

## ОРИГІНАЛЬНА СТАТТЯ

УДК 541.49.943.8:547.915

## АНТИОКИСЛЮВАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ПОВЕРХНЕВОГО КОМПЛЕКСУ ПОЛІ(3-АМІНОПРОПІЛ)СИЛОКСАНУ З ІОНАМИ МІДІ (II)



Сташкевич Марина Анатоліївна,  
matviyenko.maryna@gmail.com

Сташкевич М.А., Гайова Л.В., Стеченко О.В., Осінська Л.Ф.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна

**Резюме.** Стаття присвячена пошуку нових біологічних властивостей комплексу полі(3-амінопропіл)силоксану з іонами міді (II), для якого раніше була встановлена висока антимікробна активність по відношенню до штамів, які викликають виразкову хворобу шлунка та дванадцятипалої кишки. Актуальність вибору саме мідьвмісного комплексу, як об'єкта досліджень, обумовлена тим, що мідь відіграє важливу роль в різноманітних метаболічних процесах в організмі людини: біологічного окислення, синтезу макроергічних сполук, утворення білків сполучної тканини, обміну заліза. Мідь (II) є кофактором ферментів, що відіграють важливу роль у захисті організму від активних форм кисню – супероксиддисмутази (СОД), церулоплазміни (ЦП), ксантинооксидази, аскорбатоксидази та ін. Таким чином, сполуки міді захищають клітини живих організмів від окислювального стресу, активації вільнорадикального окислення ліпідів та окислювальної модифікації білків, особливо в біомембранах. В роботі вивчено антиокислювальну активність комплексу полі(3-амінопропіл)силоксану з іонами міді (II) ( $\text{Cu}^{2+}$ -ПАПС) в модельних системах з використанням ліпосом яєчного жоєтку та антирадикальну активність цього комплексу по інгібуванню відновлення *p*-нітротетразолію хлористого аніон-радикалом, який генерується фотохімічною системою. Встановлено, що утворення малонового діальдегіда з ліпосом яєчного фосфатидилхоліну при внесенні в модельну систему досліджуваного препарату міді –  $\text{Cu}^{2+}$  - ПАПС достовірно знижується. Механізм антиокислювальної активності препарату може бути пов'язаний із інгібуванням утворення органічних радикалів, переводом перекиси в стабільні продукти окислення: спирти, альдегіди, кетони, або зміною структурної організації субстрату, що гальмує окислення. Отримані авторами результати свідчать про антиокислювальну та антирадикальну активність комплексу  $\text{Cu}^{2+}$ -ПАПС. Так, цей комплекс інгібував окислення фосфоліпідів в модельних системах та виявляє антирадикальну активність (до 80% в порівнянні з іонолом та приблизно 60 % в порівнянні з церулоплазміном). Одержані дані підтверджують доцільність подальшого доклінічного скрінингу поверхневого комплексу полі(3-амінопропіл)силоксану з іонами міді (II).

**Ключові слова:** антирадикальна активність, антиокислювальна активність, комплекс полі(3-амінопропіл)силоксану з іонами міді (II).

**Вступ.** Важлива роль міді в організмі людини: вона входить до складу деяких ферментів і бере участь в багатьох фізіологічних процесах, впливаючи на обмін речовин та процеси росту. Мідь бере участь в процесах окислення і забезпечує енергією, антиоксидантним захистом, продовжуючи життя, бере участь в утворенні сполучної тканини – еластину, колагену і пігменту шкіри меланіну [1].

Крім того, мідь входить до складу ферментів, що відіграють важливу роль у захисті організму від вільних

радикалів. У нормі вільні радикали утворюються в невеликій кількості, але під дією несприятливих факторів середовища, куріння, дії інтенсивного сонячного випромінювання їхня кількість може значно зростати. З цією обставиною пов'язують і роль міді в підтриманні імунітету.

