Международная научно-практическая конференция

International conference

НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

NEW TECHNOLOGIES OF OBTAINING AND APPLICATION OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

Тезисы докладов

Abstracts

Алушта, Крым, Украина

20-25 мая 2002

Alushta, Crimea, Ukraine
May, 20-25, 2002

Издательство КНЦ
Симферополь
2002

НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ / Тезисы докладов Международной-научно-практической конференции, Алушта, Крым, Украина, 20-25 мая 2002, - Симферополь: Издат-во КНЦ. – 2002. - ... с.

Сборник тезисов докладов Международной научно-практической конференции «Новые технологии получения и применения биологически активных веществ», в которых обсуждаются вопросы получения и применения новых биологически активных соединений.

© Крымский научный центр Национальной академии наук Украины и Министерства образования и науки украины

ISBN

ОСНОВНЫЕ ОРГАНИЗАТОРЫ

Министерство образования и науки Украины
Крымский научный центр Национальной академии наук Украины и Министерства образования и науки Украины
Южный научный центр Национальной академии наук Украины и Министерства образования и науки Украины
Физико-химический институт им. А.В. Богатского Национальной академии наук Украины
Институт биохимии им. А.В. Палладина Национальной академии наук Украины
Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского
Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского
Национальная фармацевтическая академия Украины

GENERAL ORGANIZERS

Ministry of Education and Science of Ukraine
Crimean Scientific Center of National Academy of Sciences of Ukraine and Ministry of Education and Science of Ukraine
Southern Scientific Center of National Academy of Sciences of Ukraine and Ministry of Education and Science of Ukraine
A.V.Bogatsky Physico-chemical Institute of National Academy of Sciences of Ukraine
A.V.Palladin Institute of Biochemistry of National Academy of Sciences of Ukraine
Taurida National V.I.Vernadsky University
Crimean State S.I.Georgievsky Medical University
National Pharmaceutical Academy of Ukraine

ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ

Сопредседатели:
Академик НАН Украины *Андронати С.А.*
Чл.-кор. НАН Украины *Донченко Г.В.*

Члены программного комитета:
Академик НАН Украины *Лозинский М.О.*
Академик НАН Украины *Шуба М.Ф.*
Член-кор. НАН Украины *Черных В.П.*
Д.б.н., профессор *Шинкаренко Л.Н.*
Д.фарм.н., профессор *Георгиевский В.П.*
Д.х.н., профессор *Чирва В.Я.*
Д.м.н., профессор *Криворученко Ю.Л.*
Д.х.н., Вовк А.И.
Д.б.н. *Волков Г.Л.*

PROGRAM COMMITTEE

Co-chairpersons:
Academician of NAS of Ukraine *S.A.Andronati*
Corresponding member of NAS of Ukraine *G.V.Donchenko*

Program committee members:
Academician of NAS of Ukraine *M.O.Lozinsky*
Academician of NAS of Ukraine *M.F.Shuba*
Corresponding member of NAS of Ukraine *V.P.Chernykh*
Doctor of Science, professor *V.Ya.Chirva*
Doctor of Science, professor *Yu.P. Krivoruchenko*
Doctor of Science, *I.A.Vovk*
Doctor of Science, *G.P.Volkov*

ОРГКОМИТЕТ

Председатель
Д.г.н., профессор *Багров Н.В.*

Зам. председателя
Д.ф.-м.н., профессор *Бержанский В.Н.*
Д.б.н. *Пархоменко Ю.М.*
К.б.н. *Мартынюк В.С.*

Члены оргкомитета:
Д.б.н. *Темурьянц Н.А.*
Д.б.н. *Бугара А.М.*
Д.х.н. *Земляков А.Е.*
К.х.н. *Гришковец В.И.*
Д.б.н. *Карасева Т.Л.*
К.х.н. *Курьянов В.О.*
К.б.н. Протасова З.С.
К.т.н. *Юркова И.Н.*
Кирсанова М.А

ORGANIZATION COMMITTEE

Chairperson
Doctor of Science, professor *N.V.Bagrov*

Chairperson deputy
Doctor of Science, professor *V.N.Berzhansky*
Doctor of Science, *Yu.M.Parkhomenko*
Candidate of Science *V.S.Martynuk*

Члены оргкомитета:
Doctor of Science *A.M.Bugara*
Doctor of Science *A.E.Zemlyakov*
Candidate of Science *V.I.Grishkovets*
Candidate of Science *V.O.Kurjanov*
Candidate of Science *V.I.Nazarenko*
Candidate of Science *Z.S.Protasova*
Candidate of Science *I.N.Yurkova.*
Candidate of Science *M.A.Kirsanova*

СЕКЦИЯ:

«СИНТЕЗ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ»

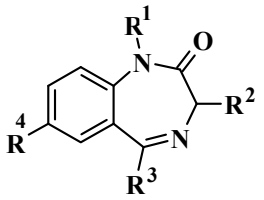
МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ И ДИЗАЙН ГАМК-, СЕРОТОНИН- И ХОЛЕЦИСТОКИНИНЕРГИЧЕСКИХ АНКСИОЛИТИКОВ

С.А. Андронати, С.Г. Соболева

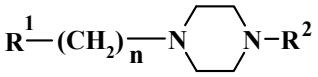
Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины

Анксиолитики – вещества, предупреждающие и купирующие состояния тревоги, беспокойства и страха, реализуют указанные свойства, взаимодействуя с бензодиазепиновыми (BDR), серотониновыми (5-HT1AR) либо холецистокининовыми (CCK_2R) рецепторами. Бензодиазепиновые анксиолитики уже более 40 лет широко используются в медицине. Молекулярные мишени - BDR (α –субъединицы $ГАМК_A$-рецепторов) были открыты в 1977 г. В 80-е годы были открыты анксиолитические свойства буспирона и его аналогов, являющихся лигандами серотониновых $5\text{-}HT_{1A}R$. Позже были обнаружены анксиолитические свойства антагонистов $ССК_2$ R. Известно, что ГАМК-, серотонин- и холецистокинин-ергическая системы взаимосвязаны. Возможно, анксиолитические свойства лигандов BDR и $ССК_2$ R реализуются в результате передачи информации от них на 5-HTR. Результаты изучения молекулярных механизмов действия и связи «структура – свойства» лигандов BDR, 5-HTR и $ССК_2$ R используются в настоящее время как для решения фундаментальных вопросов физико-химической биологии нервной системы, так и для направленного синтеза потенциальных лекарственных средств.

В докладе представлены результаты структурно-функционального изучения производных 1,2-дигидро-3Н-1,4-бензодиазепин-2-онов I и арилпиперазинов II.



I



II

MODE OF ACTION AND DESIGN OF GABA-, SEROTONINE- AND CHOLECYSTOKININERGIC ANXIOLYTICS

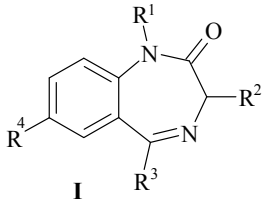
S.A. Andronati, S.G. Soboleva

A.V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of the National Academy of Sciences of Ukraine

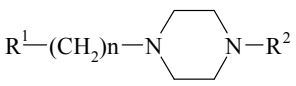
Anxiolytics are substances preventing and cupping states of anxiety, nervousness and fear. Mentioned properties are realized during interaction with benzdiazepine (BDR), serotoninergic ($5\text{-}HT_{1A}R$) or cholecystokinine (CCK_2R) receptors. Benzdiazepine anxiolytics are widely used (more than 40 years) in medicine. Molecular targets – BDR (α-subunits of $GABA_A$-receptors) were found in 1977. Anxiolytical properties of buspirone and its analogs that are ligands of serotonine $5\text{-}HT_{1A}R$ were found in 80s years. Some later anxiolytical properties of CCK_2R antagonists were found. It is known that GABA-, serotonine and cholecystokininergic systems are interconnected. It is possible that anxiolytical properties of BDR ligands and CCK_2R are realized in result of information transfer from them to 5-HTR.

Results of study of molecular mode of action and “structure-properties” relationship of BDR, 5-HTR and CCK_2R are used now for solutions of fundamental problems of physico-chemical biology of nervous system as well as for directed synthesis of potential medicinal products.

Results of structural-functional studies of 1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepine-2-ones I and arylpiperazines II have been reported.



I



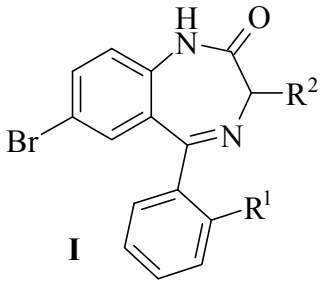
II

СИНТЕЗ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 3-АМИНО-1,2-ДИГИДРО-3Н-1,4-БЕНЗДИАЗЕПИН-2-ОНА, ОБЛАДАЮЩИХ АНКСИОЛИТИЧЕСКОЙ И АНОРЕКСИГЕННОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Андронати К.С., Костенко Е.А., Карасева Т.Л., Андронати С.А.

Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины
pavlovsky@paco.net

Производные 3-амино-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-она обладают анксиолитическим, противосудорожным, анорексигенным (снижающим аппетит) и другими эффектами. Некоторые из этих соединений рассматриваются в клинике в качестве потенциальных средств для лечения тревожных и панических состояний, а также при расстройствах аппетита. Фармакологические эффекты данных соединений опосредованы их связыванием с бенздиазепиновыми и холецистокининовыми рецепторами ($ССК_1$ и $ССК_2$)). С целью изучения связи между структурой 3-замещенных 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов и их психофармакологическими и анорексигенными свойствами нами были синтезированы производные 3-амино-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-она I:



I

R^1 = H, Cl;
R^2 = $N(C_2H_5)_2$, $NH(CH_2)_6NH_2$, *p*-$NO_2C_6H_4NH$, $NH(CH_2)_3COOH$

Фармакологическое изучение веществ проводилось на мышах и крысах массой 23-30 г, 230-280 г, соответственно, с использованием стандартных фармакологических методов. Синтезированные соединения в дозах (0.1-1 мг/кг) проявляли анксиолитические, анорексигенные и противосудорожные свойства. По своей анксиолитической активности некоторые из исследованных соединений превосходят диазепам. В исследуемом ряду обнаружены соединения, обладающие как анорексигенным так и гиперфагическими (повышающими аппетит) эффектами. Высказывается предположение о том, что эти соединения являются агонистами 1,4-бенздиазепиновых и антагонистами холецистокининовых $ССК_2$ рецепторов.

