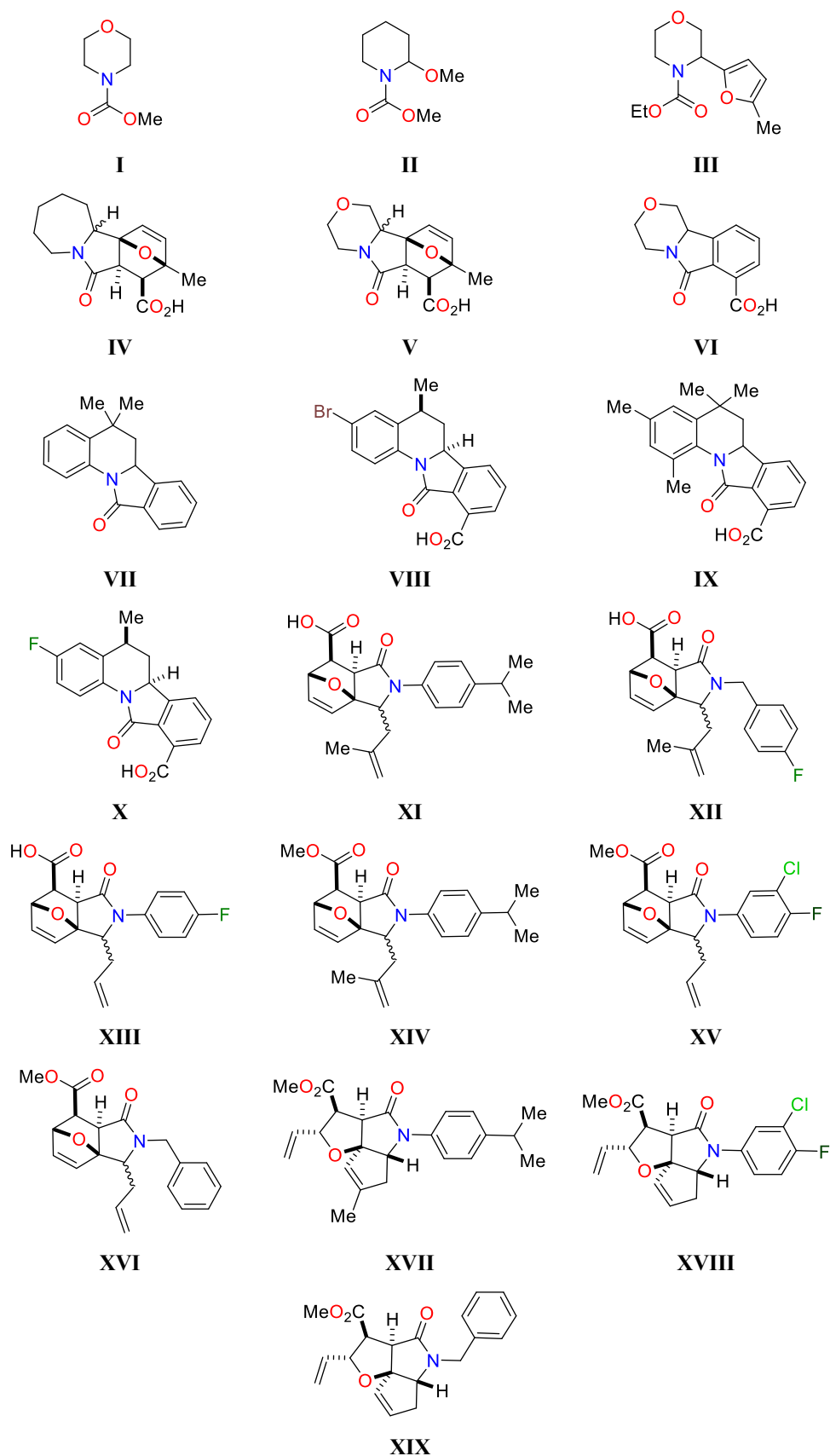
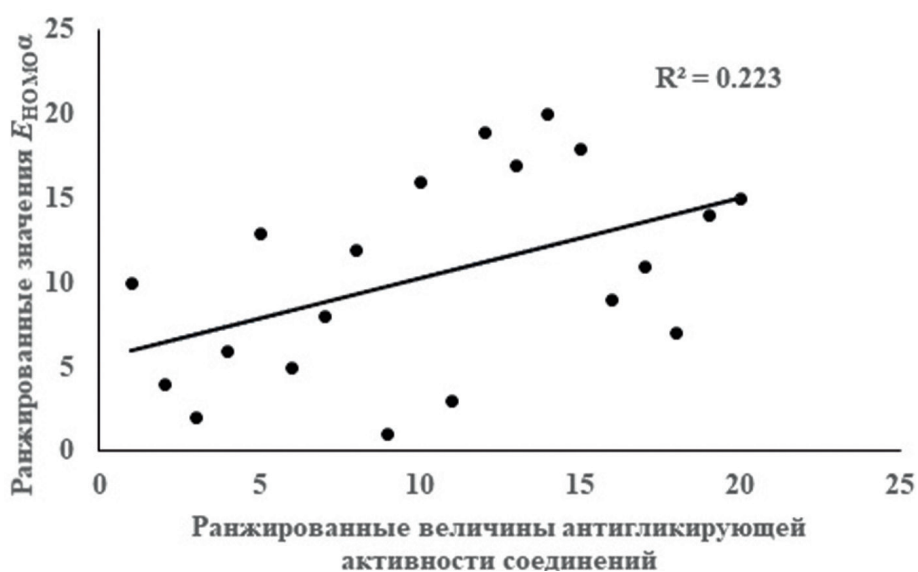