Як і залізо, мікроелемент мідь відіграє важливу роль в процесах біологічного окислення, що забезпечують організм енергією. Іон міді є центром, в якому відбувається взаємодія з молекулярним киснем  $\text{O}_2$ . Мідь

необхідна для нормального обміну заліза, для його транспорту, перш за все – для використання запасів заліза, що містяться в печінці. При нестачі міді ці процеси порушуються і розвивається анемія з одночасним накопиченням в печінці надлишку заліза. Для лікування такої анемії необхідне не залізо, а препарати міді.

Мідь необхідна також для нормального утворення білків сполучної тканини – еластину кровноносних судин і колагену, що утворює білковий каркас кісток скелету. Саме тому нестача міді, порушуючи міцність кровноносних судин і кісток скелету, може підвищувати ризик серцево-судинних захворювань і сприяти розвитку остеопору. Під час вагітності нестача міді може вплинути на формування кісток плоду і схильність до рахіту.

Сполукам міді (II) належить важлива роль в регуляції ряду важливих метаболічних процесів організмів тварин та рослин. Вони беруть участь в процесах біологічного окислення, синтезу макроергічних сполук. Мідь (II) входить до складу активного центру ферментів – супероксиддисмутази (СОД), церулоплазміни (ЦП), ксантиноксидази, аскорбатоксидази, поліфенолоксидази, цитохром-с-оксидази, моноаміноксидази, цитохрома P<sub>450</sub>, каталази. Зокрема, СОД та ЦП є основними антиоксидантними ферментами, які захищають клітини живих організмів від окислювального стресу, активації вільно радикального окислення ліпідів та білків, особливо в біомембранах. Разом з вітамінами-антиоксидантами ці ферменти створюють систему антиоксидантного захисту клітин [2].

Мідь міститься в тваринних продуктах – баранині, телятині, телячій та свинній печінці. Збагачені мінералом морські продукти: восьминоги, креветки, омари, кальмари, краби, печінка тріски. Наш організм отримує мідь з квасолі, гороху, горіхів, какао, свіжої каші, чорного і пшеничного хліба. Міститься мікроелемент в деяких лікарських травах, таких як полин, тисячелистник, звіробій, душиця.

Щоденна доза з їжею становить 2 мг, а при великих навантаженнях – до 3 мг міді. Підвищених доз мінералу потребують ті, що хворіють ішемічною хворобою серця та з інфарктом міокарда. З вітаміном С мідь підвищує опір організму інфекціям. В організмі дорослої людини міститься від 100 до 200 мг міді.

Відомі випадки глибокого дефіциту міді з розвитком відповідної анемії внаслідок довготривалого, регулярного прийому підвищених доз цинку, що порушують всмоктування міді в кишечнику [1].

**Мета роботи.** Завданням роботи було дослідження антиоксидантних та антирадикальних властивостей поверхневого комплексу полі(3-амінопропіл)силоксану з іонами міді (II) (Cu<sup>2+</sup>-ПАПС), одержаного методом адсорбції в статичному режимі [3]. Відома висока антимікробна активність цього комплексу по відношенню до штамів Ps. Aeruginosa 27853 (синьогнійної палички) та H. Pylori 1, які викликають виразкову хворобу шлунка та дванадцятипалої кишки [4], але ж здібність Cu<sup>2+</sup>-ПАПС протидіяти активним формам кисню раніше не досліджувалася.

**Матеріали і методи дослідження.** Оцінювали загальну антиокислювальну активність досліджуваного препарату на модельній системі з використанням ліпосом жовтого фосфатидилхоліну. Для активації системи використовували FeCl<sub>3</sub> 1·10<sup>-4</sup>М і аскорбат 5·10<sup>-4</sup>М.

Антиокислювальну активність препаратів оцінювали за інгібуванням утворення малонового альдегіду (МДА) і розраховували за різницею між вмістом малонового альдегіду в “чистих” ліпосомах із залишковим вмістом його при внесенні препарату. Для розрахунку використовували коефіцієнт молярної екстинкції E – 1,56 10 М см<sup>-1</sup> [3].

