

- ного сектора України / М.Ф.Друкований // Збірник наукових праць Вінницького національного аграрного університету. – 2012. – № 1 (58), т. 10. – С.33-38.
4. Байрамов В.М. Основы химической кинетики и катализа: учеб. пособие для студ. высш. учеб. завед. / В.М.Байрамов. – М.: Издательский центр «Академия», 2003. – 256с.
 5. Протопопов А.В. Химическая кинетика. Катализ: методическое пособие к лабораторному практикуму по физической химии / А.В.Протопопов, Н.Г.Комарова. – Алт. гос. техн. ун-т им. И.И.Ползунова. – Барнаул: Изд-во АлтГТУ, 2011. – 76с.
 6. Общая химия. Биофизическая химия. Химия биогенных элементов / Ю.А.Ершов, В.А.Попков, А.С.Берлянд, А.З.Книжник. – М.: Высшая школа, 2000. – 560с.
 7. Курс лекцій з біохімії. Розділ «Біохімія ферментів» / Л.І.Гребеник, І.Ю. Висоцький. – Суми: Сумський державний університет, 2011. – 71с.
 8. Губський Ю.І. Біологічна хімія: підручник / Ю.І.Губський. – Київ-Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. – 508с.

Надійшла до редколегії 03.05.2017.

УДК 548.736:546.562:541.49.677.21

КОВАЛЕНКО А.Л., к.х.н., доцент
КИЗЫМИШИНА Т.О., зав. лабораторией

Днепропетровский государственный технический университет, г. Камянское

ОСОБЕННОСТИ КООРДИНАЦИОННЫХ СОЕДИНЕНИЙ БИОМЕТАЛЛОВ С АМИНОСПИРТАМИ РЕАКТИВИРОВАТЬ ХОЛИНЭСТЕРАЗУ И МЕМБРАННЫЕ МЕХАНИЗМЫ АНТИДОТНО-ЛЕЧЕБНОГО ДЕЙСТВИЯ

Введение. Лечение отравлений пестицидами с антихолинэстеразным механизмом токсикологического действия в настоящее время в медицинской практике осуществляется с помощью реактиваторов холинэстеразы (РХЭ) из класса оксимов (дипироксим, алооксим и др.) [1-3]. Существует острая необходимость в совершенствовании известных препаратов и разработке новых средств для антидотной терапии интоксикаций фосфорорганических пестицидов (ФОП), особенно, сочетающимися антихолинэстеразное действие с другими механизмами отравлений, например, со свободно радикальным или гепатотоксическим. Актуальность таких исследований связана с недостаточной эффективностью оксимов – РХЭ при отравлениях различными типами фосфорорганических пестицидов, с плохим проникновением их в центральную нервную систему, слабой активностью по отношению к центральным эффектам и с относительно высокой точностью. Принципиально новым направлением в изыскании средств терапии отравлений антихолинэстеразными веществами и регуляции (нормализации) процессов передачи нервного импульса является синтез и изучение эффективности координационных соединений биометаллов с различными физиологически активными лигандами, особенно из класса аминспиртов [4-6].

Постановка задачи. Установлено, что в составе детоксицирующих свойств лежит физиологический механизм – восстановление активности ингибированной холинэстеразы. Некоторые комплексы сочетают реактивирующую способность с активацией фермента, центральным терапевтическим действием, со способностью непосредственно взаимодействовать с ядами и элиминировать их из организма.

Проведена оценка координационных соединений Cu(II), Ni(II) с оксиалкилпроизводными аминов в сравнительном плане с аминспиртовыми комплексами других биометаллов (аналогами антидота ФОП диалкоба [Co(АДЭА)₂·Cl₂] [7] на модели интоксикации по терапевтической эффективности и по способности повышать активность ацетилхолинэстеразы с последующим исследованием клеточных мембранных механизмов их действия.

Цель работы – изучение возможности использования полученных координационных соединений Cu(II), Ni(II) с аминспиртами в качестве реактиваторов холинэстеразы и средств антидотной терапии интоксикаций фосфорорганическими пестицидами [8].

Результаты работы. В работе [4] описан синтез комплексных соединений типа $[\text{Me}(\text{РДЭА})_2]\text{Cl}_2$; $[\text{Me}(\text{РДЭА-Н})\text{Cl}]_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, где РДЭА-бензилдиэтанолламин, аллилдиэтанолламин или металилдиэтанолламин, Me-Ni^{2+} ; Cu^{2+} . Соединения изучены методом электронной и ИК-спектроскопии, дифференциального термического анализа, магнетохимии.

Изучена способность полученных соединений реактивировать холинэстеразу. Эксперимент проведен на модели интоксикации ДДВФ (0,0-диметил-0,2,2 дихлорвинилфосфат). Препарат ДДВФ вводили крысам в желудок в дозе 20 мг/кг в виде водного раствора, что соответствует $\frac{1}{2}\text{ЛД}_{50}$.

