УДК 615.322:547.831 + 547.835

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ ТА ПРОТИІШЕМІЧНОЇ АКТИВНОСТІ НАТРІЄВИХ СОЛЕЙ В (2-МЕТИЛХІНОЛІН-4-ІЛТІО) -МОЛОЧНИХ КИСЛОТ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Завгородній М.П, асистент

Запорізький державний університет

Досліджено вплив 4-тіопохідних хіноліну на вуглеводно-енергетичний обмін, активність ВРО та стан антиоксидантної системи у білих щурів лінії Вістар в умовах однобічної перев' язки загальної сонної артерії. Проведені дослідження натрієвих солей солей β- (2-метилхінолін-4-ілтіо) – молочних кислот показали, що вони виявляють значну антиоксидантну та протиішемічну дію. Антиоксидантна активність досліджених сполук реалізується на ініциальних етапах ВРО за рахунок реактивації антиоксидантних ферментів (СОД, каталази, ГПР). Досліджені сполуки впливають на ішемічні ушкодження головного мозку за рахунок інтенсифікації шляхів окислення та збільшення енергетичного фонду нейроцитів.

Ключові слова: хінолін, антиоксиданти, ішемія.

Завгородний М.П. ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ И ПРОТИВОИШЕМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НАТРИЕВЫХ СОЛЕЙ В- (2-МЕТИЛХИНОЛИН-4-ИЛТИО) – МОЛОЧНЫХ КИСЛОТ В УСЛОВИЯХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА / Запорожский государственный университет, Украина.

Исследовано влияние 4-тиопроизводных хинолина на углеводно-энергетический обмен, активность СРО и состояние антиоксидантной системы у белых крыс линии Вистар в условиях односторонней перевязки общей сонной артерии. Проведенные исследования натриевых солей β- (2-метилхинолин-4-илтио) – молочних кислот при односторонней перевязке общей сонной артерии показали, что они проявляют значительную антиоксидантную и противоишемическую активность. Антиоксидантная активность исследованных соединений реализуется на инициальных этапах СРО за счет реактивации антиоксидантных ферментов (СОД, каталазы, ГПР). Исследуемые производные хинолина влияют на ишемические повреждения головного мозга за счет интенсификации аэробных путей окисления и повышения энергетического фонда нейроцитов.

Ключевые слова: хинолин, антиоксиданты, ишемия.

Zavgorodny M. P. RESEARCH ANTIOXYDANT AND ANTIISHEMIANT OF SODIUM OF SALTS B-(2-METHULQUINALINE-4-ILTIO)-LACTAT ASIDS ACTIVITY DERIVATIVE OF IN CONDITIONS EXPERIMENTAL ISCHEMIA OF A HEAD BRAIN / Zaporizhzhya State University, Ukraine.

We have investigation the of quinaidine on giycoenergy metabolism, FRO activity and state of antioxidant system in white Wistar rats in case one side bandage of common carotid artery.The carried out researches at unilateral bandaging general sleepy arteries have shown derivative, that they show significant antioxydant and antiischemiant activity. Antioxydant activity of the investigated connections is realized on inicial stadies FRO for the account reactive antioxydant enzymes (SOD, catalase, GTP). Researched derivative of influence on ischemic damage of a head brain for the account various oxigenous ways of oxidation and increase of power fund neurocytes.

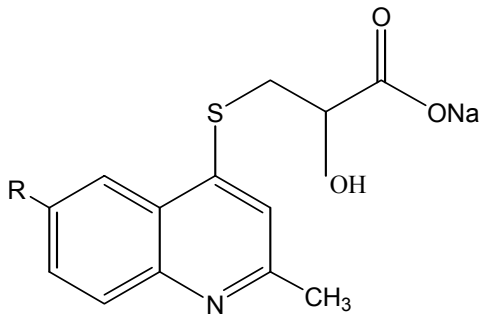
Key words: quinolin, antioxidants, ischemia.