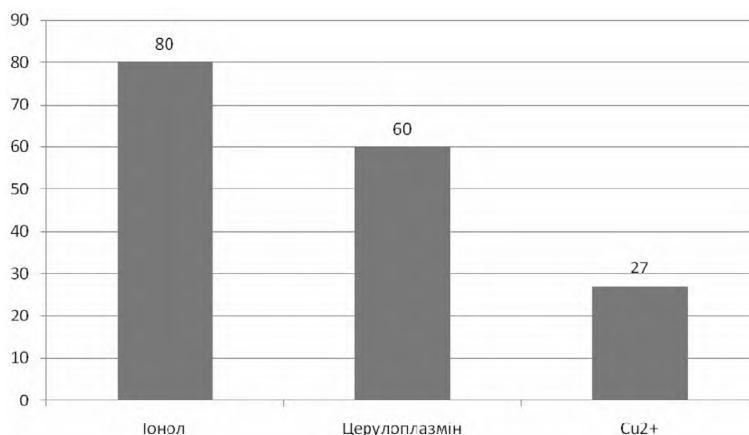
Антирадикальну активність препарату визначали за інгібуванням відновлення паранітротетразолію хлористого (НТХ) аніонрадикалом, який генерується фотохімічною системою.

Відомо, що метали змінної валентності беруть активну участь в життєдіяльності організму. Авторами показано, що комплекси Cu<sup>2+</sup> хелатоутворюючими лігандами здатні ефективно гальмувати радикально-ланцюгове окислення органічних речовин молекулярним киснем і можуть бути пропонувані в якості антиоксидантів. [3]

При порівнянні впливу металокомплексів Cu<sup>2+</sup>, а-токоферолу та іонола на перекисне окислення ліпідів плазми крові і модельних систем фосfolіпідів (сфінгомієліну та лецитину) авторами показано, що досліджені металокомплекси Cu<sup>2+</sup> в низьких концентраціях гальмують перекисне окислення ліпідів і проявляють антиокислювальну активність. Досліджені антиоксиданти за силою гальмування перекисного окислення ліпідів можуть бути розташовані в наступному порядку: а-токоферол > Cu<sup>2+</sup> > іонол.

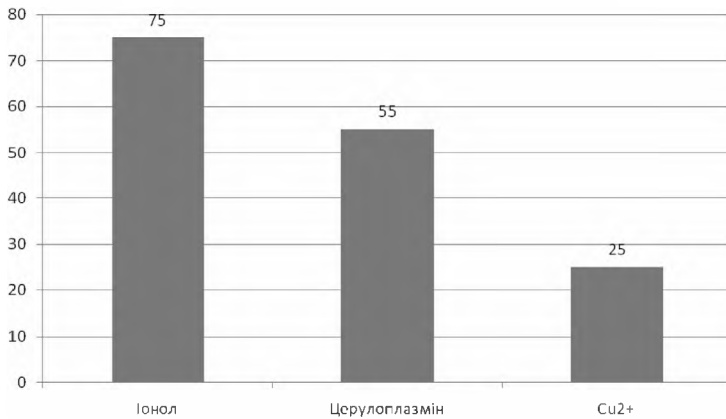
Антиокислювальна активність досліджуваного комплексного препарату міді була підтверджена авторами, які досліджували комплексні сполуки міді з халатними лігандами хемілюмінесцентним методом [5].

**Результати і обговорення.** Як свідчать отримані результати, антиокислювальна активність (утворення малонового діальдегіду з ліпосом яєчного фосфатидилхоліну) при внесенні в модельну систему досліджуваного препарату міді – Cu<sup>2+</sup> – ПАПС достовірно знижується. Інгібуючий ефект складає 27% (відносно контрольного досліджу



По осі ординат – % інгібування МДА.