Животных первой группы (10 особей) не лечили. Крысам второй группы спустя 3-5 мин после отравления вводили препарат $\text{Ni}(\text{БЗДЭА})_2\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, третьей – $\text{Cu}(\text{БЗДЭА})_2\text{SO}_4$, четвертой – $[\text{Cu}(\text{МАДЭА-Н})\text{Cl}]_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Контролем служили интактные животные. Активность холинэстеразы определяли фотометрическим методом Хестрина в сыворотке, эритроцитах, печени и мозге через 1,5 часа после введения ДДВФ. Исследования показали, что изученные комплексы восстанавливают активность фермента во всех биосубстратах, за исключением препарата $\text{Cu}(\text{БЗДЭА})_2\text{SO}_4$, после инъекции которого активность холинэстеразы повышалась только в мозге. Наиболее выраженной способностью восстанавливать активность холинэстеразы обладает препарат $[\text{Cu}(\text{МАДЭА-Н})\text{Cl}]_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$. В этом случае активность фермента восстанавливается полностью в сыворотке, печени и мозге и почти полностью (78% по отношению к контролю) в эритроцитах.

В связи с тем, что при введении препаратов в качестве растворителя использовали диметилсульфоксид (ДМСО), нами изучено влияние на холинэстеразу растворителя. Крысам вводили ДМСО в тех же дозах, как и при введении препаратов. Исследования проведены по описанной выше схеме. Отмечено, что ДМСО снижает активность холинэстеразы в сыворотке на 30% и в эритроцитах на 38%. В связи с этим можно полагать, что исследованные препараты при использовании с индифферентными растворителями могли иметь еще более выраженную терапевтическую активность и реактивирующую способность на модели интоксикации ФОП.

Проведено гистохимическое исследование фермента в центральной нервной системе и нервно-мышечных синапсах по методу Г.Гомори. В опытах использовалась инкубационная среда с ацетилтиохолиниодидом. Фиксация материала проводилась в кальций-формоле.

Контроль. В разных участках головного мозга активность холинэстеразы и ее топография обычны. Наиболее высокая степень активности (1У) выявляется в хвостовом ядре полосатого тела, передних бугорках четверохолмия, а также соответственно скоплением ганглиозных нервных клеток ядер различной локализации.

Активность фермента несколько меньшая, но все же высокая (III) наблюдается в гиппокампе, области Варолиевого моста, сером веществе нижней извилины мозжечка. Относительно небольшая активность (II) присуща большинству остальных отделов мозжечка. Наименьшая активность (I) отмечается в белом веществе коры больших полушарий, мозолистом теле и некоторых других отделах. В полосатом теле высокая активность холинэстеразы определяется как в самих клетках, так и вне их. Проходящие через полосатое ядро пучки внутренней капсулы имеют низкую холинэстеразную активность.

В спинном мозге ферментная активность также обычна. Наиболее высокая степень ее наблюдается в телах мотонейронов передних рогов серого вещества, несколько меньшая – вне клеточных элементов, а также в цитоплазме мелких рассеянных нервных клеток.

Двигательные бляшки поперечно-полосатой мышцы бедра с высокой холинэстеразной активностью образуют четкие цепочки разной ширины, имеют характерную

петлистую структуру, не всегда хорошо выявляемую из-за обильных отложений продуктов гистохимической реакции.

Ингибция. Спустя 1,5 часа после перорального введения крысам $\frac{1}{2}$ ЛД₅₀ (20 мг/кг) ДДВФ, у животных обнаружены следующие гистохимические изменения.

В головном мозге, в области хвостатого ядра полосатого тела активность холинэстеразы слегка или умеренно снижена. В последнем случае уменьшение уровня активности отмечается как внутри клеточных элементов, так и вне их. В других участках мозга заметных отклонений от нормы не обнаруживается:

- в спинном мозге, в сером веществе передних рогов наблюдается умеренное снижение активности холинэстеразы как в телах мотонейронов, так и в межклеточных полях. В последних снижение ферментной активности иногда относительно менее заметно;
- в поперечно-полосатой мышце, в местах нервно-мышечных синапсов активность холинэстеразы выражена не везде одинаково. В большинстве двигательных бляшек активность слегка снижена, в некоторых – умеренно.

Отмечается небольшая активность в саркоплазме мышечных волокон вокруг бляшек.

