

УДК 615.257'547.857:616-008.9]-047.24

О. С. Шкода

Запорізький державний медичний університет

## ПОШУК ІНГІБІТОРІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ СЕРЕД 7,8-ЗАМІЩЕНИХ 3-п-ТОЛІЛКСАНТИНУ

Представлені результати експериментального дослідження 7,8-заміщених 3-п-толільксантину як ймовірних інгібіторів перекисного окиснення ліпідів. В якості референтного препарату був використаний Дибунол. Авторами показана перспектива застосування синтезованих сполук у майбутній комплексній терапії метаболічного синдрому.

**Ключові слова:** метаболічний синдром; оксидативний стрес; перекисне окиснення ліпідів; антиоксидантна активність

### ВСТУП

Поширеність метаболічного синдрому (МС) серед дорослого населення індустріально розвинених країн становить за даними різних авторів 20-25 %. При цьому поширеність у популяції метаболічного синдрому зростає з віком і є максимальною серед людей похилого віку [5].

Не викликає сумніву, що основним клінічним наслідком метаболічного синдрому є захворювання серцево-судинної системи. Так, згідно з даними останніх досліджень наявність метаболічного синдрому підвищує ризик виникнення атеросклерозу від 1,6 до 4 разів [6].

Метаболічний синдром – це складна мультифакторна патологія, а враховуючи провідну роль вільнорадикальних процесів, у тому числі активації ліпоперекиснення у даному патогенезі, можна зробити припущення про доцільність використання антиоксидантної терапії у профілактиці та корекції цього захворювання [2].

Раніше нами було показано, що похідні 3-арилксантинів виявляють потужну антиоксидантну дію. Враховуючи наведене нами, був синтезований ряд 7,8-заміщених 3-п-толільксантину [4].

Найбільш перспективним засобом одержання інформації про біологічно активні речовини є дослідження *in vitro*. Такі дослідження дозволяють оцінити біологічну активність великої кількості речовин у різноманітних дозах за короткий час. Вони є досить економічними та володіють високою відтворюваністю, оскільки для проведення експерименту використовуються стандартні умови, що дозволяють звести до мінімуму властиві для біологічних об'єктів реакції на зовнішнє середовище.

Метою дослідження стало *in vitro* вивчення впливу вперше синтезованих 7,8-заміщених 3-п-толільксантину на процеси перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) з перспективою застосування в комплексній терапії метаболічного синдрому.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Антиоксидантна активність синтезованих сполук була вивчена в Навчальному медико-лабораторному центрі Запорізького державного медичного університету під керівництвом проф. Абрамова А. В. та проф. Беленічева І. Ф.

Результати дослідження оброблені сучасними методами аналізу [3] з використанням стандартного пакету програм Microsoft Office 2007 (Microsoft Excel) та «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5). Достовірність міжгрупових відмінностей за даними експериментів встановлювали за допомогою t-критерію Ст'юдента. Використовували рівень статистичної значущості відмінностей результатів досліджень –  $p < 0,05$  та  $p < 0,01$ .

Дослідження антиоксидантної активності (АОА) здійснювали шляхом неферментативного ініціювання вільнорадикального ліпоперекиснення [1, 7]. Одним з розповсюджених у дослідженнях біомаркерів вільнорадикального окиснення (ВРО) і ПОЛ є малоновий діальдегід (МДА) і ряд карбонільних сполук. Визначення його як одного з кінцевих продуктів ВРО проводять у біосубстратах за реакцією з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК) і визначають спектрофотометрично за максимумом поглинання азометинового комплексу при довжині хвилі 532 нм. Такий метод визначення простий і знайшов найбільш широке застосування в дослідженнях.

В якості субстрату використовується суспензія яєчних ліпопротеїнів (СЯЛ). Робоча кількість ліпо-

Таблиця

**АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ РЕЧОВИН ПРИ ІНІЦІАЦІЇ  
ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ЛІПОПЕРЕОКСИДННЯ (n = 5)**

