

## **ХІМІЧНІ ТЕХНОЛОГІЇ ТА ІНЖЕНЕРІЯ. БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА БІОІНЖЕНЕРІЯ**

УДК 548.736:546.562:541.49

DOI 10.31319/2519-2884.35.2019.51

КОВАЛЕНКО А.Л., к.х.н., доцент

КИЗЬМИШИНА Т.А., зав. лаб.

Днепропетровский государственный технический университет, г. Каменское

### **КОМПЛЕКСНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ КУПРУМ (II) С АМИНОСПИРТАМИ КАК АКТИВАТОРЫ ПРОЛИФЕРАЦИИ ГЕПАТОЦИТОВ**

**Введение.** В работах [1-3] описаны методики синтеза координационных соединений купрум (II) с аминспиртами типа  $[\text{Cu}(\text{БЗДЭА})_2]\text{X}_2$ ,  $[\text{Cu}(\text{РДЭА-Н})\text{Cl}]_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ , где БЗДЭА – бензилдиэтанолламин, РДЭА – N-производные диэтанолламина, R –  $\text{C}_3\text{H}_5\text{N}$  (АДЭА),  $\text{C}_3\text{H}_7\text{N}$  (ПДЭАЗ),  $\text{C}_4\text{H}_7\text{N}$  (МАДЭА); X –  $\text{SO}_4^{2-}$ ;  $\text{NO}_3^-$ . Полученные соединения изучены методами физико-химического анализа, установлены их состав, строение.

Представляло интерес изучить полученные комплексные соединения меди (II) с аминспиртами в качестве стимуляторов роста клеток животных и человека.

Проблема стимулирования ростовых способностей клеток животных и человека в настоящее время интересует практическую медицину, во-первых, с точки зрения регенерации органов и тканей; во-вторых, с позиций наработки клеточного материала и его использования для трансплантации; в-третьих, для получения из клеток, выращиваемых вне организма, различных биологически активных веществ [4-8]. В случаях терапии интоксикаций химической этнологии особый интерес эта проблема приобретает для веществ с выраженными гепатотоксическими свойствами.

**Постановка задачи.** Ткань печени представлена высокоспециализированными и дифференцированными клетками. Основные функциональные клетки печени (гепатоциты) здоровых взрослых особей обладают пролиферативной активностью в незначительной степени. Управление процессами пролиферации клеток печени является одной из важнейших проблем современной химической патологии. В настоящее время широко ведется поиск веществ, активирующих процессы пролиферации. Этот поиск идет, главным образом, по двум направлениям: получение естественных активаторов из тканей и органов животных, тканей растений, а также получение синтетических препаратов, усиливающих пролиферативные свойства клеток. Как правило, получение многих естественных активаторов пролиферативной активности является сложным и дорогостоящим процессом. Поэтому, весьма актуальной задачей является поиск и получение недорогих и общедоступных веществ, синтезированных на основе известных химических и биологически активных соединений.

При исследовании серии комплексных соединений биометаллов с аминспиртами некоторые из них оказались эффективными в этом плане:  $[\text{Cu}(\text{БЗДЭА})_2]\text{Cl}_2$ ,  $[\text{Cu}(\text{АДЭА-Н})\text{Cl}]_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  и  $[\text{Cu}(\text{МАДЭА-Н})\text{Cl}]_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ . Введение этих комплексов в культурную среду при определенных концентрациях вызывает выраженное митотическое деление гепатоцитов.

**Результаты работы.** В качестве тест-системы использована первичная монослойная культура гепатоцитов нормальной печени взрослой крысы. Данные оценивались методами радиоавтографии, морфометрии и визуального наблюдения за культурой. Использовалась среда «Игла» с добавлением 20% сыворотки крупного рогатого скота и антибиотиков (канамицин, мономицин). Отбор проб культивируемых гепатоци-

тов проводился через 18, 24, 48, 72, 96, 120 часов от нулевой отметки. Нулевой отметке на рис.1-3 соответствует 24-х часовая культура гепатоцитов. Смена среды и внесение веществ осуществлялись в сроки, указанные стрелками на рис.1-3.