Рис. 1. Структуры соединений I–XIX.

**Таблица 1.** Расчетные значения  $E_{\text{НОМО}}$  и  $E_{\text{ЛУМО}}$  для  $\alpha$  и  $\beta$  орбиталей, а также рассчитанные разности  $E_{\text{НОМО}}$  и  $E_{\text{ЛУМО}}$  для  $\alpha$  и  $\beta$  орбиталей, eV

Шифр соединения	$E_{\text{НОМО}\alpha}$	$E_{\text{ЛУМО}\alpha}$	$E_{\text{НОМО}\beta}$	$E_{\text{ЛУМО}\beta}$	$\Delta E_{\text{НОМО-ЛУМО}\alpha}$	$\Delta E_{\text{НОМО-ЛУМО}\beta}$
I	-10.169	4.177583	-10.169	4.177583	-14.3466	-14.3466
II	-10.0979	4.062695	-10.0979	4.062695	-14.1606	-14.1606
III	-8.31386	3.863211	-8.31386	3.863211	-12.1771	-12.1771
IV	-9.941913	3.694689	-9.941881	3.694695	-13.636602	-13.636576
V	-9.974618	3.610861	-9.974618	3.610861	-13.585479	-13.585479
VI	-9.735819	1.908716	-9.735814	1.908711	-11.644535	-11.644525
VII	-8.226735	2.45935	-8.226732	2.459348	-10.686085	-10.68608
VIII	-8.42344	1.877579	-8.42344	1.877579	-10.301	-10.301
IX	-8.24331	2.057636	-8.24331	2.057637	-10.300946	-10.300947
X	-8.450796	1.933979	-8.450796	1.933979	-10.384775	-10.384775
XI	-8.725133	3.510208	-8.725133	3.510208	-12.235341	-12.235341
XII	-9.108642	3.118177	-9.108641	3.118177	-12.226819	-12.226818
XIII	-9.141341	3.133079	-9.141421	3.133148	-12.27442	-12.274569
XIV	-8.711815	3.528988	-8.711815	3.528988	-12.240803	-12.240803
XV	-9.324198	2.817744	-9.324198	2.817744	-12.141942	-12.141942
XVI	-9.002651	3.442421	-9.002651	3.442421	-12.445072	-12.445072
XVII	-8.93575	3.407409	-8.93574	3.407408	-12.3432	-12.3432
XVIII	-9.54579	2.603809	-9.54579	2.603809	-12.1496	-12.1496
XIX	-8.98519	3.499902	-8.98519	3.499902	-12.4851	-12.4851
Пиридоксамин	-8.69346	3.04026	-8.69346	3.040257	-11.7337	-11.7337

**Рис. 2.** Графическое представление корреляции рангов антигликирующей активности соединений и их расчетных значений  $E_{\text{НОМО}\alpha}$ .

пента[*b*]фуоро[2,3-*c*]пирролкарбоновой кислоты соответственно. Результаты определения активности соединений представлены в табл. 2.