У зв 'язку з визначною роллю вільнорадикального окиснення (ВРО) у патогенезі мозкових інсультів, у комплексній терапії цих захворювань широке застосування знаходять антиоксиданти (дибунол, α-токоферол, ліпін, емоксипін, тіотриазолін та інші) [2,8]. Однак вибір антиоксидантних засобів, які використовуються в неврологічній практиці недостатній, тому пошук цих препаратів проводиться серед різних класів органічних сполук. Дослідженням останніх років виявлені антиоксидантні властивості 4 -S похідних хіноліну [7]. Особливий інтерес у цьому плані представляють похідні (S-хінальдиніл)-L-цистеїну, так як відомо, що ці похідні проявляють антиоксидантну активність у дослідах in vitro та на моделі експериментальної ішемії міокарда [7]. Таким чином, вивчення антиоксидантної та протиішемічної активності поміж натрієвих солей β-(2-метилхінолін-4-ілтіо) – молочних кислот в умовах експериментальної ішемії головного мозку є актуальним.

Метою даної роботи є дослідження антиоксидантної та протиішемічної активності натрієвих солей β (2-метилхінолін-4-ілтіо) – молочних кислот в умовах експериментальної ішемії головного мозку

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Було досліджнено такі похідні хіноліну:



1-3

1-R=H; 2-R=OCH_3; 3-R=OC_2H_5

Дослідження антиоксидантної та протиішемічної активності синтезованих сполук проводили на 60 білих щурах лінії Вістар, масою 220-260 грамів. Усі тварини обох статей утримувались на стандартному раціоні харчування.

Ішемію головного мозку викликали однобічною перев'язкою загальної сонної артерії [3,7]. Препарати вводили щодня протягом 4 діб після оперативного втручання внутрішньочеревинно в дозах 1/50 $ЛД_{50}$ (приблизно 50 мг/кг), пірацетам – у дозі 200 мг/кг, дибунол та α-токоферол – підшкірно в дозі 50 мг/кг.

Тварини виводились з експерименту в ранковий час, під нембуталовим наркозом (40,0 мг/кг) на 4 добу експерименту. Після досягнення глибокого наркозу розтиналась передня стінка живота і черевна порожнина, і після введення голки в область біфуркації аорти проводився забір крові. У тварин з експериментальною ішемією головного мозку швидко розкривалась черепна коробка, витягували ішемізовану півкулю і заморожували в рідкому азоті.

Кров збирали в пробірки, оброблені трилоном Б (200 мг на 100,0 мл фізіологічного розчину), яка знаходилась у льодовій бані. Після центрифугування (3000 об/хв) плазма збиралась на дослідження. Еритроцити після двократного обмивання фізіологічним розчином підлягали холодовому гемолізу, гемолізат розводили 1:500. Заморожені в азоті тканини головного мозку гомогенізували у фарфорових ступках. Екстраговану цитозольну фракцію розводили 0,15 М розчином KCl з розрахунку тканини-розчин KCl 1:40 [9].

Після центрифугування при +4°С при 1500 g супернатант зливали в чисті пробірки. З осаду проводили екстракцію ліпідів 5,0 мл гептан-ізопропанольною сумішшю (2:1) за методом Кейтса [4]. Безбілковий екстракт одержували додаванням точної наважки гомогенату тканини в хлорну кислоту (0,6 М $HClO_4$), з подальшою нейтралізацією 5 М розчином K_2CO_3 по метилоранжу [9].

Інтенсивність процесів ВРО в тканинах головного мозку оцінювали по накопиченню початкових, проміжних та кінцевих продуктів – дієнових кон'югантів (ДК), триєнкетонів (ТК) і малонового діальдегіду (МДА) [1,5].

Стан антиоксидантної системи оцінювали по активності супероксиддисмутази (СОД), каталази, глутатіонпероксидази (ГПР) та α-токоферолу [6,9,10]. Стан вуглеводно-енергетичного обміну визначали по рівню аденілових нуклеотидів (АТФ), лактату, пірувату і малату [9].