Шифр	10 <sup>-3</sup> моль/л		10 <sup>-5</sup> моль/л		10 <sup>-7</sup> моль/л	
	Е, М ± m	%	Е, М ± m	%	Е, М ± m	%
I	0,22 ± 0,02 <sup>2</sup>	11,64	0,168 ± 0,024 <sup>2</sup>	32,53	0,148 ± 0,015 <sup>2</sup>	40,56
II	0,153 ± 0,011 <sup>2</sup>	38,55	0,18 ± 0,011 <sup>1</sup>	27,71	0,252 ± 0,014	-1,20
III	0,13 ± 0,01 <sup>2</sup>	47,79	0,292 ± 0,023	-17,27	0,242 ± 0,022	2,81
IV	0,335 ± 0,047	-34,54	0,081 ± 0,01 <sup>2</sup>	67,47	0,234 ± 0,037	6,02
Інтакт	0,093 ± 0,006					
Контроль	0,249 ± 0,024					
V	0,628 ± 0,062 <sup>2</sup>	43,52	0,992 ± 0,084	10,79	0,661 ± 0,058 <sup>2</sup>	40,56
VI	0,689 ± 0,052 <sup>2</sup>	38,04	0,765 ± 0,046 <sup>2</sup>	31,20	0,693 ± 0,049 <sup>2</sup>	37,68
Інтакт	0,412 ± 0,038					
Контроль	1,112 ± 0,035					
VII	0,089 ± 0,01 <sup>2</sup>	71,92	0,192 ± 0,02 <sup>2</sup>	39,43	0,184 ± 0,013 <sup>2</sup>	41,96
VIII	0,194 ± 0,022 <sup>2</sup>	38,80	0,155 ± 0,02 <sup>2</sup>	51,10	0,178 ± 0,021 <sup>2</sup>	43,85
Інтакт	0,096 ± 0,005					
Контроль	0,317 ± 0,017					
IX	0,097 ± 0,009 <sup>2</sup>	61,04	0,149 ± 0,009 <sup>2</sup>	40,16	0,257 ± 0,018	-3,21
Інтакт	0,093 ± 0,006					
Контроль	0,249 ± 0,024					
X	0,654 ± 0,049 <sup>2</sup>	41,19	0,799 ± 0,048 <sup>2</sup>	28,15	0,703 ± 0,05 <sup>2</sup>	36,78
XI	0,723 ± 0,043 <sup>2</sup>	34,98	0,857 ± 0,046 <sup>2</sup>	22,93	0,553 ± 0,037 <sup>2</sup>	50,27
XII	0,773 ± 0,047 <sup>2</sup>	30,48	0,758 ± 0,043 <sup>2</sup>	31,83	0,439 ± 0,026 <sup>2</sup>	60,52
XIII	0,696 ± 0,040 <sup>2</sup>	37,41	0,886 ± 0,041 <sup>2</sup>	20,32	0,654 ± 0,044 <sup>2</sup>	41,18
XIV	0,842 ± 0,074 <sup>2</sup>	24,28	0,766 ± 0,076 <sup>2</sup>	31,11	0,588 ± 0,060 <sup>2</sup>	47,12
Інтакт	0,412 ± 0,038					
Контроль	1,112 ± 0,035					
XV	0,109 ± 0,006 <sup>2</sup>	56,22	0,073 ± 0,006 <sup>2</sup>	70,68	0,147 ± 0,009 <sup>2</sup>	40,96
Інтакт	0,093 ± 0,006					
Контроль	0,249 ± 0,024					
Дибунол	0,963 ± 0,033 <sup>1</sup>	13,40	0,811 ± 0,02 <sup>1</sup>	27,10	0,872 ± 0,018 <sup>1</sup>	21,60
Інтакт	0,412 ± 0,038					
Контроль	1,112 ± 0,035					

Примітки:

1) <sup>1</sup> - p < 0,05 по відношенню до контролю;2) <sup>2</sup> - p < 0,01 по відношенню до контролю.

протеїнів, приготованих із розрахунку: ліпопротеїни: 0,15 М КСІ = 1 : 1, розводять у 10 разів 40 ммоль фосфатним буфером до рН = 7,4. До 4 мл суспензії додають 1 мл розчину речовини, що досліджується (в концентрації 10<sup>-3</sup>-10<sup>-7</sup> моль/л) в об'ємі 0,5 мл та 1 мл 25 ммоль розчину FeSO<sub>4</sub> • 7 H<sub>2</sub>O (розчин готують *ex tempore*; розчин феруму сульфату повинен бути свіжокристалізованим зі спирту). Суміш інкубують впродовж 30 хв при температурі 37 °С. Реакцію зупиняють розчином 0,5 мл 20 % ТХО, що містить 250 мг/100 мл трилону Б для зв'язування іонів заліза та зупинки ВРО чи відбирають 1 мл інкубаційної суміші, до якої додають 0,5 мл 20 % розчину ТХО. Після центрифугування при швидкості 2000 об/хв протягом 15 хв відбирають надосадкову рідину, вносять у пробірку з 1 мл 0,8 % тіобарбітурової кислоти та розміщують на 30 хв на киплячій водянній бані. Після охолоджен-

ня забарвлений комплекс виділяють додаванням до проби 4 мл *n*-бутанолу, струшують та центрифугують впродовж 15 хв при швидкості 2000 об/хв. Ретельно відбирають верхній шар дозатором та спектрофотометрично при λ = 532 нм проти *n*-бутанолу визначають оптичну щільність. АОА розраховують за формулою:

$$\text{АОА} = (E_{\text{к}} - E_{\text{д}}) / E_{\text{к}} \times 100 \%,$$

де: E<sub>к</sub> – оптична густина контрольної проби;E<sub>д</sub> – оптична густина дослідної проби.

Результати дослідження АОА наведені в таблиці.