Рис. 1. Антиокислювальна активність поверхневого комплексу полі(3-амінопропіл)силоксану з іонами міді(II) Cu<sup>2+</sup>-ПАПС (1·10<sup>-3</sup> М) в порівнянні з антиоксидантами – іонолом та церулоплазміном (ЦП) (1·10<sup>-3</sup> М).



По осі ординат – % інгібування НТХ.

Рис. 2. Антирадикальна активність поверхневого комплексу полі(3-амінопропіл)силоксану з іонами міді(II) (Cu<sup>2+</sup>-ПАПС) (1\*10<sup>-3</sup> M) в порівнянні з антиоксидантами – іонолом та церулоплазміном (ЦП) (1\*10<sup>-3</sup> M).

ліпосом (рис. 1). Механізм антиокислювальної активності препарату може бути пов'язаний із інгібуванням утворення органічних радикалів, переводом перекисі в стабільні продукти окислення: спирти, альдегіди, кетони, або зміною структурної організації субстрату, що гальмує окислення. При порівнянні дії препарату з еталонними антиоксидантами – іонолом і ЦП виявлено, що їх антиокислювальна активність більш виражена. Так, іонол інгібував утворення МДА на 80%, мідь-вмісний фермент ЦП на 60%.

При дослідженні запальних процесів (ревматоїдний артрит) встановлено, що вони супроводжуються збільшенням концентрації іонів Cu<sup>2+</sup> в синовіальній рідині хворих [4]. Раніше було встановлено, що підвищення вмісту міді в крові супроводжується збільшенням концентрації церулоплазміну, тобто практично вся “надлишкова” мідь знаходиться у складі мідь-вмісного ферменту. Церулоплазмін має виражену оксидазну активність і його розглядають як оксидазу аскорбінової кислоти ссавців. Виражену оксидазу на активність комплексів міді автори розглядають вивчені комплекси як функціонуючі моделі церулоплазміну, що імітують його дію в реакції окислення аскорбінової кислоти *in vivo*.

Дослідження взаємодії проти запальних препаратів із комплексом міді дозволяє припустити, що в механізмі терапевтичної дії вивчених препаратів певне значення може мати конкурентна взаємодія їх з ферментом за метал. При цьому утворюються потрібні комплекси церулоплазмін – мідь (II) – ліганд та низькомолекулярні комплекси мідь (II) – ліганд, що потім можуть брати участь в оксидазних реакціях, в результаті чого руйнується надлишок медіатора запалення в організмі та окислюється аскорбінова кислота.

При дослідженні антирадикальної активності препарату Cu<sup>2+</sup> – ПАПС виявлена властивість його до антирадикальної дії. Препарат інгібував відновлення НТХ у модельній системі на 25% (в порівнянні з контрольним дослідом). Антирадикальна активність іонолу і ЦП складала 75% і 55% відповідно. Антирадикальна активність Cu<sup>2+</sup> – ПАПС може бути пов'язана з поєднанням O<sub>2</sub><sup>-</sup> в реакціях дисмутації або з інгібуванням утворення органічних радикалів кисню – O<sub>2</sub><sup>-</sup>, OH.

Мідь-вмісний фермент супероксиддисмутаза використовується з лікувальною метою. Так, препарат еритро-

цитарна супероксиддисмутаза (Ерісод) використовується для лікування обпечених у стані опікового шоку [6].

У дослідженнях авторів показано, що йони Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup> в концентрації 2 мМ ефективно гальмують продукцію супероксиданіона O<sub>2</sub><sup>-</sup> при каталізованому рибофлавіном фотоокисленні ЕДТА, нікотину чи метіоніну. Cu<sup>2+</sup> і Mn<sup>2+</sup> практично повністю пригнічують окислення всіх трьох субстратів. Вважають, що гальмівний ефект іонів металів на продукцію O<sub>2</sub><sup>-</sup> обумовлений утворенням халатів з аміногрупами окислюваних амінів, що знижує їх електронегативність та здатність віддавати електрон для утворення O<sub>2</sub><sup>-</sup>. Отримані дані свідчать, що йони металів, що в слідових концентраціях каталізують автоокислення амінів, у високих концентраціях можуть гальмувати цей процес. Неконтрольована присутність йонів металів може суттєво впливати на результати визначення активності супероксиддисмутази [5].