SYNTHESIS OF NOVEL 3-AMINO-1,2-DIHYDRO-3-H-1,4-BENZDIAZEPINE-2-ONES DERIVATIVES WITH ANXIOLYTIC AND ANOREXIC ACTIVITIES

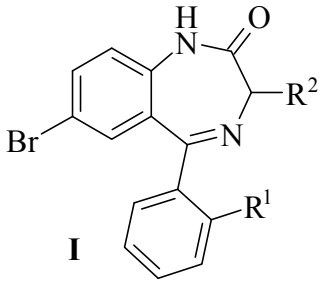
Andronati K.S., Kostenko E.A., Karaseva T.L., Andronati S.A.

A.V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of the NASU Lustdorfskaya doroga
pavlovsky@paco.net

3-Amino-1,2-dihydro-3H-1,4-benzdiazepine-2-one derivatives possess of anxiolytic, anticonvulsant, anorexic (reduce appetite) and other effects.

Some of these compounds are recommended for clinic study as potential drugs for treatment of anxiety and panic-related behavior and anorectic agents. Pharmacological effects of these substances are mediated by their binding to benzdiazepine and cholecystokinine receptors (CCK_1 and CCK_2) as well.

The aim of this work is the synthesis of novel 3-amino-1,2-dihydro-3H-1,4-benzdiazepine-2-one derivatives, study of their structure and psychopharmacological and anorexic properties relations. The synthesized compounds are structure I:



I

R^1 = H, Cl;
R^2 = $N(C_2H_5)_2$, $NH(CH_2)_6NH_2$, *p*-$NO_2C_6H_4NH$, $NH(CH_2)_3COOH$

Pharmacological experiments are carried out on mice and rats, weight 23-30g and 230-280 g, respectively, with the use of standard pharmacological methods.

The compounds synthesized possess anxiolytic, anticonvulsant and anorexic activities at the interval of dozes 0,1-1mg/kg. Some of these compounds surpass by their anxiolytic activities of diazepam. In the investigated series of compounds were found the substances possessing anorexic and hyperphagic effects.

It is supposed that these substances are agonists of the 1,4-benzdiazepine and antagonists of cholecystokinine CCK_2 receptors as well.

НОВАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ВОДНОДИСПЕРГИРУЕМОГО БЕТТА КАРОТИНА.

Г.Ю.Ажицкий, Д.Б.Сандулов, Т.В.Семенова

Крымский Государственный медицинский университет
Национальный Таврический университет

Изучены вопросы гидратации синтетического бетта каротина без образования ковалентных связей. Бета–каротин не растворим в воде. Показано, что возможно получение комплекса каротина с пищевыми производными полиоксиэтилена за счет их межмолекулярных взаимодействий протекающих в условиях расплава обеих компонентов в отсутствии кислорода. Полученный препарат – «Аквакаротин», твердый , красного цвета, плавится при 45^0C. Продукт содержит 1-10% каротина и легко растворяется в холодной воде, спирте и в различных жирах.

Стабильность 1% раствора к агрегации и коагуляции более 720 часов в условиях отсутствия бактериального заражения и прямого действия света. Спектрофотометрически проказано, что образование комплекса сопровождается сдвигом спектра вправо с 451 нм (в гексане) до 458 нм.(в воде). Возможна экстракция каротина, из водного раствора Аквакаротина гексаном, при этом максимум поглощения соответствует кристаллическому бетта каротину (451 нм.).

Полученный препарат Аквакаротина не имеет постороннего запаха и по вкусу соответствует бета-каротину.

Как и исходный кристаллический бетта каротин, Аквакаротин чувствителен к действию кислорода. Окисление сопровождается снижением максимума спектра в области 451 нм и появлением 2 дополнительных пиков на спектрофотограмме в более коротковолновой области. Возможна стабилизация препарата по отношению к кислороду путем введения в него антиоксидантов.

На способ получения Аквакаротина получен патент РФ.

NEW TECHNOLOGY PREPARATION OF BETTA –CAROTENE DISPERSED IN WATER

Agitsky G.Yu., Sandulov D.B., Semenova T.V.

Crimea State Medical University. National Tavrichesky University. Simferopol.

The hydration of synthetic betta-carotene (BC) without of formation covalent bond was studied. The BC insoluble in water. It was shown the preparation of complex of BC with food derivative of polyoxyethelene is possible. In this complex formed interaction between molecules that take place in molten state of both components without oxygen. The resulting product that named Aquacarotene is solid, red colored , melting-point at 45^0C. The product content 1-10% of BC and easy soluble in cold water, alcohol and different fats.

The stability of 1% solution to aggregation and coagulation during more than 720 hours without bacterial and without of effect of light was studied. Formation of complex displacement (shift) the spectrum on right side from 451 nm (in hexane) to 458 nm (in water) that was shown at spectrophotometric researches. Extraction of BC from water solution by hexane is possible at which adsorption maximum of crystalline BC.

Aquacarotene it is product without of outsider odor and corresponds to initial BC. Aquacarotene is oxidized by oxygen as an initial crystalline BC. Oxidation of Aquacarotene proceed lowerring maximum of spectrum and formation of two additional peaks on the spectrophotograms in short-wave area. Stabilization of product relative of oxygen is possible by addition of antioxidants. The Russian patent was received for method of preparation of Aguacarotene.

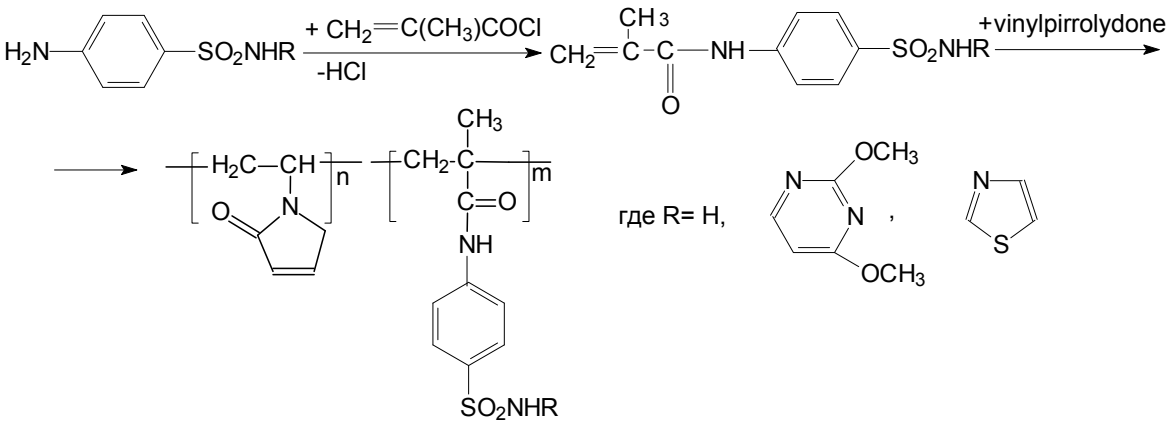
СИНТЕЗ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СУЛЬФАМИДСОДЕРЖАЩИХ ПОЛИМЕТАКРИЛАТОВ

Э.Г. Бездушная, В.Г. Сыромятников, А.Ю. Колендо

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко
e-mail:svg@chem.univ.kiev.ua

Перспективен синтез мономеров и полимеров, которые имеют в своем составе биологически активные группы. Сульфамиды давно известны в медицине своей высокой бактерицидной активностью. Такие полимеры могут быть получены методом сополимеризации биологически активных мономеров с базовыми мономерами [1,2,3]. Биоактивные мономеры были получены нами ацилированием промышленных сульфамидных препаратов хлорангидридом метакриловой кислоты при эквимольном соотношении реагентов в растворе диметилформамида (ДМФА) при 0-5°C. Выделение искомых продуктов осложняется наличием продуктов ацилирования по амидной группе. Выход целевого продукта после двойной перекристализации составляет 53-60%.

Также синтезированы гомополимеры метакриламидов и их сополимеры с винилпирролидоном:



Структура новых мономеров, их полимеров и сополимеров доказана спектральными методами. Показано, что полученные вещества проявляют антибактериальную активность. Определены минимальные подавляющие концентрации (МПК) на грамм-отрицательные бактерии E-coli и на бактерии Candida albican. Показано, что МПК уменьшаются в 1.5 раза при УФ-облучении новых сополимеров.

Литература:

1.Л.С.Чуйко, С.Е.Рочняк, В.А.Волошинец и др. Ненасыщенные сульфаниламиды и полимеры на их основе// Укр.хим.ж. - 1991- т.57.-№6.-С.663 – 667.

3. Л.С.Чуйко, Ю.Я. Карплюк, В.О. Ткачук, С.І. Алексєєнко, О.М. Краюткіна. Синтез та дослідження полімерів з біологічно активними функціональними групами. // Укр.хім.ж.- 2000.- т.66.- № 4.-С.121 –125.

3.Vladimir Syromyatnikov, Ella Bezdushnaya, Alexey Kolendo, Ludmila Vretik, Krzysztof Golec, Tomasz Prot. Biostabilization of polymers by sulfamide derivatives // Prace Naukowe Instytutu Technologii Organicznej i Tworzyw Sztucznych Politechniki Wroclawskiej.-2001.- №.50.-P. 372-376.