**Таблица 2.** Величины активностей соединений в концентрации 100 мкМ

Шифр соединения	Активность, %
I	8.0 ± 10.2
II	9.3 ± 9.8
III	12.2 ± 9.1
IV	8.3 ± 3.9
V	4.5 ± 7.1
VI	16.1 ± 2.4
VII	18.7 ± 2.2*
VIII	38.6 ± 7.1*
IX	34.0 ± 1.1*
X	26.4 ± 2.5*
XI	24.2 ± 2.1*
XII	19.5 ± 1.3*
XIII	28.4 ± 1.2*
XIV	-2.5 ± 0.8
XV	-3.8 ± 0.9
XVI	-0.3 ± 0.6
XVII	3.8 ± 2.9
XVIII	-10.4 ± 14.7
XIX	49.3 ± 6.9*
Пиридоксамин	33.7 ± 2.0*

\*Статистически значимые отличия от контроля (растворителя), ANOVA,  $p < 0.05$ .

Обращает на себя внимание статистически значимая корреляция результатов *in silico* и *in vitro* исследований (метод ранговой корреляции Спирмена). Обнаружена корреляция рангов между значениями  $E_{\text{НОМО}}$  и величинами антигликирующей активности ( $r_s = 0.472$ ,  $p = 0.036$ ). Наблюдение согласуется с результатами ранее проведенных исследований [36–38]. Выявленная корреляция графически представлена на рис. 2. На основании полученных данных можно предположить, что соединения с наивысшей активностью характеризуются наименее отрицательными значениями  $E_{\text{НОМО}}$ .

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Гликирование – это комплексный процесс, а проявления антигликирующей активности мо-

гут определяться различными механизмами (связывание карбонильных соединений, инактивация активных форм кислорода и др.). Пути образования продуктов реакции гликирования, связанные с окислением, т.е. пути гликоокислации (включая окислительный распад продуктов Амадори и образование некоторых карбонильных соединений) тесно сопряжены с процессами, способными протекать в отсутствие окисления [27].

Флуоресцирующие при длинах волн 440/520 нм продукты относятся к конечным продуктам “гликирования и окисления”, определяемым в коже индивидов без сахарного диабета [28]. При этом прирост специфической аутофлуоресценции кожи при данных длинах волн возбуждения/испускания коррелирует с календарным возрастом обследованных [28]. Сами продукты остаются неохарактеризованными, однако нельзя исключать, что они образуются и в ходе воспроизведенной нами реакции (гипотеза требует дальнейшего изучения). Можно также предположить, что специфическая аутофлуоресценция кожи при длинах волн возбуждения/испускания 440/520 нм может применяться для оценки биологического возраста человека, а сами продукты, определяемые при данных параметрах, могут быть связаны с патогенезом заболеваний, ассоциируемых с пожилым возрастом (гипотеза требует изучения и проверки). С одной стороны, такая гипотеза повышает интерес к самим указанным продуктам, с другой – определяет преимущества их измерения при поиске антигликирующих свойств у соединений, способных защищать внеклеточный матрикс. Несмотря на отсутствие убедительных доказательств того, что в коже человека обнаруживаются те же флуоресцирующие продукты, что и в реакции глюкозы и БСА, представленные аргументы обосновывают выбор тех длин волн, которые обычно не используют в подобных исследованиях. Эти доводы подчеркивают потенциальную значимость данных длин волн для определения специфических продуктов гликирования и окисления, что может способствовать более точной оценке воздействия исследуемых соединений на биологические процессы, связанные с возрастными изменениями и патогенезом возрастных заболеваний.

В ходе исследования установлено, что соединения с наивысшей активностью имеют наименее отрицательные значения  $E_{\text{НОМО}}$ . Традиционно зависимость активности от структуры соединения (SAR – structure-activity relationship) рассматривается в контексте вклада определенных химических групп или заместителей в результирующую активность. Однако выявленная зависимость антигликирующей активности от  $E_{\text{НОМО}}$  также может быть интерпретирована как форма SAR. Анализ вклада структурных фрагментов в проявление активности показал, что наибольшая активность свойственна соединениям с изоиндоло-

новым циклом, конденсированным с пяти- или шестичленным кольцом (бензольным, тетрагидрофурановым или хинолиновым). Таким образом, анализ SAR, проведенный нами, включал оценку вклада как структурных фрагментов, так и квантово-химических расчетных параметров в биологическую активность соединений.