**Висновки.** Одержані дані свідчать про помірну антиокислювальну та антирадикальну активність комплексу Cu<sup>2+</sup> – ПАПС. Так, комплекс Cu<sup>2+</sup> – ПАПС блокував окислення ліпосом на 27% порівняно з іонолом (до 80%) та церулоплазміном (до 60%). Антирадикальна активність сполуки складала 25% порівняно з іонолом (до 75%) та церулоплазміном (до 55%).

Одержані дані підтверджують доцільність подальшого доклінічного скрінингу комплексу Cu<sup>2+</sup> – ПАПС з антиоксидантними та антирадикальними властивостями.

**Конфлікт інтересів.**

Автор заявляє, що не має конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

**Джерела фінансування.**

Ця стаття не отримала фінансової підтримки від державної, громадської або комерційної організації.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Губский Ю.Н., Кузьменко А.И., Волошенко Т.Г. Комплекс Cu<sup>2+</sup>, как ингибитор свободного окисления металлов // Укр. біохім. журн. – 1993. – Т. 65, №1. – С. 83-88.
2. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов // Успехи совр. биол. – 1993. – Т. 113. – С. 442-455.
3. Лысенко Д.Л., Кузьменко А.И. Металлокомплексный катализ обрыва цепей окисления сульфоксидов // VII Нефтехим. Симпоз. (Киев, октябрь 1990г.). – Тез. докл. – М.: Наука, 1990. – С. 269.
4. Григорьева А.С., Крисс Е.Е., Лазур С.П., Михаловский С.В., Портнягина В.А., Мохорт Н.А., Карп В.К., Баркова И.С., Кочаровский Б.А., Криворучко Р.А., Миндюк М.В. Каталитическая активность комплексов меди (II) с карбоксифенил-аминотиримидинами (противовоспалительными препаратами) в модельных реакциях оксидазного и каталазного типа. – Сборник Института физической химии им. Л.В. Писаржевского АН УССР, Киев, 1977. – С. 7-14.
5. Terada L.S., Leff J.A., Guidot D.N. Metals inhibit riboflavin-catalyzed generation of superoxide anion in vitro. // Inflammation. – 1990. – V. 14, № 2. – P. 217-221.
6. Чурилова И.В., Зинюев Е.В., Парамонов Б.А. Препарат эритроцитарный СОД “Эрисод”: влияние на уровень обожженных в состоянии ожогового шока. // Биол. Экспер. биологии и медицины. – 2002. – Т.134, №11. – С. 528-531.

**АНТИОКСИДЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ  
ПОВЕРХНОСТНОГО КОМПЛЕКСА  
ПОЛИ(3-АМИНОПРОПИЛ)СИЛОКСАНА  
С ИОНАМИ МЕДИ (II)**

Сташкевич М.А., Гайова Л.В.,  
Стеченко О.В., Осінська Л.Ф.

Національний медичний університет  
імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна

**Резюме.** Стаття посвящена пошуку нових біологічних властивостей комплексу полі(3-амінопропіл)силоксана з іонами міді (II), для якого раніше була встановлена висока антимікробна активність по відношенню до штаммів, які викликають язвенну хворобу шлунка і дванадцятипалої кишки. Актуальність вибору саме мідьсодержащого комплексу, як об'єкта досліджень, обумовлена тим, що мідь грає важливу роль в різноманітних метаболічних процесах в організмі людини: біологічного окислення, синтезу макроергічних сполучень, утворення білків сполучальної тканини, обміну заліза. Мідь (II) є кофактором ферментів, які грають важливу роль в захисті організму від активних форм кисню – супероксиддисмутази, церулоплазміна, ксантиноксидази, аскорбатоксидази і др. Таким чином, сполучення міді захищають клітини живих організмів від окислювального стресу, активують вільнорадикальне окислення ліпідів і окислювальну модифікацію білків, особливо в біомембранах. В роботі досліджено антиокислювальну активність комплексу полі(3-амінопропіл)силоксана з іонами міді (II) ( $\text{Cu}^{2+}$ -ПАПС) в модельних системах з використанням ліпосом яєчного жовтка і антирадикальна активність цього комплексу по інгібуванню відновлення *l*-нітротетразолю хлористого аніон-радикалом, генерованим фотохімічною системою. Показано, що утворення малонового діальдегіду з ліпосом яєчного фосфатидилхоліну при внесенні в модельну систему досліджуваного препарату міді -  $\text{Cu}^{2+}$ -ПАПС достовірно зменшується. Механізм антиокислювальної активності препарату може бути пов'язаний з інгібуванням утворення органічних радикалів, переводом перекиси в стабільні продукти окислення: спирти, альдегіди, кетони, або зміною структурної організації субстрату, що інгібує окислення. Отримані результати свідчать про помірну антиокислювальну і антирадикальну активність комплексу  $\text{Cu}^{2+}$ -ПАПС. Так, цей комплекс інгібував окислення фосфоліпідів в модельних системах і проявляв антирадикальну активність (до 80 % в порівнянні з іонолом і до 60 % в порівнянні з церулоплазміном).

**Ключові слова:** антиокислювальна активність, антирадикальна активність, комплекс полі(3-амінопропіл)силоксана з іонами міді (II).

**ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF SURFACE  
COMPLEX OF POLY-(3-AMINOPROPYL)-SYLOXAN  
WITH COPPER (II) IONS**

M.A. Stashkevych, L.V. Gayova,  
O.V. Stechenko, L.F. Osinska

Bogomolets National Medical University, Kiev, Ukraine

**Summary.** The present study is devoted to the search of the new biological properties of poly-(3-aminopropyl)-syloxan surface complex with copper (II) ions ( $\text{Cu}^{2+}$ -PAPS) which exhibits high antibacterial activity toward strains which cause gastric and duodenal ulcer. The relevance of the usage of copper containing complex is stipulated by the fact that copper plays the important role in the various metabolic processes in human body: in biological oxidation, synthesis of macroergic compounds, formation of connective tissue proteins, iron metabolism. Copper (II) is a cofactor of enzymes which are important for the protection of tissues from the active forms of oxygen – these are superoxide dismutase, ceruloplasmin, xantineoxidase, ascorbate oxidase etc. So copper containing compounds protect living cells from the oxidative stress, lipids and proteins oxidation, especially in biomembranes. The antioxidative activity of poly-(3-aminopropyl)-syloxan complex with copper (II) ions in the model systems with the usage of liposomes derived from the egg yolk and antiradical activity of this complex that was determined by the inhibition of *p*-nitrozolium chloride reduction by anion-radical generated in the photochemical system. The statistically significant decrease of the formation of malondialdehyde from the phosphatidylcholine of the egg yolk after the addition of the investigational preparation with copper was demonstrated. The mechanism of the antioxidative activity of this preparation is obviously associated with the inhibition of the organic radicals, transformation of peroxide to the stable products of oxidation: alcohols, aldehydes, ketones. The obtained results evidence the moderate antioxidative and antiradical activity of the complex  $\text{Cu}^{2+}$ -PAPS (up to 80% as compared to ionol and up to 60% as compared to ceruloplasmin). The obtained data confirm the reasonability of the further preclinical screening of the poly-(3-aminopropyl)-syloxan complex with copper (II) ions.

**Keywords:** copper, surface complex, antioxidative, antiradical.