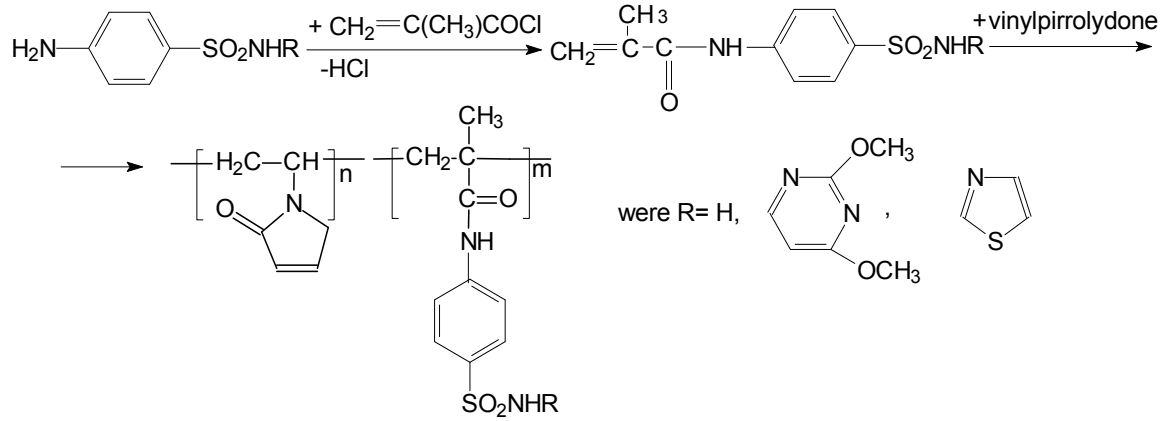
SYNTHESIS OF BIOLOGICALLY ACTIVE SULFAMIDE CONTAINING POLYMETHACRYLATES

E.G.Bezdushnaya, V. G.Syromyatnikov, A. Yu.Kolendo

Kiev National Taras Shevchenko University, Chemical Faculty
e-mail:svg@chem.univ.kiev.ua

The synthesis of monomers and polymers containing bioactive groups appears as very perspective. Sulfamides are well known in medicine due to high bactericide activity and used as active therapic media. Thus polymers can be obtained by copolymerization of biologically active monomers with some basic monomers [1,2,3].

By acylation of industrial sulfamides by methacryloyl chloride with equimole amounts of reagent in N,N-dimethylformamide as a solvent at the 0-5^{0}C some new bioactive monomers have been prepared. The elimination of expected products is hindered by appearance of products with amide groups acylation. The yields of expected products after double crystallization are 53-60 mass %.



Polymers of methacryloylamides, as well as copolymers of the last ones with vinylpirrolydone were synthesized:

The structures of new monomers, polymers as well as copolymers were characterized by spectral methods. It was shown, that synthesized substances have antibacterial activity. The minimal overwhelming concentration (MOC) on gram-negative bacterium E-coli and Candida albican were determed. It was shown, that MOC decreased in 1,5 time by action of UV-irradiation on new copolymers.

Reference:

1.Chuyko L.S., Rochnyak O.E., Voloshinets V.A. et al //Ukrainskii Khimicheskii zhurnal -1991.-Vol.57.-No.6.-P. 663-667.

2. Chuyko L.S., Krapluk Yu.A. et al. // Ukrainskii Khimicheskii zhurnal- 2000.-Vol.66.- No.4.- P.- 121 –125.

3.Vladimir Syromyatnikov, Ella Bezdushnaya, Alexey Kolendo, Ludmila Vretik, Krzysztof Golec, Tomasz Prot. Biostabilization of polymers by sulfamide derivatives // Prace Naukowe Instytutu Technologii Organicznej i Tworzyw Sztucznych Politechniki Wroclawskiej. -2001.- No.50.-P. 372-376.

НОВЫЕ СИНТЕЗЫ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ 1-АЛКИЛ-, 1-АРИЛ- И 1-АРИЛСУЛЬФОНИЛ ПИПЕРАЗИНОВ

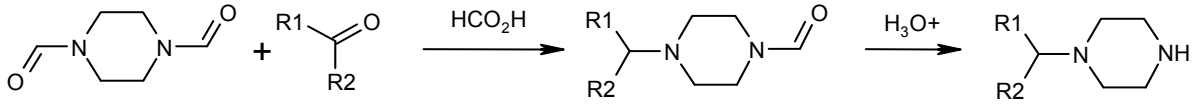
П.Н. Белов, Е.В. Бекиш, Е.А. Лешукович

Украинский Государственный Химико-Технологический Университет
e-mail: chemlab@solar.dp.ua

В настоящее время уже используется более 300 лекарственных средств (ЛС) – производных пиперазина и более 6 тыс. проходят различные фазы медико-биологичес-ких испытаний (Medical Data Drug Reports, structure search). В то же время наблюдается отставание синтетических возможностей получения пиперазинов от современной технологии поиска новых биологически активных веществ (БАВ) и новых ЛС.

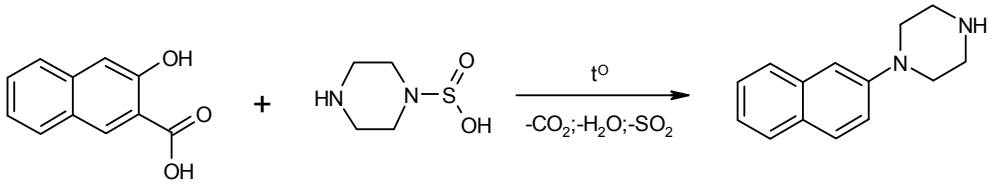
Нашей целью является разработка новых - более технологичных, экономичных и безопасных путей синтеза 1-алкил, 1-арил- и 1-арилсульфонил пиперазинов, подходящих в качестве строительных блоков для молекул известных и еще не испытанных БАВ, содержащих пиперазиновый цикл.

Обычно 1-алкилпиперазины получают прямым алкилированием, однако труднодоступность и неоднозначность реакций многих алкилирующих средств сдерживает возможности синтеза наиболее интересных для скрининга объектов. Реакция Лейкарта-Валлаха дает низкие выходы, но нами установлено, что если использовать 1,4-диформилпиперазин, то ее границы существенно расширяются:



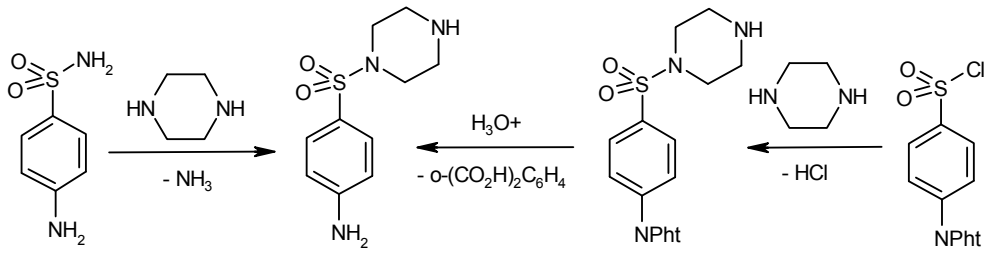
$R_1=R_2=Me$; $R_1+R_2=(CH_2)_4$; R=Ph, $R_1=Me$; $R_1=4\text{-}MeC_6H_4$, $R_2=Me$; $R_1=di\text{-}MeC_6H_3$, $R_2=Me$

Модифицировав реацию Бухерера тем, что применили сульфит пиперазина, мы провели реакцию с БОН-кислотой, причем без давления:



До этого 1-(2-нафтил)пиперазин (его производные - анитипсихотики) получали из канцерогенного 2-нафтиламина и токсичного бис-(2-хлорэтил)амина.

Производные 1-(4-аминофенилсульфонил)пиперазина запатентованы как антиа-ритмические и антибактериальные средства, причем антибактериальный эффект, по-видимому, обусловлен сходством в строении этого вещества с белым стрептоцидом, из которого, как мы установили, он может быть получен реакцией с пиперазином:



По-видимому, это первый пример переамидирования в ряду сульфамидов. Другой найденный путь его синтеза – через 4-фтальимидобензолсульфохлорид.

NEW BIOLOGICAL ACTIVE 1-AlKYL, 1-ARYL-, AND 1-ARYLSULFONYL PIPERAZINES SYNTHESIS

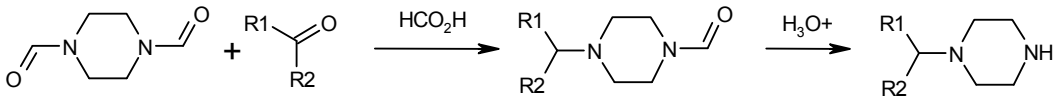
P. Belov, E. Bekish, E. Leshukovich

Ukrainian State Chemical Technological University
e-mail: chemlab@solar.dp.ua

At present it has been used more then 300 piperazine derivatives drugs and more then 6 thousand are testing in different phases of medical and biological researches (Medical Data Drug Reports, structure search). At the same time there are behind of piperazine obtaining synthetic opportunities from new biological active substances and drugs modern search technology.

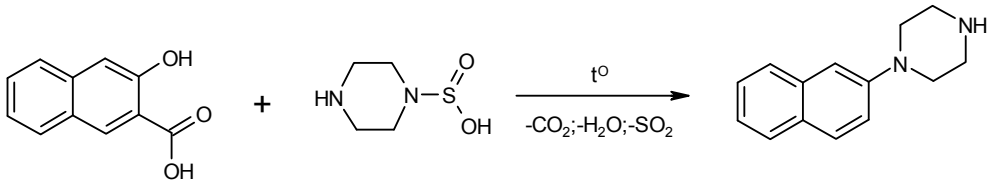
Our goal is development of new – more technological, low cost and safety ways of 1-alkyl-, 1-aryl-, and 1-arylsulfonyl piperazines synthesis, suitable as building blocks for known molecules and untested biological active substances, which contain the piperazine cycle.

