

І.І. Шевцов

АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ ГЛЮКСИРЕНУ В ДОСЛІДАХ IN VITRO

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: глюксірен, ліпопротеїни жовтка яйця, біохемілюмінесценція, антиоксидантна активність

В експериментах *in vitro* досліджені антиоксидантні властивості нового потенційного діуретика "глюксірен" методом Fe^{+2} -ініційованої біохемілюмінесценції на модельній системі ліпопротеїнів жовтка курячого яйця (ЛПЖ). З'ясовано, що глюксірен за даними інгібування процесів переокиснення ЛПЖ виявляє виразну антиоксидантну активність, перевищуючи за цим показником препарат порівняння мексидол. Серед механізмів такої дії, очевидно, найбільше значення мають гальмування процесів радикалоутворення та здатність молекули субстанції слугувати пасткою вільних радикалів. Отримані результати є важливими для розуміння механізмів супутніх антиексудативного та антигіпоксичного ефектів.

Незважаючи на успіхи сучасної фармакології, в багатьох галузях клінічної медицини все ще відчувається дефіцит високоєфективних препаратів, що є актуальною проблемою. В рамках пошуку нових лікарських засобів нами продовжене дослідження потенційного діуретика "глюксірен", який проявляє такі цінні супутні ефекти, як антиексудативний та антигіпоксичний [4]. Відомо, що протизапальні та антигіпоксичні препарати часто виявляють здатність знижувати активність патологічного окиснення, і це є складовою механізму їх дії. Досліджувана нами субстанція "глюксірен" також може мати таку здатність, враховуючи спектр її ефектів. Беручи до уваги можливий вплив сполуки на процеси окиснення, в рамках подальших експериментів ми вважали за потрібне провести більш докладне вивчення глюксірену в сенсі його антиоксидантних властивостей.

Мета роботи – дослідження антиоксидантної активності (АОА) глюксірену в експериментах *in vitro*.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

В першій серії нашого експерименту ми дослідили залежність параметрів Fe^{+2} -ініційованої біохемілюмінесценції суспензії ЛПЖ від концентрації доданого *in vitro* мексидолу (в концентраціях 0 (контроль), 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} та 10^{-4} моль/л) ($t=37^{\circ}C$). В другій серії експерименту дослідили залежність параметрів Fe^{+2} -ініційованої біохемілюмінесценції суспензії ЛПЖ від концентрації доданого *in vitro* глюксірену (в концентраціях 0 (контроль), 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} та 10^{-4} моль/л) ($t=37^{\circ}C$).

Для дослідження АОА [5, 7] глюксірену застосовували метод Fe^{+2} -ініційованої біохемілюмінесценції (БХЛ), використовуючи модельну систему ліпопротеїнів жовтка курячого яйця (ЛПЖ) [6, 8], яку отримували за відомим методом Ю.А. Владимиrowa та співавт. [1, 2]. У кювету біохемілюмінометра вносили 0,8 фосфатного буфера (10,5 мМ КСl, 20 мМ KH_2PO_4 , рН = 7,48), 0,1 мл суспензії ЛПЖ, розведеної у 80 разів фосфатним буфером. Реакції вільнорадикального окиснення ліпідів ініціювали додаванням солі заліза (II) до її кінцевої концентрації в кюветі 1 мМ. Розчин солі заліза готували безпосередньо перед застосуванням (*ex tempore*) на 0,01 нормальній НСl, для запобігання автоокиснення заліза. Водні розчини глюксірену та мексидолу додавали до проб перед введенням солі заліза. Проби інкубували протягом 3 хв. при $37^{\circ}C$ (постійно перемішуючи) та реестрували хемілюмінесценцію, яка була ініційована іонами Fe^{+2} . Виміри про-

водили, використовуючи біохемілюмінометр БХЛ-06 з фотопідсилюючою установкою ФЕУ-79. Типова біохемілюмінограма для даної модельної системи характеризується такими головними параметрами: інтенсивність повільного спалаху БХЛ (I_2 ум.од.), що відображає максимальну інтенсивність реакції перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) після введення у систему ініціатора вільнорадикальних процесів (іонів Fe^{+2}); площа світлосуми реакції БХЛ (S , імп) – площа під кінетичною кривою, яка характеризує число ланцюгів розгалуження, тобто кількість перекисних радикалів на один іон заліза.