Реактивация. После воздействия на крыс ДДВФ и введение комплексного соединения (с интервалом между введением веществ в 3-5 мин.) установлено следующее:

- в головном мозге, в области хвостового ядра полосатого тела заметен некоторый реактивирующий эффект – активность холинэстеразы несколько более высокая, чем у других животных, отравленных ДДВФ, и не получающих реактиватора. В других участках головного мозга повсеместно различий не замечено;
- в спинном мозге степень активности холинэстеразы у разных животных индивидуально варьируется. В телах мотонейронов передних рогов ферментная активность или не отличается от таковой у отравленных крыс, или немного выше;
- в моторных бляшках поперечно-полосатой мышцы реактивирующий эффект выражен белее четко. Активность холинэстеразы у подопытных крыс приближается во многих двигательных бляшках по своему уровню к активности контрольных. В саркоплазме, вокруг бляшек, холинэстеразная активность снижена в большей или меньшей степени.

Таким образом, в условиях проведенных экспериментов наблюдающиеся гистохимические сдвиги в разных участках головного мозга, в спинном мозге и нервно-мышечных синапсах умеренны, незначительны или не выявляются. Это относится, соответственно, как к проявлениям ингибирующего действия ДДВФ, так и к реактивирующему холинэстеразному эффекту. Так, введение крысам ДДВФ вызывает затемненное снижение активности холинэстеразы лишь в некоторых местах, в частности, в хвостовом ядре полосатого тела, то есть в одном из участков, где в норме эта активность наиболее высокая. Ингибирующий эффект менее выражен по сравнению с наблюдавшимся в опытах с введением крысам 2 ЛД₅₀ ДДВФ. С этим обстоятельством эксперимента, по-видимому, связан хотя и заметный, но сравнительно небольшой реактивирующий эффект препарата, выраженный в нервно-мышечных синапсах.

При сравнительном анализе эффективности комплексов в условиях интоксикации ДДВФ по величинам ИТЭ и оценки реактивации ингибиторной холинэстеразы видно, что терапевтический эффект (по выживаемости) обеспечивается не только реактивацией фермента.

В связи с этим были проведены исследования мембранных механизмов в условиях интоксикации ФОР (на модели ДДВФ) и антитоксического действия препарата $[\text{Co}(\text{АДЭА})_2] \cdot (\text{NO}_3)_2$.

Наиболее удобным объектом для исследования являются гигантские нейроны моллюсков. Исследование проведено на моллюсках прудовых обыкновенных (*Lymnaea stagnalis*).

Влияние ацетилхолина. Изучаемые нами 3 идентифицированные нейрона малого паристального ганглия отвечают на ацетилхолин однофазной реакцией – деполяризации. Одним из первых компонентов в действии медиатора на нейроны моллюсков является изменение импульсной спонтанной активности. Частота импульсивной активности под влиянием ацетилхолина через 1 мин. увеличивается в 4 раза – с 33 имп./мин. до 138 имп./мин. На фоне учащения импульсной активности или ее возникновения (в случае «молчащего» нейрона) уже через 1 мин. после добавления ацетилхолина величина мембранного потенциала (МП) достоверно снижается на 8-11 мВ – с 61,3 мВ до 50,6 мВ. В течение 5-10 мин. действия ацетилхолина величина поляризации мембраны нейрона прудовиков почти возвращается к исходному уровню – 59,7 мВ. МП остается почти на том же уровне – 63,6 мВ. Спонтанная импульсивная активность за это время постепенно возвращается к норме, затем снижается ниже исходного уровня и в результате наступает полный блок проведения – активности спонтанной нет.

Установлено, что ацетилхолин вызывает сдвиг уровня поляризации мембраны в сторону деполяризации, изменение спонтанной импульсной активности и не изменяет возбудимость нейрона.

Влияние препарата $[\text{Co}(\text{АДЭА})_2] \cdot (\text{NO}_3)_2$. Изучение действия препарата на спонтанно активные нейроны показало, что действие препарата на мембрану нейронов моллюсков противоположно действию, оказываемому на мембрану ацетилхолином. Это видно, исходя из следующих факторов:

- снижение возбудимости нейронов под влиянием препарата и неизменность её при действии ацетилхолина;
- развитие гиперполяризации нейронов под влиянием препарата и деполяризации их под влиянием ацетилхолина;
- урежение спонтанной импульсной активности нейронов под действием $[\text{Co}(\text{АДЭА})_2] \cdot (\text{NO}_3)_2$ и учащение её под влиянием ацетилхолина.

Выводы. На основе медико-биологических исследований синтезированных соединений в сравнительном плане с различными аминокислотными комплексами биометаллов охарактеризованы терапевтическая эффективность комплексов на модели интоксикации ФОП и реактивирующие свойства по отношению к фосфорилированной ацетилхолинэстеразе в различных субстратах.

Показано, что в условиях интоксикаций антихолинэстеразными веществами эффект изменения клеточных мембран и состояния возбудимости нервных клеток под влиянием комплексных соединений может предупреждать или устранять токсическое действие на центральную нервную систему.