As usually 1-alkyl piperazines are obtained by direct alkylation, but inaccessibility and uncertainty the reactions of many alkylation reagents restrict the synthesis opportunities of the most interested items for screening. Lueckart-Wallach's reaction gives low yields, but we found that using of 1,4-diformyl piperazine expand its fields:



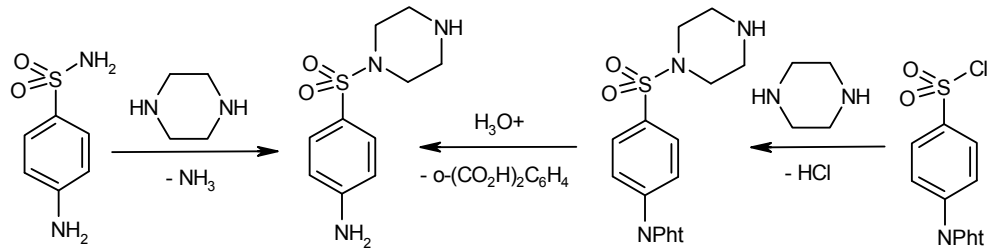
$R_1=R_2=Me$; $R_1+R_2=(CH_2)_4$; R=Ph, $R_1=Me$; $R_1=4\text{-}MeC_6H_4$, $R_2=Me$; $R_1=di\text{-}MeC_6H_3$, $R_2=Me$

When we modified Bucherer's reaction by using of piperazine sulfite, we carried out the reaction with BON acid without pressure:



Before they obtained 1-(2-naphtyl)piperazine (its derivatives are antipsychotics) from cancerogenic 2-naphtylamine and toxyc bis-(2-chloroethyl)amine.

Derivatives of 1-(4-aminophenylsulfonyl)piperazine were patented as antiarrhythmic and antibacterial agents and antibacterial effect may be explained by similarity of the compound with streptocidum album, from which, as we found, it can be obtained by reaction with piperazine:



Probably it is the first example of transamidation in sulfamide family. Another found way its synthesis – from 4-phtalimidobenzenesulfochloride.

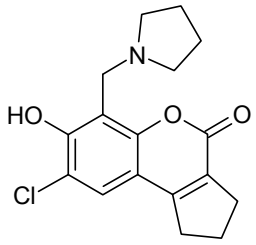
СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ОСНОВАНИЙ МАННИХА 3,4-КОНДЕНСИРОВАННЫХ КУМАРИНОВ

[1]Белюга А.Г., [2]Гаразд Я.Л., [3]Пантелеймонова Т.Н., [1]Гаразд М.М., [2]Хиля В.П.

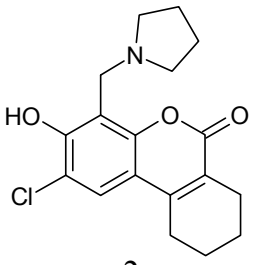
[1]Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины
[2]Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко
[3]Институт геронтологии АМН Украины
e-mail: gmm@i.com.ua

Одним из наиболее перспективных путей синтеза новых биологически активных соединений является химическая модификация природных биорегуляторов. Высокая биологическая активность этих соединений обусловлена наличием нескольких фармакофорных центров. Кумарины широко распространены в растительном мире и обладают разнообразными фармакологическими свойствами. Реакция Манниха - один из методов химической модификации, в результате которой в молекулу вводится функция основания, которая при превращении в аммониевую соль делает молекулу растворимой в водных растворах. Большинство аминометилированных производных кумаринов проявили себя как стимуляторы центральной нервной системы и антагонисты барбитуратов.

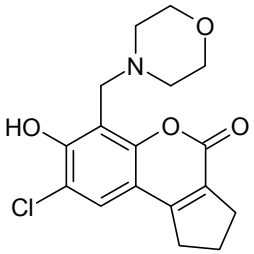
Реакцию С-аминометилирования осуществляли кипячением 7-гидроксикумаринов, содержащих в положениях 3,4 аннелированное бензольное, циклопентановое или циклогексановое ядро, с замещенными 1,1-диаминометанами в абсолютном диоксане. В результате реакции аминометильная группировка вступает в положение 8 кумариновой системы.



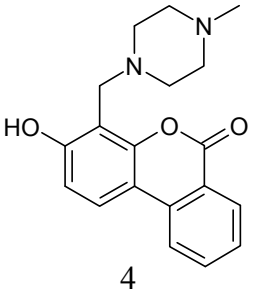
1



2



3



4

Фармакологический скрининг полученных оснований Манниха, проведенный на крысах линии Вистар, показал, что полученные вещества по показателям острой токсичности относятся к IV-V классу токсичности. Соединения 1-4 в дозе 200 мг/кг влияют на центральную и периферическую нервную систему с признаками нейролептического и транквилизирующего действия. Кроме того, соединение 4 также обладает влиянием на обменные процессы и сердечно-сосудистую систему, в частности на показатели биоэлектрической активности миокарда.

СИНТЕЗ, МОДЕЛЬНЫЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ 3-АЛКИЛОКСИКАРБОНИЛМЕТИЛ-4-МЕТИЛ-5-(2-ГИДРОКСИЭТИЛ)ТИАЗОЛИЙ ХЛОРИДОВ

А.И. Вовк*, А.В. Романенко**, Р.В. Бугас*

**Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины*
***Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца*
e-mail: vovk@bpci.kiev.ua

Синтезирован ряд 3-R-оксикарбонилметил-4-метил-5-(2-гидроксиэтил)тиазолий хлоридов, где R - 1-адамантил (I), 1-адамантилметил (II), 1-адамантилэтил (III), l-3-п-ментил (IV), этил (V), гексил (VI), нонил (VII), додецил (VIII).

Изучена кинетика модельных превращений соединений I-VIII в мицеллах бромистого цетилтриметиламмония в присутствии ацетилбензоила и 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия при pH 7.5. Реакция включает стадии образования аддукта тиазолиевого иона с субстратом, последующего раскрытия тиазолиевого цикла и окисления тиольной формы. Восстановление 2,6-дихлорфенолиндофенолята характеризуется первым порядком по тиазолиевой соли и первым порядком

по окислителю. Порядок реакции по ацетилбензоилу изменяется от первого к нулевому. Наблюдаемые константы скорости второго порядка зависят от природы углеводородной части заместителя и составляют 1.11±0.33 М-1с-1, 4.67±0.11 М-1с-1, 5.57±1.45 М-1с-1, 1.74±0.45 М-1с-1, 1.11±0.30 М-1с-1, 9.35±1.87 М-1с-1, 10.87±1.66 М-1с-1 для I, II, III, IV, VI, VII, VIII, соответственно. В условиях опытов тиазолиевая соль V не разлагается с образованием тиольной формы.

Соединения IV, V, VI, VIII испытывались в качестве модуляторов синаптической передачи. Для оценки биологической активности использовали нервно-мышечные препараты (n. ischiadicus - m. sartorius) лягушки. Регистрировался потенциал покоя, потенциалы концевой пластинки, миниатюрные потенциалы концевой пластинки. При этом соединение V не влияло, а продукты VI, VIII и IV в концентрации $1\cdot10^{-4}$ М, $1\cdot10^{-6}$ М и $1\cdot10^{-8}$ М, соответственно, вызывали статистически достоверное уменьшение амплитуды и квантового состава потенциалов концевой пластинки. Соединение IV обладает свойствами, обеспечивающими также снижение амплитуды миниатюрных потенциалов концевой пластинки. Наблюдаемые эффекты являются обратимыми. Отмывание нервно-мышечных препаратов модифицированным раствором Рингера сопровождается восстановлением исходных величин амплитуды и квантового состава.

Предполагается, что превращение тиазолиевого иона в смешанной катионной мицелле моделирует свойства соединений I-VIII в процессе биологического транспорта. Механизмы реализации биологической активности соединений VI, VIII и IV могут быть связаны с гидрофобностью алкильного фрагмента и определенными структурными аналогиями по отношению к витамину B_1.

SYNTHESIS, MODEL TRANSFORMATIONS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF 3-ALKYLOXYCARBONYLMETHYL-4-METHYL-5-(2-HYDROXYETHYL) THIAZOLIUM CHLORIDES

A.I. Vovk*, A.V. Romanenko **, R.V. Bougas*

**Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry of the National Academy of Science of Ukraine*
*** Bogomolets National Medical University*
e-mail: vovk@bpci.kiev.ua

There were synthesized series of 3-R-oxycarbonylmethyl-4-methyl-5-(2-hydroxyethyl)thiazolium chlorides, where R - 1-adamatyl (I), 1-adamantylmethyl (II), 1-adamantylethyl (III), l-3-p-menthyl (IV), ethyl (V), hexyl (VI), nonyl (VII), dodecyl (VIII).

The kinetics of model transformations of I-VIII in micelles of hexadecyltrimethylammonium bromide was investigated at the presence of acetylbenzoyl and sodium 2,6-dichlorophenolindophenolate at pH 7.5. Transformations include steps of adduct formation of thiazolium ion with substrate followed by thiazolium ring opening and thiol form oxidation. The reduction of 2,6-dichlorophenolindophenolate is of the first order in concentration of thiazolium salt and oxidant. The reaction order with respect to acetylbenzoyl concentration is decreased from the first to zero. The observed second order rate constants depend on hydrophobisity of alkyl part of substituent in position 3 of thiazolium ring: 1.11±0.33 M-1c-1, 4.67±0.11 M-1c-1, 5.57±1.45 M-1c-1, 1.74±0.45 M-1c-1, 1.11±0.30 M-1c-1, 9.35±1.87 M-1c-1, 10.87±1.66 M-1c-1 for I, II, III, IV, VI, VII, VIII, accordingly. Under the experiment thiazolium salt V does not decompose with formation of thiol form.