Сложность механизмов гликирования объясняет, почему ранее отмечали зависимость антигликирующей активности соединений от множества расчетных параметров, помимо  $E_{\text{НОМО}}$ , таких как  $E_{\text{LUMO}}$  и  $\Delta E_{\text{НОМО-LUMO}}$ . В то же время, установленная в настоящем исследовании корреляция активности соединений с величинами  $E_{\text{НОМО}}$  согласуется с ранее описанной зависимостью антигликирующей активности производных нитротриадиазоло[3,2-*a*]пиримидина от данного параметра, установленной с применением машинного обучения [38]. Следует отметить, что ранее значения энергий молекулярных орбиталей сопоставляли с результатами оценки антигликирующей активности соединений при иных параметрах определения флуоресцирующих КПП (обычно использовали длины волн возбуждения/испускания 370/440 нм), или с полученными с использованием методик, основанных на иных принципах (не связанных с флуоресценцией).

Таким образом, представленные результаты *in vitro* и *in silico* и их корреляция, обнаруженная в ходе исследования, являются доводами в пользу использования как прогностического, так и описанного экспериментального подходов для оценки способности химических соединений замедлять образование продуктов гликирования и окисления. Возможно, именно тех продуктов, увеличение количества которых коррелирует с календарным возрастом и может быть связано с возрастными изменениями внеклеточного матрикса.

Коллектив авторов выражает признательность А.А. Москалеву за всестороннюю поддержку в разработке геропротекторов и изучении роли внеклеточного матрикса в процессе старения.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда и Администрации Волгоградской области № 24-24-20112, <https://rscf.ru/project/24-24-20112/>.

В исследовании отсутствовали эксперименты, включающие участие животных или людей.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kular J.K., Basu S., Sharma R.I. (2014) The extracellular matrix: structure, composition, age-related

2. differences, tools for analysis and applications for tissue engineering. *J. Tissue Eng.* **5**, 2041731414557112. <https://doi.org/10.1177/2041731414557112>
3. Zhang W., Liu Y., Zhang H. (2021) Extracellular matrix: an important regulator of cell functions and skeletal muscle development. *Cell Biosci.* **11**, 65. <https://doi.org/10.1186/s13578-021-00579-4>
4. Godfrey M. (2009) Extracellular matrix. In: *Asthma and COPD*. Elsevier Ltd. 265–274. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374001-4.00022-5>
5. Dalal A.R., Pedroza A.J., Yokoyama N., Nakamura K., Shad R., Fischbein M.P. (2021) Abstract 13386: Extracellular matrix signaling in Marfan syndrome induced pluripotent stem cell derived smooth muscle cells. *Circulation.* **144**, A13386. [https://doi.org/10.1161/circ.144.suppl\\_1.13386](https://doi.org/10.1161/circ.144.suppl_1.13386)
6. Kingsbury K.D., Skeie J.M., Cosert K., Schmidt G.A., Aldrich B.T., Sales C.S., Weller J., Kruse F., Thomas S.M., Schlötzer-Schrehardt U., Greiner M.A. (2023) Type II diabetes mellitus causes extracellular matrix alterations in the posterior cornea that increase graft thickness and rigidity. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **64**(7), 26. <https://doi.org/10.1167/iovs.64.7.26>
7. Ziyadeh F.N. (1993) The extracellular matrix in diabetic nephropathy. *Am. J. Kidney Dis.* **22**(5), 736–744. [https://doi.org/10.1016/s0272-6386\(12\)80440-9](https://doi.org/10.1016/s0272-6386(12)80440-9)
8. Statzer C., Park J.Y.C., Ewald C.Y. (2023) Extracellular matrix dynamics as an emerging yet understudied hallmark of aging and longevity. *Aging. Dis.* **14**(3), 670–693. <https://doi.org/10.14336/AD.2022.1116>
9. Wight T.N., Potter-Perigo S. (2011) The extracellular matrix: an active or passive player in fibrosis? *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **301**(6), G950–G955. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00132.2011>
10. Voziyan P., Uppuganti S., Leser M., Rose K.L., Nyman J.S. (2023) Mapping glycation and glycoxidation sites in collagen I of human cortical bone. *BBA Adv.* **3**, 100079. <https://doi.org/10.1016/j.bbadv.2023.100079>
11. Duran-Jimenez B., Dobler D., Moffatt S., Rabbani N., Streuli C.H., Thornalley P.J., Tomlinson D.R., Gardiner N.J. (2009) Advanced glycation end products in extracellular matrix proteins contribute to the failure of sensory nerve regeneration in diabetes. *Diabetes.* **58**(12), 2893–2903. <https://doi.org/10.2337/db09-0320>
12. Sant S., Wang D., Agarwal R., Dillender S., Ferrell N. (2020) Glycation alters the mechanical behavior of kidney extracellular matrix. *Matrix Biol. Plus.* **8**, 100035. <https://doi.org/10.1016/j.mbps.2020.100035>
13. Kim H.J., Jeong M.S., Jang S.B. (2021) Molecular characteristics of RAGE and advances in small-molecule inhibitors. *Int. J. Mol. Sci.* **22**(13), 6904. <https://doi.org/10.3390/ijms22136904>
14. Ashwitha Rai K.S., Jyothi Rasmi R.R., Sarnaik J., Kadwad V.B., Shenoy K.B., Somashekarappa H.M.