Активність мозкової фракції креатинфосфокінази (ВВ-КФК) визначали після розділу на сефадексі ДЄАЄ-А-50, за оптичним тестом Варбурга [8].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Внутрішньочеревне введення натрієвих солей β-(2метилхінолін-4-ілтіо)- молочних кислот у процесі формування експериментальної патології у дозах, відповідно 1/50 їх $ЛД_{50}$ призводило до гальмування процесів перекисного окислення лепи дів (ПОЛ) в ішемізованій півкулі головного мозку. Усі сполуки, які досліджували, проявляли антиоксидантну активність і за силою діючого ефекту перевершували стандартні антиоксиданти - α-токоферол ацетат і дибунол (табл. 1). Похідні хіноліну проявляють свій

антиоксидантний ефект як на ініціальних, так і на кінцевих (перекисних) етапах ВРО, що встановлено за результатами досліджень (досліди in vitro).

Найбільшу антиоксидантну активність проявляє натрієва сіль β-(6-метокси-2-метилхінолін-4-ілтіо)-молочної кислоти (сполука 2). Введення сполуки 2 тваринам з експериментальною ішемією головного мозку приводить до активації антиоксидантних систем. Так, у тканинах головного мозку активність СОД підвищувалась на 61,3%, активність каталази – на 37,3%, ГПР на 39,4%. Рівень α-токоферолу зростав на 44,1%.

Активація антиоксидантних систем і інгібування активних форм кисню і вільних радикалів приводила до зниження вмісту продуктів ВРО в ішемізованих тканинах головного мозку. Кількість ДК у тканинах головного мозку при призначенні сполук 2 і 3 зменшувалась на 21,3% та 17,5%, ТК – на 43,3% та 37,3%, МДА – на 44,2% і 38,3%.

Таблиця 1. - Вплив натрієвих солей β (2-метилхінолін-4-ілтіо)- молочної кислоти на вміст продуктів ВРО в ішемізованому головному мозку(мкмоль/г тканини).

№ п/п	Сполуки	ДК	% змін	ТК	% змін	МДА	% змін
1	Інтактна група	1,20±0,01	-	0,26±0,04	-	0,56±0,04	-
2	Одностороння перев'язка загальної сонної артерії	2,11±0,11	-	0,67±0,07	-	1,20±0,07	-
3	Сполука 1	1,82±0,08*	-13,7	0,44±0,02*	-34,3	0,92±0,07*	-23,3
4	Сполука 2	1,66±0,09*	-21,3	0,38±0,05*	-43,3	0,67±0,05*	-44,2
5	Сполука 3	1,74±0,11*	-17,5	0,42±0,03*	-37,3	0,74±0,03*	-38,3
6	а-токоферол ацетат	4,77±0,19*	-4,2	1,0±0,034*	-19,3	1,51±0,05*	-23,7
7	Дибунол	4,04±0,15*	-18,7	0,9±0,054*	-27	1,39±0,07*	-29,2
8	Контроль (ішемія)	4,96±0,12*	-	1,24±0,062*	-	1,98±0,025*	

Примітка: * - $p<0,05$ у порівнянні з контролем.

Порівнюючи антиоксидантну дію сполук вивченої групи з дією еталонних антиоксидантів (α-токоферол і дибунол) при гострому порушенні мозкового кровообігу, було встановлено, що сполуки цього ряду реалізують свій ефект як на ініціальних етапах ВРО, так і на вільнорадикальному етапі розвитку ВРО, а також на етапі пероксидації. Дибунол і α-токоферол впливають лише на кінцевий (перекисний) етап розвитку ВРО, знижуючи лише кінцеві продукти (ТК, МДА). Ці сполуки здатні реагувати як з активними формами кисню, так і запобігати їх утворенню, що нормалізує порушення тонких ланцюгів метаболізму.

Таблиця 2. - Вплив натрієвих солей β (2-метилхінолін-4-ілтіо)- молочної кислоти на активність антиоксидантних ферментів і вміст α-токоферолу в ішемізованому головному мозку.