Compounds IV, V, VI, VIII were tested as modulators of synaptic transmission. For evaluation of a biological activity there have been used isolated frog neuromuscular n. ischiadicus - m. sartorius preparations. Potential of rest, end-plate potentials, miniature end-plate potentials were registered. Thus the compound V did not influence, but the products VI, VIII and IV in concentration $1\cdot10^{-4}$ M, $1\cdot10^{-6}$ M and $1\cdot10^{-8}$ M, accordingly, produced decrease of amplitude and quantal content of end-plate potentials. The compound IV can decrease amplitude of miniature end-plate potentials. The observable effects are reversible. The washing up of neuromuscular preparations by the modified Ringer solution is accompanied by reduction of initial amplitudes and quantal content.

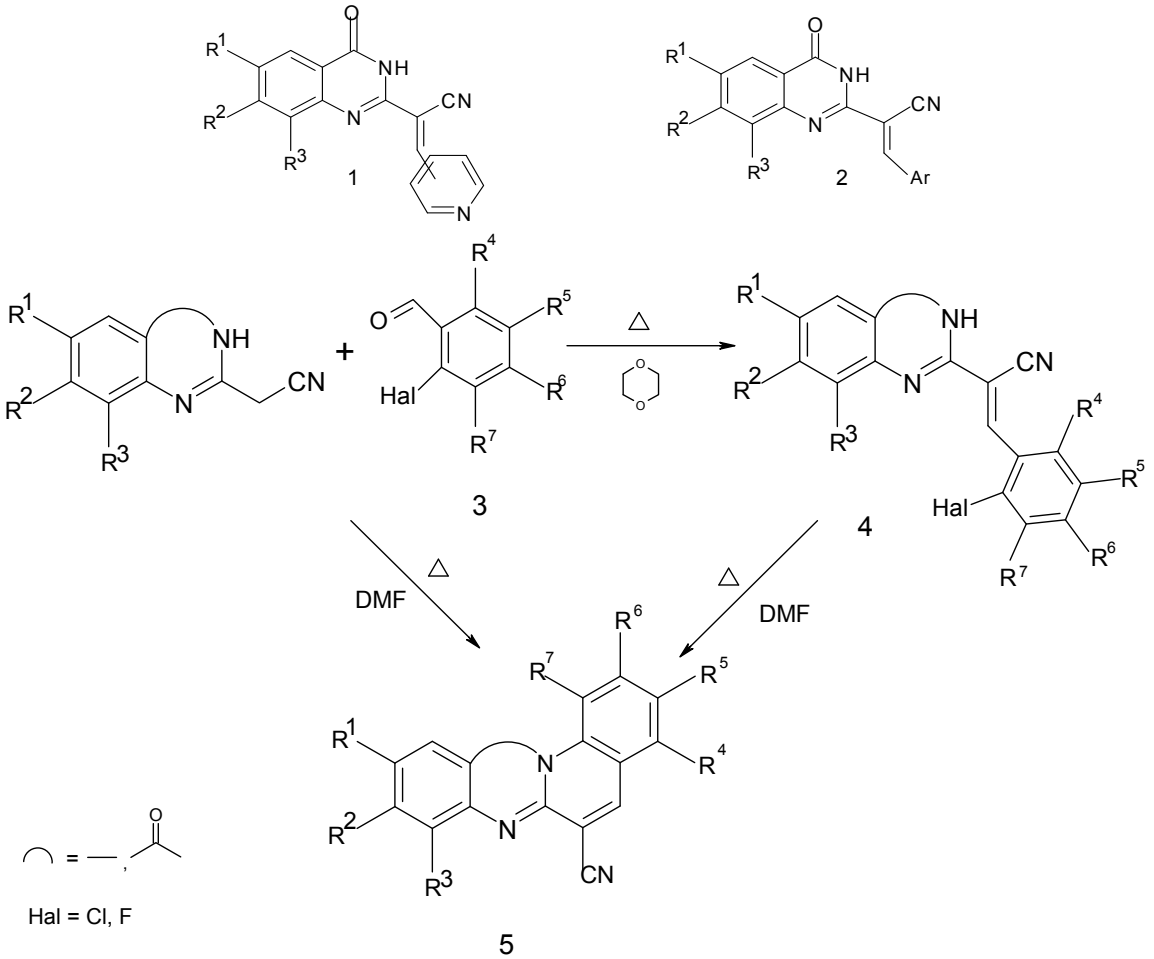
It is supposed, that the transformation of thiazolium ion in mixed cationic micelle models the properties of compounds I-VIII in process of biological transport. The mechanisms of realization of a biological activity of compounds VI, VIII and IV can be linked to hydrophoby of the alkyl fragment and certain structural analogies according to vitamin B_1.

СИНТЕЗ НОВЫХ КОНДЕНСИРОВАННЫХ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ ХИНАЗОЛОНОВ И БЕНЗИМИДАЗОЛОВ.

Ю.М. Воловенко, О.В. Хиля, Т.А. Воловненко

Киевский национальний университет имени Тараса Шевченко
e-mail: olgakh@mail.univ.kiev. ua; vkhylya@mail.univ.kiev.kiev.ua

При изучении полученных нами ранее продуктов конденсации 2-(4-оксо-3,4-дигидро-2-хиназолинил)ацетонитрилов с различными ароматическими и некоторыми гетероароматическими альдегидами были получены 3-арил- и 3-пиридил-2-(4-оксо-3,4-дигидро-2-хиназолинил)акрилонитрилы 1, 2. Некоторые из них проявили гемостатическую активность. Поэтому было продолжено изучение таких реакций с ароматическими о-галогенальдегидами 3, приводящими к образованию соответствующих 3-(галогенфенил)-2-(4-оксо-3,4-дигидро-2-хиназолинил)пропеннитрилов 4. В результате внутримолекулярного арилирования по N-3 4 происходит аннелирование хинолинового цикла к хиназолоновой и бензимидазольной системам. Образующиеся соединения 5 можно также получить в одну стадию.



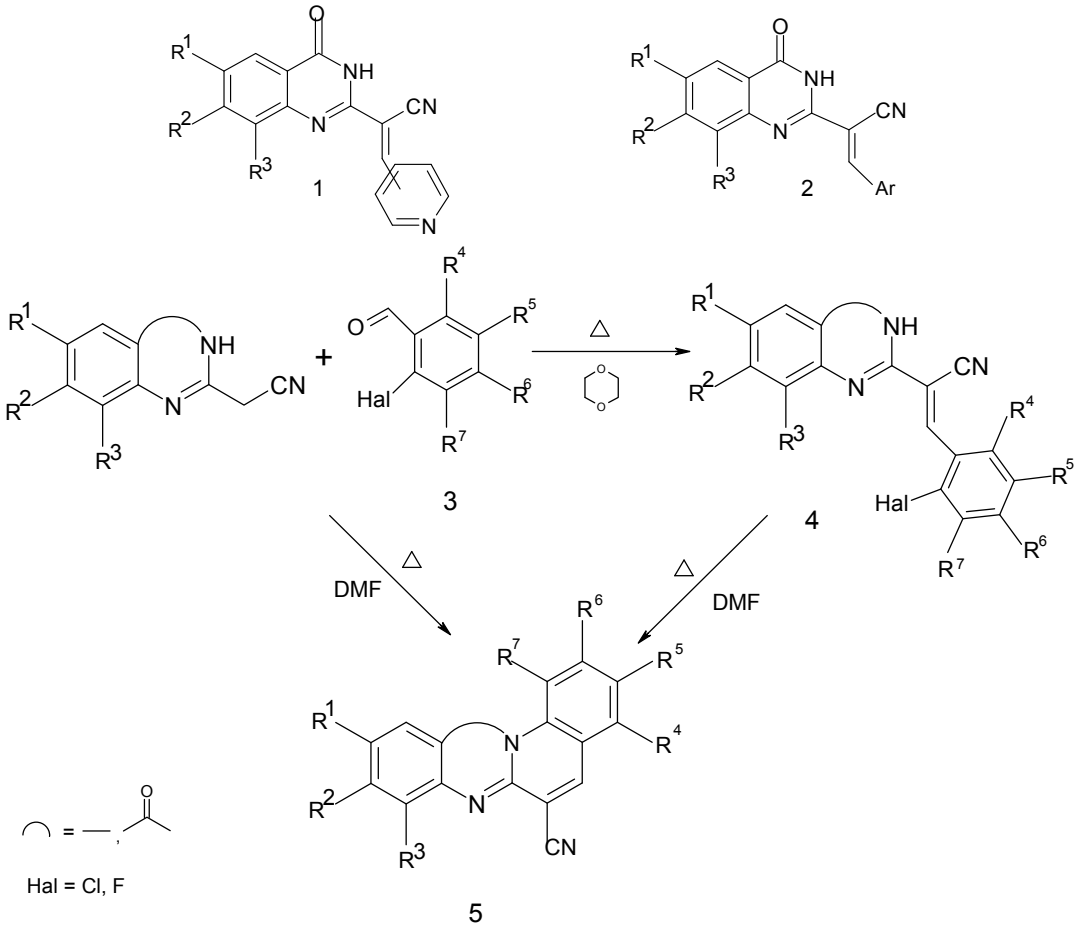
a $R^1 = R^2 = R^3 = H$; b $R^1 = Me$, $R^2 = R^3 = H$; c $R^1 = Et$, $R^2 = R^3 = H$; d $R^1 = i\text{-}Pr$, $R^2 = R^3 = H$; e $R^1 = R^3 = Me$, $R^2 = H$; f $R^1 = R^2 = OMe$, $R^3 = H$; g $R^1 = Br$, $R^2 = R^3 = H$; h $R^1 = Cl$, $R^2 = R^3 = H$; i $R^1 = J$, $R^2 = R^3 = H$; j $R^1 = F$, $R^2 = R^3 = H$; k $R^1 = R^3 = H$, $R^2 = Cl$; $R^4=R^5=R^6=R^7=H$; $R^4=Cl$, F, $R^5=R^6=R^7=H$; $R^4=R^5=R^6=R^7=F$; $R^4=R^5=R^6=R^7=H$; $R^4= =R^6=R^7=H$, $R^5=NO_2$, Cl.