- (2015) Preparation and characterization of (125) i labeled bovine serum albumin. *Indian J. Pharm. Sci.* **77**(1), 107–110.  
<https://doi.org/10.4103/0250-474x.151589>
14. Rombouts I., Lagrain B., Scherf K. A., Lambrecht M.A., Koehler P., Delcour J.A. (2015) Formation and reshuffling of disulfide bonds in bovine serum albumin demonstrated using tandem mass spectrometry with collision-induced and electron-transfer dissociation. *Sci. Rep.* **5**, 12210.  
<https://doi.org/10.1038/srep12210>
15. Kılıç Süloğlu A., Selmanoğlu G., Gündoğdu Ö., Kışal N.H., Girgin G., Palabiyik S., Tan A., Kara Y., Baydar T. (2020) Evaluation of isoindole derivatives: antioxidant potential and cytotoxicity in the HT-29 colon cancer cells. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. **353**(11), e2000065.  
<https://doi.org/10.1002/ardp.202000065>
16. Jahan H., Siddiqui N.N., Iqbal S., Basha F.Z., Khan M.A., Aslam T., Choudhary M.I. (2022) Indole-linked 1,2,3-triazole derivatives efficiently modulate COX-2 protein and PGE2 levels in human THP-1 monocytes by suppressing AGE-ROS-NF- $\kappa$ B nexus. *Life Sci.* **291**, 120282.  
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.120282>
17. Shono T., Matsumura Y., Tsubata K., Inoue K., Nishida R. (1983) A new synthetic method of 1-azabicyclo[4.n.0]systems. *Chem. Lett.* **12**(1), 21–24.  
<https://doi.org/10.1246/cl.1983.21>
18. Varlamov A.V., Boltukhina E.V., Zubkov F.I., Sidorenko N.V., Chernyshev A.I., Grudin D.G. (2004) Preparative synthesis of 7-carboxy-2-R-isoindol-1-ones. *Chem. Heterocycl. Comp.* **40**, 22–28. <https://doi.org/10.1023/B:COHC.0000023763.75894.63>
19. Toze F.A., Poplevin D.S., Zubkov F.I., Nikitina E.V., Porras C., Khrustalev V.N. (2015) Crystal structure of methyl (3*RS*,4*SR*,4*aRS*,11*aRS*,11*bSR*)-5-oxo-3,4,4*a*,5,7,8,9,10,11,11*a*-deca-hydro-3,11*b*-epoxyazepino[2,1-*a*]isoindole-4-carboxylate. *Acta Cryst. E Crystallogr. Commun.* **71**(Pt 10), o729–o730.  
<https://doi.org/10.1107/S2056989015016679>
20. Zubkov F.I., Airiyan I.K., Ershova J.D., Galeev T.R., Zaytsev V.P., Nikitina E.V., Varlamov A.V. (2012) Aromatization of IMDAF adducts in aqueous alkaline media. *RSC Adv.* **2**(10), 4103.  
<https://doi.org/10.1039/c2ra20295f>
21. Boltukhina E.V., Zubkov F.I., Nikitina E.V., Varlamov A.V. (2005) Novel approach to isoindolo[2,1-*a*]quinolines: synthesis of 1- and 3-halo-substituted 11-oxo-5,6,6*a*,11-tetrahydroisoindolo[2,1-*a*]quinoline-10-carboxylic acids. *Synthesis*. **2005**(11), 1859–1875.  
<https://doi.org/10.1055/s-2005-869948>
22. Zubkov F.I., Boltukhina E.V., Turchin K.F., Borisov R.S., Varlamov A.V. (2005) New synthetic approach to substituted isoindolo[2,1-*a*]quinoline carboxylic acids via intramolecular Diels–Alder reaction of 4-(*N*-furyl-2)-4-arylamino-1-butene-1 with maleic anhydride. *Tetrahedron*. **61**(16), 4099–4113.  
<https://doi.org/10.1016/j.tet.2005.02.017>
23. Varlamov A.V., Zubkov F.I., Boltukhina E.V., Sidorenko N.V., Borisov R.S. (2003) A general strategy for the synthesis of oxoisoindolo[2,1-*a*]quinoline derivatives: the first efficient synthesis of 5,6,6*a*,11-tetrahydro-11-oxoisoindolo[2,1-*a*]quinoline-10-carboxylic acids. *Tetrahedron Lett.* **44**(18), 3641–3643.  
[https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(03\)00705-6](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(03)00705-6)
24. Firth J.D., Craven P.G.E., Lilburn M., Pahl A., Marsden S.P., Nelson A. (2016) A biosynthesis-inspired approach to over twenty diverse natural product-like scaffolds. *Chem. Commun.* **52**, 9837–9840.  
<https://doi.org/10.1039/c6cc04662b>
25. Zubkov F.I., Zaytsev V.P., Nikitina E.V., Khrustalev V.N., Gozun S.V., Boltukhina E.V., Varlamov A.V. (2011) Skeletal Wagner–Meerwein rearrangement of perhydro-3*a*,6;4,5-diepoxyisoindoles. *Tetrahedron*. **67**(47), 9148–9163.  
<https://doi.org/10.1016/j.tet.2011.09.099>
26. Antonova A.S., Vinokurova M.A., Kumandin P.A., Merkulova N.L., Sinelshchikova A.A., Grigoriev M.S., Novikov R.A., Kouznetsov V.V., Polyanskiy K.B., Zubkov F.I. (2020) Application of new efficient Hoveyda–Grubbs catalysts comprising an *N*→Ru coordinate bond in a six-membered ring for the synthesis of natural product-like cyclopenta[*b*]furo[2,3-*c*]pyrroles. *Molecules*. **25**(22), 5379.  
<https://doi.org/10.3390/molecules25225379>
27. Cho S.J., Roman G., Yeboah F., Konishi Y. (2007) The road to advanced glycation end products: a mechanistic perspective. *Curr. Med. Chem.* **14**(15), 1653–1671.  
<https://doi.org/10.2174/092986707780830989>
28. Beisswenger P.J., Howell S., Mackenzie T., Corstjens H., Muizzuddin N., Matsui M.S. (2012) Two fluorescent wavelengths, 440(ex)/520(em) nm and 370(ex)/440(em) nm, reflect advanced glycation and oxidation end products in human skin without diabetes. *Diabetes Technol. Ther.* **14**(3), 285–292.  
<https://doi.org/10.1089/dia.2011.0108>
29. Weintraub R.A., Wang X. (2023) Recent developments in isoindole chemistry. *Synthesis*. **55**(04), 519–546.  
<https://doi.org/10.1055/s-0042-1751384>
30. Speck K., Magauer T. (2013) The chemistry of isoindole natural products. *Beilstein J. Org. Chem.* **9**, 2048–2078.  
<https://doi.org/10.3762/bjoc.9.243>
31. Upadhyay S.P., Thapa P., Sharma R., Sharma M. (2020) 1-Isoindolinone scaffold-based natural products with a promising diverse bioactivity. *Fitoterapia*. **146**, 104722.  
<https://doi.org/10.1016/j.fitote.2020.104722>
32. Csende F., Porkoláb A. (2020) Antiviral activity of isoindole derivatives. *J. Med. Chem. Sci.* **3**(3), 254–285.  
<https://doi.org/10.26655/jmchemsci.2020.3.7>
33. Bhatia R.K. (2017) Isoindole derivatives: propitious anticancer structural motifs. *Curr. Top. Med. Chem.* **17**(2), 189–207.  
<https://doi.org/10.2174/1568026616666160530154100>
34. Kirby I.T., Cohen M.S. (2019) Small-molecule inhibitors of PARPs: from tools for investigating ADP-ribosylation to therapeutics. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **420**, 211–231.  
[https://doi.org/10.1007/82\\_2018\\_137](https://doi.org/10.1007/82_2018_137)