№ п/п	Сполуки	СОД	% змін	Каталаза	% змін	ГПР	% змін	α-токоферол	% змін
1	Інтактна група	218,2±11,2	-	15,5±0,31	-	67,8±4,7	-	4,77±0,21	-
2	Одностороння перев'язка загальної сонної артерії	96,2±6,56	-	7,5±0,11	-	37,5±5,2	-	2,7±0,2	-
3	Сполука 1	110,3±11,2*	14,6	7,9±0,13	5,3	41,8±2,5*	11,5	3,1±0,18*	14,8
4	Сполука 2	155,2±10,8*	61,3	10,3±0,21*	37,3	52,3±3,4*	39,4	3,89±0,33*	44,1
5	Сполука 3	114,6±14,6*	19,1	8,3±0,14*	10,6	44,6±2,7*	18,9	3,15±0,24*	16,6
6	а--токоферол ацетат	110,7±2,4	5,3	5,25±1,09	15,3	36,6±2,3	14,8	5,66±0,27	57,2
7	Дибунол	111,1±4,1	5,8	5,69±0,4	17,3	36,8±1,2	4,9	4,66±0,27	29,4
8	Контроль (ішемія)	105±2,7	-	4,85±0,07	-	34,9±2,4	-	3,6±0,12	

Примітка: * - $p<0,05$ в порівнянні з контролем.

При курсовому призначенні в гострому періоді ішемії натрієвих солей β (2-метилхінолін-4-ілтіо)-молочних кислот виявлено виражений їх вплив на показники вуглеводно-енергетичного обміну (табл. 3). Так, спостерігалося деяке збільшення вмісту АТФ у мозкових тканинах, причому сполука 2 найбільш

збільшує показники окисної продукції енергії – рівень лактату на 33,3%, пірувату на 16,6%, малату на 65,2%.

Таким чином, введення в 6-те положення хінолінового циклу замісників (-OCH_3, -OC_2H_5) збільшує антиоксидантну та протиішемічну дію.

Наслідком антиоксидантного ефекту та позитивної реакції на порушення тонких ланок метаболізму була протекторна дія по відношенню до клітинних мембран мозкової тканини, про що свідчить зниження гіперферментації ВВ КФК (табл. 4).

Таблиця 3. - Вплив натрієвих солей β (2-метилхінолін-4-ілтіо)- молочної кислоти на енергетичний обмін в ішемізованому головному мозку.

№ п/п	Сполуки	АТФ	% змін	лактат	% змін	піруват	% змін	Малат	% змін
1	Інтактна група	2,84±0,1	-	2,88±0,2	-	0,26±0,01	-	0,4±0,04	-
2	Однобічна перев'язка загальної сонної артерії	1,62±0,07	-	5,7±0,16	-	0,1±0,005	-	0,23±0,05	-
3	Сполука 1	1,75±0,04*	8	4,94±0,08*	-13,3	0,19±0,05*	5,5	0,25±0,02*	8,7
4	Сполука 2	1,88±0,06*	16	3,84±0,13*	-33,3	0,21±0,005*	16,6	0,38±0,03*	65,2
5	Сполука 3	1,9±0,08*	17,3	5±0,12*	-12,2	0,21±0,005*	16,6	0,29±0,02*	4,4
6	Пірацетам	1,85±0,15	55,4	7,44±0,62	-14,9	0,19±0,02	72,7	0,37±0,01	85
7	Контроль (ішемія)	1,19±0,18	-	8,75±0,49	-	0,11±0,01	-	0,2±0,01	

Примітка: * - $p<0,05$ в порівнянні з контролем.

Таблиця 4. - Вплив натрієвих солей β (2-метилхінолін-4-ілтіо)- молочної кислоти на активність ВВ-ізоформи КФК при гострому порушенні мозкового кровообігу.