Статистичну обробку отриманих експериментальних даних проводили, використовуючи t-критерій Ст'юдента [3].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В таблиці 1 наведені дані параметрів Fe^{+2} -ініційованої біохемілюмінесценції суспензії ЛПЖ у залежності від концентрації доданого *in vitro* мексидолу (10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} та 10^{-4} моль/л). З цих даних випливає, що у вищезазначених концентраціях мексидол вірогідно не впливає на інтенсивність реакції ПОЛ у модельній системі, про що свідчить відсутність достовірних змін інтенсивності повільного спалаху (I_2 , ум.од.). При цьому, в концентраціях 10^{-6} та 10^{-5} моль/л від здатний вірогідно зменшувати площу світлосуми реакції (S , імп.). Це може вказувати на здатність мексидолу до взаємодії з іонами Fe^{+2} , що, в свою чергу, призводить до зменшення радикалоутворення у модельній системі. Однак яскраво вираженої антиокислювальної активності мексидол в даній серії не виявляє.

При додаванні глюксірену (табл. 2) до модельної системи ЛПЖ у концентрації 10^{-4} моль/л спостерігається вірогідне зменшення як інтенсивності повільного спалаху (I_2 , ум.од.), так і площі світлосуми реакції БХЛ (S , імп.). Тобто у високих концентраціях глюксірен здатний виявляти антиокислювальні властивості. У концентраціях 10^{-6} , 10^{-5} та 10^{-4} моль/л глюксірен вірогідно знижує площу світлосуми реакції, тобто гальмує процес радикалоутворення.

ВИСНОВКИ

Узагальнюючи результати експерименту, можемо стверджувати, що в серіях *in vitro* глюксірен за даними інгібування процесів переокиснення ліпопротеїнів яєчного жовтка, що були контрольовані за методом Fe^{+2} -індукованої біохемілюмінесценції, виявляє виразну антиоксидантну активність, перевищуючи за цим показником препарат порівняння мексидол. Серед механізмів такої дії, очевидно, найбільше значення мають гальму-

Таблиця 1

Залежність параметрів Fe⁺²-ініційованої біохемілюмінесценції суспензії ЛПЖ від концентрації доданого *in vitro* мексидолу, $\bar{X} \pm Sx$, (t=37°C)

Параметри Fe ⁺² -ініційованої БХЛ	Концентрація мексидолу, моль/л				
	0 контроль n=18	10 ⁻⁷ n=6	10 ⁻⁶ n=4	10 ⁻⁵ n=4	10 ⁻⁴ n=5
Інтенсивність повільного спалаху I ₂ , ум. од.	82,77 ±7,0	91,3 ±8,1 p > 0,05	80,5 ±8,0 p > 0,05	69,2 ±5,88 p > 0,05	75,44 ±7,3 p > 0,05
Площа світлосуми реакції БХЛ S, імп	12110 ±860	11605 ±615 p > 0,05	9290 ±800 p < 0,05	9120 ±815 p < 0,05	10970 ±880 p > 0,05

p < 0,05 - статистично вірогідно у порівнянні з контролем, виконаним за умов відсутності мексидолу.