35. Papeo G., Orsini P., Avanzi N.R., Borghi D., Casale E., Ciomei M., Cirila A., Desperati V., Donati D., Felder E.R., Galvani A., Guanci M., Isacchi A., Posterl H., Rainoldi S., Riccardi-Sirtori F., Scolaro A., Montagnoli A. (2019) Discovery of stereospecific PARP-1 inhibitor isoindolinone NMS-P515. *ACS Med. Chem. Lett.* **10**(4), 534–538. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.8b00569>
36. Ozerov A., Merezhkina D., Zubkov F.I., Litvinov R., Ibragimova U., Valuisky N., Borisov A., Spasov A. (2024) Synthesis and antiglycation activity of 3-phenacyl substituted thiazolium salts, new analogs of Alagebrum. *Chem. Biol. Drug Des.* **103**(1), e14391. <https://doi.org/10.1111/cbdd.14391>
37. Litvinov R.A., Vasil'ev P.M., Brel' A.K., Lisina S.V. (2021) Frontier molecular orbital energies as descriptors for prediction of antiglycating activity of N-hydroxybenzoyl-substituted thymine and uracil. *Pharm. Chem. J.* **55**(7), 648–654. <https://doi.org/10.1007/s11094-021-02474-1>
38. Savateev K., Fedotov V., Butorin I., Eltsov O., Slepukhin P., Ulomsky E., Rusinov V., Litvinov R., Babkov D., Khokhlacheva E., Radaev P., Vassiliev P., Spasov A. (2020) Nitrothiadiazolo[3,2-*a*]pyrimidines as promising antiglycating agents. *Eur. J. Med. Chem.* **185**, 111808. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111808>