SYNTHESIS OF NEW CONDENSED SYSTEMS BASED ON QUINAZOLONES AND BENZIMIDAZOLES.

Y.M. Volovenko, O.V. Khilya, T.A. Volovnenko.

Kiev National Taras Shevchenko University,
e-mail: olgakh@mail.univ.kiev. ua; vkhylya@mail.univ.kiev.kiev.ua

At learning products (obtained by us earlyer) of condensation 2-(4-oxo-3,4-dihydro-2-quinazolinyl)acetonitriles with various aromatic and some heteroaromatic aldehydes were obtained 3-aryl-and 3-pyridyl-2-(4-oxo-3,4-dihydro-2-quinazolinyl)acrylonitriles 1, 2. Some from them have exhibited hemostatic activity. Therefore studing such reactions with aromatic o-halogenaldehydes 3, resulting in to appropriate 3-(halogenphenyl)-2-(4-oxo-3,4-dihydro-2-quinazolinyl)propionitriles 4 was continued. The result of intramolecular arylation on N-3 of 4 is annulation of a quinoline cycle to quinazolone and benzimidazole systems. The formed of compaunds 5 can also be received in one step.



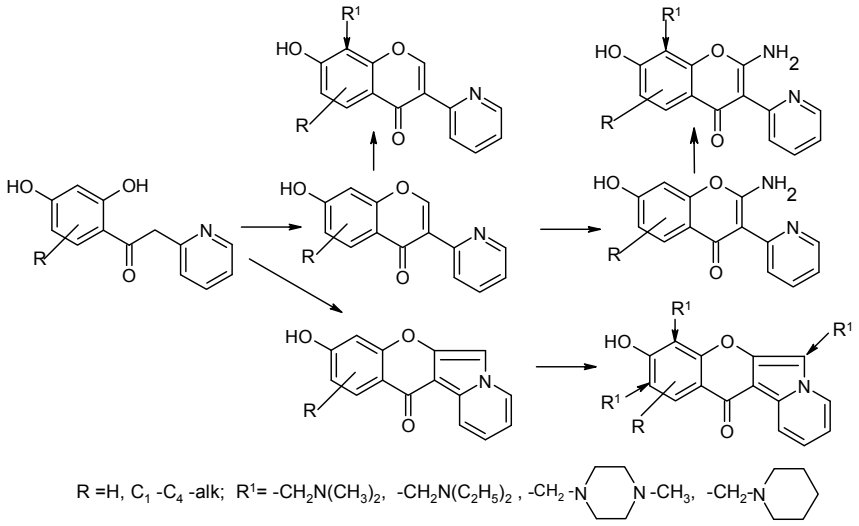
a $R^1 = R^2 = R^3 = H$; b $R^1 = Me$, $R^2 = R^3 = H$; c $R^1 = Et$, $R^2 = R^3 = H$; d $R^1 = i\text{-}Pr$, $R^2 = R^3 = H$; e $R^1 = R^3 = Me$, $R^2 = H$; f $R^1 = R^2 = OMe$, $R^3 = H$; g $R^1 = Br$, $R^2 = R^3 = H$; h $R^1 = Cl$, $R^2 = R^3 = H$; i $R^1 = J$, $R^2 = R^3 = H$; j $R^1 = F$, $R^2 = R^3 = H$; k $R^1 = R^3 = H$, $R^2 = Cl$; $R^4=R^5=R^6=R^7=H$; $R^4=Cl, F$, $R^5=R^6=R^7=H$; $R^4=R^5=R^6=R^7=F$; $R^4=R^5=R^6=R^7=H$; $R^4= =R^6=R^7=H$, $R^5=NO_2$, Cl.

ОСНОВАНИЯ МАННИХА В РЯДУ 3-(2-ПИРИДИЛ)ХРОМОНОВ И 12Н-ХРОМЕНО [3,2-а]ИНДОЛИЗИН-12-ОНОВ

Горбуленко Н.В. , Купчевская И.П., Хиля В.П.

Киевский Национальный университет имени Тараса Шевченко
E-mail: vkhilya@hotmail.com; vkhylya@mail.univ.kiev.ua

Известно, что весьма активными стимуляторами деятельности ЦНС и дыхательных путей оказались



N-замещенные аминометильные производные как флавонов , так и изофлавонов. Эти соединения проявили высокую антиконвульсивную, противоаллергическую, болеутоляющую активность. Широкую известность среди производных этого ряда получил “димерфлин”. Поэтому представляло интерес синтезировать соединения такого рода в ряду 3-(2-пиридил)-, 2-амино-3-(2-пиридил)хромонов и 12Н-хромено[3,2-а]- индолизин-12-онов.

3-(2-Пиридил)-, 2-амино-3-(2-пиридил)-7-гидроксихромоны и 12Н-хромено[3,2-а]индолизин-12-оны легко взаимодействуют с аминалями в диоксане при нагревании. Реакции проходят с высокими выходами. В случае 3-(2-пиридил)-хромонов реакция идет по 8 положению, а для конденсированной системы – по 6,8,10 положениям.

Строение полученных оснований Манниха подтверждено данными ПМР спектроскопии и элементного анализа.

ГИДРАЗИДНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ АМИНО-1Н-ИЗОИНДОЛА

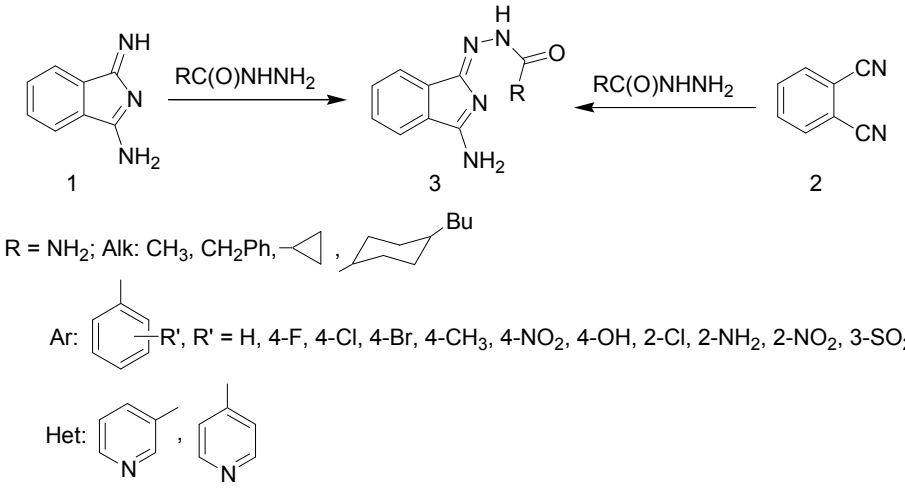
Гордиенко О.В.[а], Бийцева[а] А.В., Корнилов М.Ю.[а], Зубатюк Р.И.[б], Шишкин О.В.[б]

[а] *Киевский национальный університети имени Тараса Шевченко,*
[б] *Институт монокристаллов НАНУ*
e-mail: ov_hordiyenko@mail.univ.kiev.ua

Производные гидразина находят широкое применение в медициниской практике.[1] Из них наиболее известными являются производные гидразида изоникотиновой кислоты (ГИНК). В первую очередь, это противотуберкулезные препараты, из которых наибольшую бактериостатическую активность проявляет сам гидразид изоникотиновой кислоты - препарат изониазид, а также его производные фтивазид, салюзид, метазид. Производные ГИНК известны также как антидепрессанты - ингибиторы моноаминооксидазы (МАО), из которых в настоящее время применяется ниаламид - 1-[2-(бензилкарбамоил)-этил]-2-изоникотиноилгидразид.

Из замещенных амино-1Н-изоиндолов описаны всего лишь 3 производных, содержащих остатки гидразидов кислот.[2] Поэтому представляет интерес синтез различных гидразидных производных амино-1Н-изоиндола и систематическое изучение их биологической активности. Гидразидные производные как

алифатического, так и ароматического и гетероароматических рядов доступны из незамещенного амино-имино-1Н-изоиндола (1) по методу,[2] а также из фталодинитрила (2) по разработанному нами способу:



Строение соединений (3) подтверждено методом ПМР и рентгеноструктурными исследованиями. В кристаллическом состоянии они существуют в указанной таутомерной форме независимо от природы заместителя R. Характер заместителя влияет на соотношение стереоизомерных форм, существование которых становится возможным вследствие наличия экзоциклической C=N связи. Если производные ароматических гидразидов кислот (R = Ar или Het) существуют в растворе в виде лишь одного Z-изомера, то при R = Alk в растворе присутствуют обе стереоизомерные формы, между которыми при нагревании происходит обратимое взаимопревращение.

Присутствующий амидиновый фрагмент позволяет осуществлять дальнейшие химические модификации соединений (3) по экзоциклической аминогруппе.

Машковский М.Д. Лекарственные средства. Пособие по фармакотерапии для врачей. В 2-х кн., Вильнюс, 1994, ч. 1, с. 80-82, 278-281.

Farbenfabr. Bayer, DE 941845; 1953.