Таблиця 2

Залежність параметрів Fe⁺²-ініційованої біохемілюмінесценції суспензії ЛПЖ від концентрації доданого *in vitro* гліоксирену, $\bar{X} \pm Sx$, (t=37°C)

Параметри Fe ⁺² -ініційованої БХЛ	Концентрація гліоксирену, моль/л				
	0 контроль n=18	10 ⁻⁷ n=5	10 ⁻⁶ n=4	10 ⁻⁵ n=6	10 ⁻⁴ n=7
Інтенсивність повільного спалаху I ₂ , ум. од.	82,77 ±7,0	69,1 ±2,2 p < 0,05	68,0 ±2,1 p < 0,05	68,2 ±2,4 p < 0,05	68,1 ±2,2 p < 0,05
Площа світлосуми реакції БХЛ S, імп	12110 ±860	10779 ±651 p > 0,05	10120 ±712 p < 0,05	9628 ±926 p < 0,05	9248 ±726 p < 0,05

p < 0,05 - статистично вірогідно у порівнянні з контролем, виконаним за умов відсутності гліоксирену.

вання процесів радикалоутворення та здатність молекули субстанції слугувати пасткою вільних радикалів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. - К.: Авіцена, 2001. - С. 292-307, С.74-97, С.196-203, С.272-283.
2. Контрощикова К.Н. Перекисное окисление липидов в норме и патологии: Учеб. пособие. - Н.Новгород, 2000. - 24 с.
3. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. - К.: МОРИОН, 2000. - 320 с.

4. Шевцов И.И., Торяник Е.Л., Березняков В.И., Колісник С.В. // Клінічна та експериментальна патологія. - Чернівці. - 2005. - Т. IV, №4. - С.83-85.
5. Bors W, Michel C. // Ann. N. Y. Acad. Sci. - 2002. - Vol.957. - P.57-69.
6. Caliskan-Ergun B., Sukuroglu M., Coban T. // J. Enzyme Inhib. Med. Chem. - 2008. - N.2. - P.225-229.
7. Pinheiro R., Gopinadhan-Paliyath G., Paliyath G. // Food Biotechnology. - 2001. - N.15 (3). - P. 179-192.
8. Torres J.L., Varela B., Garcia M.T. // J. Agric. Food Chem. - 2002. - Vol.50. - N.26. - P.7548-7555.

Надійшла 22.04.2008р.

И.И. Шевцов

Антиоксидантная активность глиоксирена в опытах *in vitro*

В экспериментах *in vitro* исследованы антиоксидантные свойства нового потенциального диуретика "глиоксирен" методом Fe⁺²-инициированной биохемилуминесценции на модельной системе липопротеинов желтка куриного яйца (ЛПЖ). Установлено, что глиоксирен по данным ингибирования процессов перекисления ЛПЖ проявляет заметную антиоксидантную активность, превышая по этому показателю препарат сравнения мексидол. Среди механизмов такого действия, очевидно, наибольшее значение имеют торможение процессов радикалообразования и способность молекулы субстанции служить ловушкой свободных радикалов. Полученные результаты важны для понимания механизмов сопутствующих антиэкссудативного и антигипоксического эффектов.

Ключевые слова: глиоксирен, липопротеины желтка яйца, биохемилуминесценция, антиоксидантная активность

I.I. hevtsov

Antioxydative activity of glyoxiren in experiences *in vitro*

In experiments *in vitro* are investigated antioxydative properties new potential diuretic "glyoxiren" by a method Fe⁺²-initiated biochemiluminescention on modelling system lipoproteines a yolk of an egg (LPY). It is established, that glyoxiren according to inhibition of processes oxydation LPY shows appreciable antioxydative activity, exceeding on this parameter a preparation of comparison "mexidol". Among mechanisms of such action, obviously, greatest value have braking processes making of radicals and ability of a molecule of a substance to serve as a trap of free radicals. The received results are important for understanding of mechanisms accompanying antiexudative and antihypoxic effects.

Key words: glyoxiren, lipoproteines a yolk of an egg, biochemiluminescention, antioxydative activity

Відомості про авторів:

Шевцов Ігор Іванович, доцент кафедри патологічної фізіології НФаУ.

Адреса для листування:

Шевцов Ігор Іванович, 61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12, кафедра пат. фізіології НФаУ. Тел.: (057) 706-30-66