#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження АОА показали, що майже всі синтезовані 7,8-заміщені 3-п-толїксантинів

у концентрації  $10^{-3}$  моль/л виявляють антиоксидантну дію (за виключення сполуки IV, яка виявляє прооксидантні властивості), а 13 з них за цим показником перевищують референтний препарат Дибунол. Найбільш активною виявилась сполука VII, показник дослідження АОА якої становить 71,92 %, що в 5,4 рази більше, ніж активність еталону.

При зменшенні концентрації до  $10^{-5}$  моль/л картина проявів антиоксидантної дії дещо змінюється. Так, найбільшу активність виявляють сполуки XV (70,68 %) та IV (67,47 %). Натомість речовина III проявляє значні прооксидантні властивості.

При подальшому зменшенні концентрації до  $10^{-7}$  моль/л збільшується кількість прооксидантів (сполуки II та IX). Але більшість синтезованих речовин продовжує виявляти потужну антиоксидантну дію, яка вдвічі-втричі перевищує еталонний препарат Дибунол. Накрайшим показником інгібування ПОЛ вроді сполука XII (40,96 %).

Відмінності в прояві антиоксидантних властивостей синтезованих речовин у різних концентраціях можуть бути пов'язані з різними ліпофільними властивостями та можуть бути використані в диференційному підборі профілактики та комплексної терапії МС, оскільки в найменших концентраціях негативні прояви, характерні для ксенобіотиків, будуть майже непомітними.

#### ВИСНОВКИ

1. Дослідження АОА 15 синтезованих 7,8-заміщених п-толілксантину показало, що майже всі синтезовані речовини виявляють виражені антиоксидантні властивості, а деякі навіть перевищують референтний препарат Дибунол.
2. Варіації в концентрації досліджуваних речовин можуть бути застосовані в диференційному під-

борі профілактики та комплексної терапії метаболічного синдрому.

#### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Губський Ю. І. Методи оцінки антиоксидантних властивостей фізіологічно активних сполук при ініціюванні вільнорадикальних процесів у дослідах *in vitro*: [метод. рекомендації] / [Ю. І. Губський, В. В. Дунаєв, І. Ф. Бєленічев та ін.]. – К.: ДФЦ МОЗ України, 2002. – 26 с.
2. Загайко А. Л. Метаболічний синдром: механізми розвитку та перспективи антиоксидантної терапії: [моногр.] / А. Л. Загайко, Л. М. Вороніна, К. В. Стрельченко. – Х.: Вид-во НФаУ; Золоті сторінки, 2007. – 216 с.
3. Зайцев В. М. Прикладная медицинская статистика: [учеб. пособ.] / В. М. Зайцев, В. Г. Лифляндский, В. И. Маринкин. – 2-е изд. – С.Пб.: ООО «Изд-во ФОЛИАНТ», 2006. – 432 с.
4. Aleksandrova E. V. Synthesis, transformations, and physicochemical properties of 3-(4'-methylphenyl)-8-methylxanthine derivatives / [E. V. Aleksandrova, S. V. Levich, N. I. Romanenko et al.] // Chemistry of Natural Compounds. – 2014. – Vol. 49, № 6. – P. 1105-1109.
5. Grundy S. M. Obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular disease / S. M. Grundy // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2004. – Vol. 89. – P. 2595-2600.
6. Haffner S. M., Cassells H. B. Metabolic syndrome – a new risk factor of coronary heart disease / S. M. Haffner, H. B. Cassells // Diab. Obes. Metab. – 2003. – Vol. 5. – P. 359-370.
7. Halliwell B. Free Radicals in Biology and Medicine / B. Halliwell, J. M. Gutteridge. – Clarendon Press, Oxford, 2007. – Ed. 4. – 704 p.

**УДК 615.257'547.857:616-008.9]-047.24****А. С. Шкода****ПОИСК ИНГИБИТОРОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ СРЕДИ 7,8-ЗАМЕЩЕННЫХ 3-п-ТОЛИЛКСАНТИНА**

Представлены результаты экспериментального изучения 7,8-замещенных 3-п-толилксантина как вероятных ингибиторов перекисного окисления липидов. В качестве референтного препарата был использован Дибунол. Авторами показана перспективность применения синтезированных соединений в будущей комплексной терапии метаболического синдрома.

**Ключевые слова:** метаболический синдром; оксидативный стресс; перекисное окисление липидов; антиоксидантная активность

**UDC 615.257'547.857:616-008.9]-047.24****O. S. Shkoda****SEARCH OF LIPID PEROXIDATION INHIBITORS AMONG THE 7,8-SUBSTITUTED 3-p-TOLYLXANTHINE**

The article presents the results of an experimental study of 7,8-substituted 3-p-tolylxanthine as possible lipid peroxidation inhibitors. As a reference drug has been used BHT. The authors have shown prospective application of the synthesized compounds in the future complex therapy of metabolic syndrome.

**Key words:** metabolic syndrome; oxidative stress; lipid peroxidation; antioxidant activity

*Адреса для листування:*  
69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26.  
E-mail: shkodalex@gmail.com.  
Запорізький державний медичний університет

Надійшла до редакції 13.08.2015 р.