Подсчет количества меченных изотопом клеток проводился на 1 тыс. просмотренных гепатоцитов и выражался в процентах. Время инкубации с  $^3\text{H}$ -тимидином – 1 час, концентрация изотопа – 1 мкКи/мл среды. Морфометрические измерения проводились на цитологическом анализаторе «Интеграл-2МТ». Измерялись размеры площадей ядер гепатоцитов.

Кроме опытной и контрольной групп для сравнения были еще две группы, содержащие известные активаторы пролиферации – инсулин и витамин  $\text{B}_{12}$ .

При внесении в культурную среду комплексных соединений отмечалось значительное увеличение количества ДНК-синтезирующих гепатоцитов – для  $[\text{Cu}(\text{БЗДЭА})_2]\text{Cl}_2$  в 8,3 раза по сравнению с контролем и с группой клеток, в среду которых вносили витамин  $\text{B}_{12}$ , и в 3,1 раза по сравнению с группой клеток, культивируемых с инсулином, а для вещества  $[\text{Cu}(\text{АДЭА-Н})\text{Cl}]_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  – соответственно в 6,3 и в 1,7 раза (рис.1).

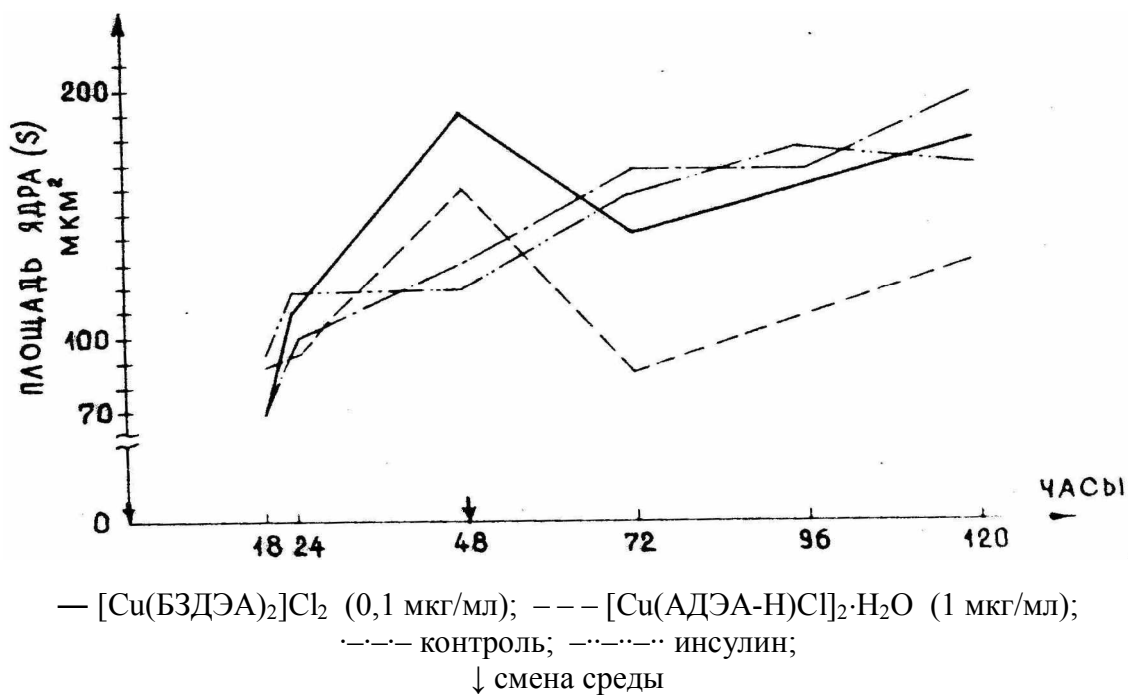


Рисунок 1 – Изменение S под влиянием веществ  $[\text{Cu}(\text{БЗДЭА})_2]\text{Cl}_2$  и  $[\text{Cu}(\text{АДЭА-Н})\text{Cl}]_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$

Процесс синтеза ядерной ДНК может завершиться для гепатоцита либо полиплоидизацией, либо его митотическим делением. Для решения этого вопроса были проведены морфометрические исследования размеров площадей ядер гепатоцитов (рис.2). Совместно оценивая данные радиоавтографии и морфометрии можно отметить, что только при внесении веществ  $[\text{Cu}(\text{БЗДЭА})_2]\text{Cl}_2$  и  $[\text{Cu}(\text{АДЭА-Н})\text{Cl}]_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  после увеличения индекса метки (ИМ) наблюдалось снижение размеров площадей ядер гепатоцитов, что свидетельствует о делении клеток. Именно в этих случаях обнаруживались гепатоциты на различных стадиях митоза.