## Antiglycation Activity of Isoindole Derivatives and Its Prediction Using Frontier Molecular Orbital Energies

U. M. Ibragimova<sup>1</sup>, N. V. Valuisky<sup>1</sup>, S. A. Sorokina<sup>1</sup>, X. I. Zhukova<sup>1</sup>,  
V. R. Raiberg<sup>1</sup>, R. A. Litvinov<sup>1, 2, \*</sup>

<sup>1</sup>Volgograd State Medical University, Volgograd, 400066 Russia

<sup>2</sup>Volgograd Medical Scientific Center, Volgograd, 400066 Russia

\*e-mail: litvinov.volggmu@mail.ru

The extracellular matrix (ECM) provides structural support and regulates cellular activity. Its disruption during metabolic pathologies or aging can lead to disease development. Developing ECM protectors is crucial for the etiological prevention and treatment of pathologies associated with ECM alterations. Key mechanisms of pathological changes in the ECM include non-enzymatic reactions such as glycation and glycooxidation. The potential of agents as ECM protectors can be assessed by their ability to inhibit these processes. In this study, compounds based on heterocyclic scaffolds, including partially hydrogenated isoindole fragments, were investigated for their ability to slow down the formation of advanced glycation end-products (AGEs). The study employed a combination of *in silico* and *in vitro* approaches. In the *in silico* study, the energies of the frontier molecular orbitals of the compounds were determined using the *ab initio* method with the 6-311G(d,p) basis set. Their antiglycation activity was then investigated in the glycation reaction of bovine serum albumin (BSA) with glucose, using albumin as a model protein. Pyridoxamine served as a reference compound. The antiglycation activity of the compounds was evaluated spectrofluorometrically by measuring the fluorescent products at excitation/emission wavelengths of 440/520 nm, which are not typically used for assessing antiglycation properties. At these wavelengths, glycation and oxidation products in human skin can be detected, which correlate with chronological age, unlike some other glycation products. Experimentally, it was found that the energies of the frontier molecular orbitals of the compounds can serve as predictors of their ability to slow down the formation of fluorescent products detected at 440/520 nm. Inhibiting the formation of such products may be significant for the treatment and prevention of diseases, including metabolic, fibrotic, or age-associated conditions. It was also established that at a concentration of 100 μM, the antiglycation properties are most pronounced in the series of hydrogenated 3a,6-epoxyisoindole-7-carboxylic acids (compounds of type XIII) and cyclopenta[*b*]furo[2,3-*c*]pyrrole-3-carboxylic acids (structures of type XIX).

**Keywords:** glycation, oxidation, extracellular matrix, albumin, cyclopenta[*b*]furo[2,3-*c*]pyrrole, 3a,6-epoxyisoindole