AMINO-1H-ISOINDOLE HYDRAZIDE DERIVATIVES

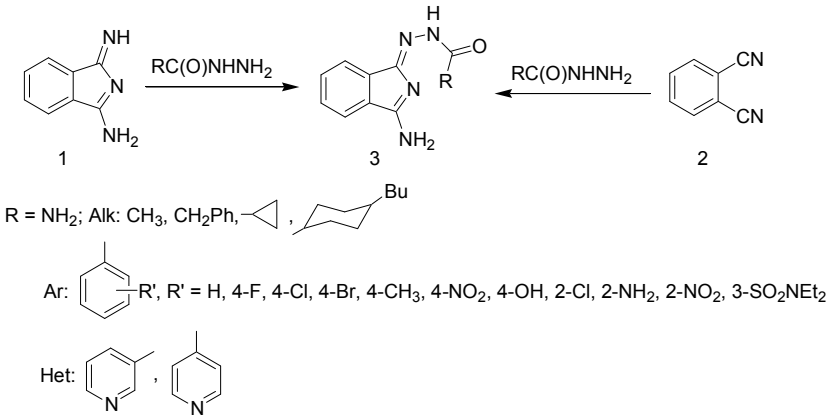
O.V.Gordiyenko[a] , A.V.Biytseva[a] , M.Yu.Kornilov[a], R.I.Zubatyuk[b] , O.V.Shishkin[b]

[a] *Kyiv National Taras Shevchenko University;* [b]*Institute of Monocrystals*
e-mail: ov_hordiyenko@mail.univ.kiev.ua

Hydrazide derivatives find wide use for medical practice.[1] Isonicotinohydrazide (INH) derivatives are the best known ones. First of all they use as antituberculous drugs, and isonicotinohydrazide known as isoniazide and its derivatives – phthivazide, saluzide and methazide have the most strong bacteriostatic activity. INH derivatives are known also as energizers – monoaminooxidase inhibitors (MAO), and nialamide – 1-[2-benzylcarbamoyl)-ethyl]-2-isonicotinoyl hydrazide which is used today is one of them.

Three amino-1H-isoindole derivatives with hydrazide residue are described.[2] Therefore synthesis and biological activity study of different amino-1H-isoindole hydrazide derivatives is of interest. Hydrazide derivatives three of aliphatic, aromatic and heteroaromatic series are available from amino-imino-1H-isoindole (1) by the method [2], as well as from phthalonitrile (2) by the method elaborated by us:

The structure of (3) was confirmed by 1H NMR and X-ray investigation. In crystalline state they exist in pointed out tautomeric form indepent of nature of R. The character of R determines the ratio of stereoisomeric forms that arise owing to exocyclic C=N double bond. The aromatic acid hydrazide derivatives (R = aryl or heteroaryl) exist in solution as Z-isomers only but if R = alkyl two interconvertible stereoisomeric forms present between which a reversible interconversion takes place. The present amidine fragment allows to realize a modification of (3) on the exocyclic amino group.



Mashkovskii M.D. Drugs. In 2 parts (in Russian), Vilnius, 1994, p. 1, p. 80-82, 278-281.
Farbenfabr. Bayer, DE 941845; 1953.

СИНТЕЗ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ НЕПРЕДЕЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ РЕАКЦИЕЙ АНИОНАРИЛИРОВАНИЯ

Б.Д. Грищук, П.М. Горбовой, В.С. Барановский, Л.И. Власик[1], А.В. Блиндер[1], С.И. Климнюк[2]

Тернопольский государственный педагогический университет им. Владимира Гнатюка
НИИ Медико-экологических проблем МОЗ Украины
Тернопольская государственная медицинская академия им. И.Я. Горбачевского
e-mail: baranovsky@tspu.edu.ua; grishchukb@mail.ru; gorbovy@rambler.ru

Среди соединений, проявляющих биологическую активность, значительный интерес представляют функционализированные производные алкенов, широкое использование которых до недавнего времени сдерживалось отсутствием простых методов их получения. Синтез данных производных нами осуществлен реакцией анионарилирования [1].

Взаимодействием ароматических солей диазония с непредельными соединениями в присутствии внешних нуклеофилов получены с высокими выходами полифункциональные производные алкенов - галогениды, тиоцианаты, изотиоцианаты, сульфиды, нитропроизводные, ксантогенаты, N,N-диэтилдитикарбаматы, O,O-диалкилдитиофосфаты. Установлено, что из синтезированных производных хлористого винила, хлористого винилидена, трихлорэтилена, хлористого, бромистого, йодистого и изотиоцианатоаллилов, эфиров акриловой и метакриловой кислот, аллилглицидилового эфира, винилоксиэтилового эфира глицидола, N-аллилакриламида, диаллиолксида и диаллилсульфида наиболее эффективными антимикробными свойствами обладают тиоцианаты и изотиоцианаты.

В развитие выполненных исследований разработаны методики получения продуктов тиоцианатоарилирования бинепредельных соединений с изолированными кратными связями – диакрилатов тетраметилен-, диэтилен-, дипропиленгликолей и N,N-метиленбисакриламида с участием как одной, так и двух кратных связей. Исследование их биологической активности подтвердило, что эти соединения обладают менее выраженными антимикробными свойствами по сравнению с продуктами тиоцианатоарилирования алкенов.

Анализ результатов изучения антибактериальных и антигрибковых свойств синтезированных соединений позволяет утверждать, что некоторые из них могут служить основой для создания новых антимикробных препаратов широкого спектра действия, а также для получения полимерных композиций и защитных покрытий с целью придания им устойчивости к биологической коррозии.

Установлена связь между строением синтезированных соединений и степенью проявления антимикробной активности, её селективностью к отдельным штаммам микроорганизмов.

Грищук Б.Д., Горбовой П.М., Ганущак Н.И., Домбровский А.В. // Усп. химии, 63 (3), 269-279 (1994).

SYNTHESIS OF BIOLOGICALLY ACTIVE DERIVATIVES OF UNSATURATED COMPOUNDS BY REACTION OF ANIONARYLATION

B D Grishchuk, P M Gorbovyi, V S Baranovskyi, L I Vlasik, A V Blinder1, S I Klimnuk

Ternopil state pedagogical university
The research institute of medical-ecological problems of MGH of Ukraine, Chernyvtsy
Ternopil state medical academy
e-mail: baranovsky@tspu.edu.ua; grishchukb@mail.ru; gorbovy@rambler.ru

Among compounds which exhibiting biological activity, considerable concern introduce the functionalized derivatives of alkenes, broad usage of which one until recently restrained by absence of simple methods of their obtaining. The synthesis of those derivatives by us is carried out by reaction of anionarylation [1].

The interaction of aromatic diazonium salts with unsaturated compounds in presence of external nucleophiles obtains the multifunctional derivatives of alkenes – halogenides, thiocyanates, isothiocyanates, sulphides, nitrites, xanthogenates, N,N-diethyldithiocarbamates, O,O– dialkyldithiophosphates with high yields. Is established, that from synthesized derivatives of vinylchloride, vinylidenechloride, trichlorethylene, allyl chloride, allyl bromide, allyl iodide and allyl isothiocyanate, aethers of acrylic and methacrylic acids, allyl glycidyl ether, vinyloxyethyl ether of glycidole, N-allylacrylamide, diallyl ether and diallyl sulphide the most effective antimicrobial properties have the thiocyanates and isothiocyanates.

In development of executed researches the methods of obtaining of products of thiocyanatoarylation of biunsaturated compounds with isolated double bonds – diacrylates of tetramethylene-, diethylene- and dipropileneglicoles and N,N-methylenebisacrylamide with participation of one, and two double bonds. The research of their biological activity has confirmed that these compounds have less expressed antimicrobial properties as contrasted to products of thiocyanatoarylation of alkenes.

The analysis of antibacterial and antifungic properties of the synthesized compounds allows to approve, that some of them can form the basis for creation of new germicides with a broad spectrum of operating, and also for obtaining the polymer compositions and protective coatings with the purpose of collimating the stability to biological corrosion to him.

The connection between a constitution of the synthesized compounds and degree of a development of antimicrobial activity and their selectivity to the separate strains of micro-organisms is established.

B D Grishchuk, P M Gorbovoi, N I Ganushchak, A V Dombrovskii // Russian Chemical Reviews, 63 (3), 269-279 (1994).

ФОРМИРОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ МАТРИЦ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ β-ЦИКЛОДЕКСТРИНА

Давиденко Т.И.

Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины, Одесса

Структура молекулы позволяет β–циклодекстрину (β-ЦД) образовывать с различными биологически активными соединениями наночастицы, представляющие собой комплексы включения по типу «хозяин-гость». Основным условием образования этих комплексов является соответствие размеров молекул «гостей» полости «хозяина». Целесообразно использовать их в тех случаях, когда необходимо изменить растворимость биологически активного соединения, защитить его в образующемся микроокружении, получить более удобные для использования формы, создать и сохранить стабильность гомогенного состояния, изменить физические характеристики. При этом важно использование наночастиц, покрытых, либо содержащих в своем составе поверхностно-активное вещество (ПАВ).

При взаимодействии β–ЦД и ПАВ, таких как, моноалкиловые эфиры полиэтиленгликоля, Тритон Х-100, Твин-80, оксиэтилированные жирные кислоты (олеоксы и стеароксы) нами получены новые комплексы. На основании данных термогравиметрии, спектроскопии ИК, ЯМР ^{1}Н и ЯМР ^{13}С сделан вывод об образовании комплексов за счет гидрофобных взаимодействий внутренней полости β–ЦД и ПАВ.

Анализ соотношений времени спин-решеточной релаксации ядер С13 молекул β–ЦД в структуре комплекса с ПАВ (ОС-20) и в растворе свидетельствует о том, что подвижность всех фрагментов α–глюкопиранозных звеньев β–ЦД несколько увеличивается, что может быть связано с вытеснением молекулы полярного растворителя из полости β–ЦД через встраивание в нее молекулы ПАВ.

Смешивание водных растворов ПАВ, β-ЦД и некоторых биологически активных соединений приводило к выпадению осадка, содержащего комплексы как с ПАВ, так и с биологически активным веществом. Т.е., в данном случае «гости» конкурировали между собой за молекулу «хозяина», выпадая совместно в осадок, что позволяет формировать комплексные препараты, содержащие ПАВ, β-ЦД и биологически активные вещества.