В контроле при внесении инсулина и в группе с витамином  $\text{B}_{12}$  после увеличения ИМ размеры площадей ядер гепатоцитов неуклонно увеличивались, т.е. преобладали процессы полиплоидизации.



тоцитов возрастало в 4,0 раза по сравнению с контролем и с группой клеток, в среду которых вносили витамин В<sub>12</sub>. Тормозящее действие низких концентраций [Cu(МАДЭА-Н)Cl]<sub>2</sub>·Н<sub>2</sub>О с цитотоксическим эффектом не связано, т.к. в культуре хорошо выражено распластывание гепатоцитов на подложке коллагена.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что комплексные соединения с аминокспиртами [Cu(БЗДЭА)<sub>2</sub>]Cl<sub>2</sub> и [Cu(АДЭА-Н)Cl]<sub>2</sub>·Н<sub>2</sub>О являются выраженными активаторами пролиферативных свойств гепатоцитов печени. Применение этих веществ вызывает значительное увеличение (соответственно в 6,3 и 8,3 раза) количества ДНК-синтезирующих гепатоцитов по сравнению с контролем. Причем синтез ДНК в этих гепатоцитах заканчивается митотическим делением.

Вещество [Cu(МАДЭА-Н)Cl]<sub>2</sub>·Н<sub>2</sub>О в концентрации 1 мкг/мл обладает аналогичным действием. В концентрации 0,1 мкг/кг препарат по сравнению с контролем вызывает обратный эффект – уменьшение количества ДНК-синтезирующих гепатоцитов.

Обнаруженные эффекты могут быть использованы при решении отдельных проблем практического здравоохранения, биотехнологии, а также задач теоретического характера.

Изученные координационные соединения отличаются относительной простотой и дешевизной получения по сравнению с естественными активаторами пролиферации типа инсулина и витамина В<sub>12</sub>.

**Выводы.** Синтезированы и охарактеризованы координационные соединения биометаллов с биолигандами, которые обладают ростостимулирующим влиянием на паренхиматозные клетки печени в культуре. Полученные активаторы пролиферации гепатоцитов отличаются от известных митотических стимуляторов клеток природного происхождения большей эффективностью и доступностью получения.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Голиков С.Н. Профилактика и терапия отравлений фосфорорганическими инсектицидами. М.: Медицина, 1968. 168с.
2. Голиков С.Н., Заугольников С.Д. Реактиваторы холинэстеразы. Л.: Медицина, 1970. 158с.
3. Гиллебранд В.Ф., Лендель Г.Э., Брайт Г.А., Гофман Д.И. Практическое руководство по неорганическому анализу. М.: Химия, 1966. 1111с.
4. Евреев В.Н. Материалы докладов выездной сессии научного Совета АН СССР, посвящ. проблемам бионеорганической химии. Краснодар, 1976. 29с.
5. Физико-химическое исследование бисхелатов Кобальта (II) с аминокспиртами в твердом состоянии / В.Н.Евреев и др. Координационная химия, 1978. Т.4, вып.1. С.88-96.
6. Оксегендлер Г.И. Яды и противоядия. М.: Медицина, 1982. 73с.
7. Евреев В.Н. Основные направления в изучении координационных соединений кобальта и других биометаллов с физиологически активными веществами как потенциальных лечебных и диагностических средств при интоксикации пестицидами. Гигиена применения, токсикология пестицидов и полимерных материалов, 1983. Вып. 13. С.166-171.
8. Сасинович Л.М., Алехина С.М., Кузьминская У.А. Изоферментный спектр холинэстеразы тканей белых крыс при интоксикации ДДВФ и лечении реактиваторами. Фармакология и токсикология, Деп. В ВИНТИ, №2557 – 79 от 13.07.79.

*Поступила в редколлегию 03.06.2019.*