ЛИТЕРАТУРА

1. Голиков С.Н. Профилактика и терапия отравлений фосфорорганическими инсектицидами / Голиков С.Н. – М.: Медицина, 1968. – 168с.
2. Голиков С.Н. Реактиваторы холинэстеразы / С.Н.Голиков, С.Д.Заугольников. – Л.: Медицина, 1970. – 158с.
3. Справочник по пестицидам. (Гигиена применения и токсикология) / под ред. Медведь Л.И.. – Киев: Урожай, 1974. – С.448.
4. Евреев В.Н. Комплексные соединения кобальта с диэтаноломином / Евреев В.Н., Голуб В.А. // Журнал неорганической химии. – 1972. – Т.17, вып. 5. – С.1388-1393.
5. Евреев В.Н. Биядерные комплексы кобальта с трис-(оксиметил)-аминометаном / В.Н.Евреев, А.П.Богданов, В.В.Зеленцов // Координационная химия. – 1978. – Т.4, вып. 11. – С.1718-1724.
6. Евреев В.Н. Бисдиаминоизопропаноловые комплексы кобальта (III) протонированного типа / В.Н.Евреев, С.В.Мурашко, В.Е.Петрунькин // Журн. неорг. химии. – 1974. – Т.19, вып. 10. – С.2739-2743.

7. Каган Ю.С. Общая токсикология пестицидов / Каган Ю.С. – Киев: Здоровье, 1981. – 174с.
8. Голиков С.Н. Неотложная помощь при острых отравлениях / Голиков С.Н. – М.: Медицина, 1978. – 312с.

Поступила в редколлегию 29.03.2017.

УДК 548.736:546.562:541.49.677.21

КОВАЛЕНКО А.Л., к.х.н., доцент
КІЗИМШИНА Т.О., зав. лабораторії
ШУМИЛО К.П., студентка

Дніпровський державний технічний університет, м. Кам'янське

ОДЕРЖАННЯ ЛІКУВАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ ПОЛІЕТИЛЕНГЛІКОЛЮ ТА КООРДИНАЦІЙНИХ СПОЛУК Cu(II) з 2-АМІНО-2-ОКСИМЕТИЛ-1,3-ПРОПАНДІОЛОМ

Вступ. Одним з основних напрямків хімії високомолекулярних сполук є хімічна модифікація синтетичних та природних високомолекулярних полімерів.

Розробка цієї проблеми як для синтетичних, так і для природних полімерів успішно здійснюється в численних лабораторіях. Для синтетичних полімерів таке завдання може бути вирішене зміною складу або співвідношення початкових мономерів у процесі синтезу, а також шляхом перетворення вже отриманих полімерів. Для природних високомолекулярних полімерів, будова й хімічний склад яких визначається процесом біохімічного синтезу, основним методом здійснення цього складного завдання є хімічна модифікація. Хімічна або структурна модифікація дозволяє отримати продукт з найширшим спектром нових практично цінних властивостей [1].

Особливий інтерес у цьому плані має модифікація волокнистих полімерів комплексними сполуками біометалів з метою створення нових видів препаратів медико-біологічного призначення і використання їх в практичній біотехнології, а також одержання лікувальних препаратів на жировій основі.

Постановка задачі. Метою роботи є визначення можливості використання координаційних сполук біометалів з біолігандами типу $[Cu(ТРИС)_2 - Н] \cdot Н_2О [X \cdot Н_2О]$, де (ТРИС) – $NH_2C(CH_2OH)_3$ – 2-аміно-2-оксиметил-1,3-пропандіол; X – Cl, Br або NO_3 , для одержання лікувальних мазей на жировій основі – поліетиленгліколь (ПЕГ), і подальшого їх використання в практичній медицині.

Біологічні властивості координаційних сполук залежать як від природи центрального атома, так і від лігандів. Отримано координаційні сполуки перехідних металів з аміноспиртами, лікарськими речовинами. Визначено їх будову, властивості, досліджена залежність фізіологічної активності від будови й природи ліганду. Розроблено емпіричні й теоретичні методи пошуку фармакологічних засобів, які орієнтовані на отримання нових і поліпшення раніше синтезованих ліків [2].

Широкі перспективи для застосування комплексних сполук біометалів у медицині дають можливість хімічної модифікації з їх допомогою різних лікувальних матеріалів, які використовують у клінічній практиці.

Інший аспект цієї проблеми – використання природного біодеструкторного полімеру целюлози для створення пролонгованих форм лікарських препаратів, діючих місцево або які депонують лікарську речовину в організмі.

Найбільш зручним об'єктом для отримання фізіологічно активних похідних целюлози являється діальдегід целюлоза (ДАЦ) і поліетиленгліколь.

Вже в кінці двадцятого століття вчені запропонували перспективне використання протеолітичних ферментів протеаз у вигляді проточного ферментативного некролі-