№ п/п	Сполуки	ВВ-КФК (ммоль/1/год)	% змін
1	Інтактна група	0,042±0,006	-
2	Однобічна перев'язка загальної сонної артерії	0,1±0,004	-
3	Сполука 1	0,091±0,002*	-9
4	Сполука 2	0,072±0,003*	-28
5	Сполука 3	0,08±0,002*	-20,1
6	Пірацетам	0,08±0,03	-21,5
7	Контроль (ішемія)	0,102±0,06	-

Примітка: * - $p<0,05$ у порівнянні з контролем

При курсовому призначенні в гострому періоді ішемії натрієвих солей β (2-метилхінолін-4-ілтіо)-молочних кислот виявлено виражений їх вплив на показники вуглеводно-енергетичного обміну (табл. 3). Так, спостерігалося деяке збільшення вмісту АТФ у мозкових тканинах, причому сполука 2 найбільш збільшує показники окисної продукції енергії: рівень лактату - на 33,3%, пірувату - на 16,6%, малату - на 65,2%

Таким чином, введення в 6-те положення хінолінового циклу замісників (-OCH_3, -OC_2H_5) збільшує антиоксидантну та протиішемічну дію.

Наслідком антиоксидантного ефекту та позитивної реакції на порушення тонких ланок метаболізму була протегрна дія по відношенню до клітинних мембран мозкової тканини, про що свідчить зниження гіперферментації ВВ КФК (табл. 4).

Усі сполуки знижували гіперферментацію. З них сполука 2 за силою зниження перевершувала ефект пірацетаму і мала найбільший мембраностабілізуючий ефект. За рівнем збільшення антиоксидантної та церебропротекторної дії досліджені сполуки розміщуються в ряду $H<OCH_3<OC_2H_5$.

Таким чином встановлено, що медикаментозний захист вищенаведеними сполуками при експериментальній ішемії головного мозку є досить ефективний.

ВИСНОВКИ

Натрієві солі β (2-метилхінолін-4-ілтіо) – молочних кислот проявляють значну антиоксидантну та протиішемічну активність при однобічній перев' язці загальної сонної артерії.

Антиоксидантна активність досліджених сполук реалізується на ініціальних етапах ВРО за рахунок реактивації антиоксидантних ферментів (СОД, каталази, ГПР).

Досліджувані похідні впливають на ішемічні ушкодження головного мозку за рахунок інтенсифікації аеробних шляхів окислювання і підвищення енергетичного фонду нейроцитів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб.дело.–1988.–№11.– С.41-46.
2. Бєленічев І.Ф., Коваленко С.І., Дунаєв В.В. Антиоксиданти: сучасне уявлення, перспективи створення // Ліки. – 2002. – № 1.– С.25-29.
3. Беленичев И.Ф., Тишкин В.С. и др. Способ определения α-токоферола в биологическом материале // Тез. докл. IV съезда специалистов по лабораторной клинической диагностике республики Беларусь.– Гродно, 1992.– С .72.
4. Дунаев В.В., Беленичев И.Ф., Коваленко С.И. Антирадикальная и антиокислительная активность производных 1,2,4-триазола и хиназолина при ишемии головного мозга // Укр. биохим. журн. - 1998.– Т.68, №1. – С. 100-104.
5. Коган В.С., Орлов О.Н., Прилипко Л.Л. Проблема анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов.– М.: Медицина, 1988.– 287 с.
6. Королюк М.А. Способ определения активности каталазы // Лаб. дело.– 1988.– №1.– С. 16-19.
7. Омельянчик Л.О., Бражко О.А., Беленичев И.Ф. Изучение антиоксидантного и противоишемического действия 4-тиопроизводних хинальдина на модели острого нарушения мозгового кровообращения// Ліки.-2000.-№ 1-2.-С. 40-43.
8. Перекисное окисление липидов в норме и патогенезе различных заболеваний: Сб. научн. трудов / Под ред. М.И.Агаджакова.– Ереван, Астастаран, 1988.– 220 с.
9. Современные методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен): Под ред. М.И.Прохоровой. –Л.: Изд-во Ленинградского ун-та.– 1982.– 272 с.
10. Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и методы ее определения в биологическом материале // Лаб.дело.– 1988.– №11.– С. 678-681.