С использованием хлористого цианура в качестве сшивающего реагента провели иммобилизацию β–ЦД на сефадексе, при этом максимальное количество β–ЦД, связанное с сефадексом составляло 0,1 г на 1 г носителя. Иммобилизованный β–ЦД полностью сорбировал ПАВ (ОС-20) в течение 2-х дней. Для выделения ОС-20 колонку периодически промывали этанолом, при выпаривании которого выделяли ОС-20.

Интересно отметить, что гидролиз казеина щелочной протеазой в присутствии иммобилизованного β–ЦД проходил со скоростью на порядок больший, чем в его отсутствие. Возможно это связано с тем, что щелочная протеаза гидролизует пептидные связи, образованные гидрофобными α–аминокислотами, которые образуя комплексы с иммобилизованным β–ЦД, способствуют ускорению процесса.

THE FORMATION OF BIOLOGICALLY ACTIVE MATRICES WITH A USAGE OF β-CYCLODEXTRIN

Davidenko T.I.

A.V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of the NAS of Ukraine,

The molecular structure allows the β–cyclodextrin (β–CD) to form the inclusion complex , belonging to a “host-quest” type in nano-particles with different biologically active compounds. It is possible to use them, when it is necessary to change the solubility of biologically active compound, to protect it in the forming microenvironment, or to change the physical characteristics.

Upon this, it is important to use the nano-particles coated or containing the surface active substances (SAS) in their composition.

New complexes were obtained by us at the interaction of β–CD and SAS, such as polyethylene glycol monoalkyl ethers, Triton-X-100, Tween-80, hydroxyethylated fatty acids (oleoxy- and stearoxy-). Using data of thermogravimetry, spectroscopy of IR, NMR ^{1}H and NMR ^{13}C we have made a conclusion, that complexes were formed due to hydrophobic interactions of inner cavity of β–CD and SAS.

The comparison of time rations of spin-lattice 13C-nuclei relaxation in β–CD within the structure of SAS OC-20 complex and in solution proves some increasing of mobility of all β–CD α–glucopyranosil fragments. It may be caused by displacement of the polar solvent molecule from the cavity of β–CD through the inclusion of SAS molecules in it.

Mixing of the aqueous solutions of SAS, β–CD and some of biologically active compounds led to the precipitation, containing β–CD complexes with both SAS and biologically active compounds, i.e. in given case the “guests” competed with each other for the “host” molecule.

Immobilization β–CD on sephadex was realized with the use of cyanuric chloride as a cross-linking reagent, upon which the maximal quantity of β–CD, coupled with sephadex, was equal 0,1 g on 1 g of support. The immobilized β–CD sorbed the SAS (OS-20) during two days completely.

It is noteworthy, that the casein hydrolysis by alkaline protease in the presence of immobilized β–CD was realized with a rate on one degree higher, than in it absence. It is possible due to, that alkaline protease hydrolyses the peptide bounds, which are formed by hydrophobic α–aminoacids, being in a complex with immobilized β–CD, that favor the acceleration of process.

МОДИФИКАЦИЯ АЛКАЛОИДОВ ВАЗИЦИНА И ЦИТИЗИНА ИЗОЦИАНАТАМИ

Дыбенко А.Г.[1], Язловицкий А.В.[2], Карцев В.Г.[2]

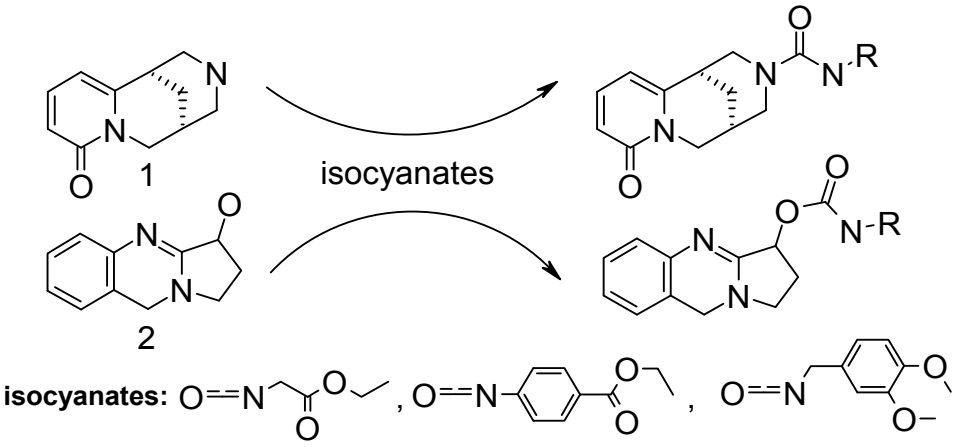
[1]*Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины,*
[2]*Эксимед-Интербиоскрин*

e-mail: dybenko@eximed.kiev.ua

Алкалоиды вазицин (пеганин) (1), найденный в траве могильника Peganum harmala L. и цитизин (2), содержащийся в семенах ракитника Cytisus laburnum L. и термопсиса ланцетолистного Thermopsis lanceolata R. Br. обладают широким спектром физиологического действия. Так, пеганин оказывает возбуждающее действие на ЦНС, а его гидрохлорид разрешен к применения в качестве антихолинэстеразного средства. Цитизин используется в медицинской практике, как средство, возбуждающее дыхательный центр и повышающее артериальное давление в случае остановки дыхания.

Относящиеся к разным химическим группам, оба алкалоида - весьма удобные объекты для всевозможных химических преобразований. Но, поскольку целью модификаций природных объектов является, безусловно, поиск новых физиологически активных соединений – потенциальных лекарственных средств, не стоит, однако, забывать об изначально высокой стоимости исходных матриц. Введение дополнительных фармакофорных групп, а если этот процесс еще и многостадийный, намного удорожает синтез конечного вещества.

Исходя из этих соображений, в нашей работе мы избрали простую схему ацилирования спиртовой группы вазицина и вторичного азота цитизина. Приведенные на рисунке изоцианаты, синтезированы из этилового эфира глицина (аминокислота), этилового эфира п-аминобензойной кислоты (анестезин) и вератриламина (природный фармакофор).



Строение синтезированных соединений подтверждено элементным анализом и данными ЯМР-спектроскопии.

Чистый вазицин выделен нами из смеси алкалоидов группы пеганина, содержащей кроме основного вещества около 15-20% вазицинона и дезоксипеганина.

MODIFICATION OF ALKALOIDS VASICINE AND CYTISINE BY ISOCYANATES

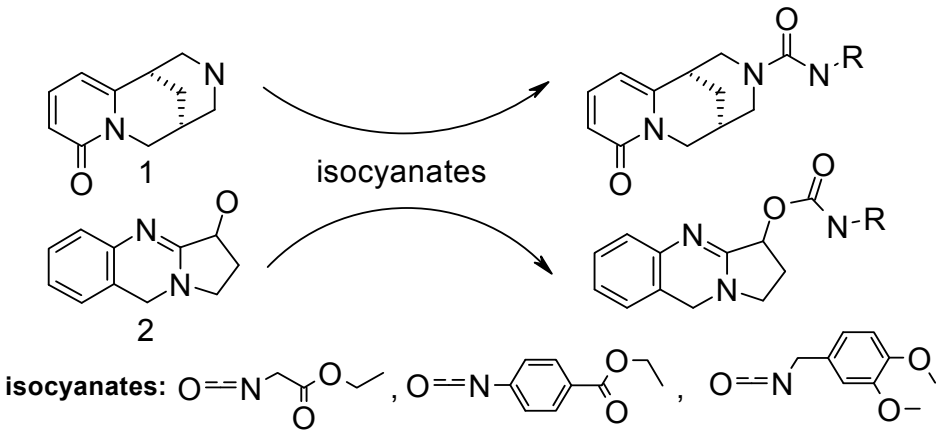
Dybenko A.G.[1], Jazlovitskij A.V.[2], Kartsev V.G.[2]

[1]*Institute of bioorganic chemistry and petrochemistry Academy of sciences of Ukraine,*
[2]*Eximed-Ibscreen*
E-mail: dybenko@eximed.kiev.ua

The alkaloids vasicine (peganine) (1), found in Peganum harmala L. and cytisine (2), keeping in Cytisus laburnum L. and Thermopsis lanceolata R. Br. have a wide spectrum of physiological action. Peganine renders excitant action on CNS, and its hydrochloride is solved to application as anticholinesterase agent. The cytisine is applied in medicine, as an agent stimulating a respiratory center and elevating arterial pressure in case of an apnoea.

The doubt does not invoke, that the purpose of modifications of natural objects, in this case of alkaloids, is searching of new physiologically active compounds - potential pharmaceuticals. But, for planning synthesis, it is impossible to forget about initially high cost of starting templates. Introduction padding pharmacophore still increase the price of synthesis of final material.

In our work we have selected the simple scheme of acylation of alcoholic group of vasicine and secondary nitrogen of cytisine. Isocyanates, indicated on a figure, are synthesized from glycine ethyl ester (amino acid), p-aminobenzoic acid ethyl ester (Anaesthesinum) and veratrylamine (natural like pharmacophore).



The structures of synthesized compounds is confirmed by element analysis and NMR data.

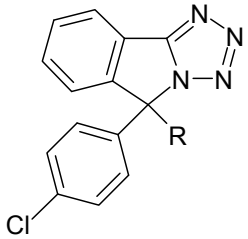
Pure vasicine is extracted with us from an admixture of alkaloids of bunch peganine, keeping except for the basic material about 15-20 % vasicinone and dezoxypeganine.

СИНТЕЗ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ РЯДА ТЕТРАЗОЛОИЗОИНДОЛА

Т. В. Егорова, А. И. Кисель, З. В. Войтенко, И. В. Затовский, С. А. Олийнык*

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко
**Медицинский институт Украинской ассоциации народной медицины*
e-mail: ssegor@svitonline.com; tve@mail.univ.kiev.ua

Производные тетразолоизоиндола проявляют разноплановую биологическую активность. Так, например, соединения 1 a – e оказывают депрессивное действие на ЦНС, а соединение 1 a – антиконвульсивный эффект [1].

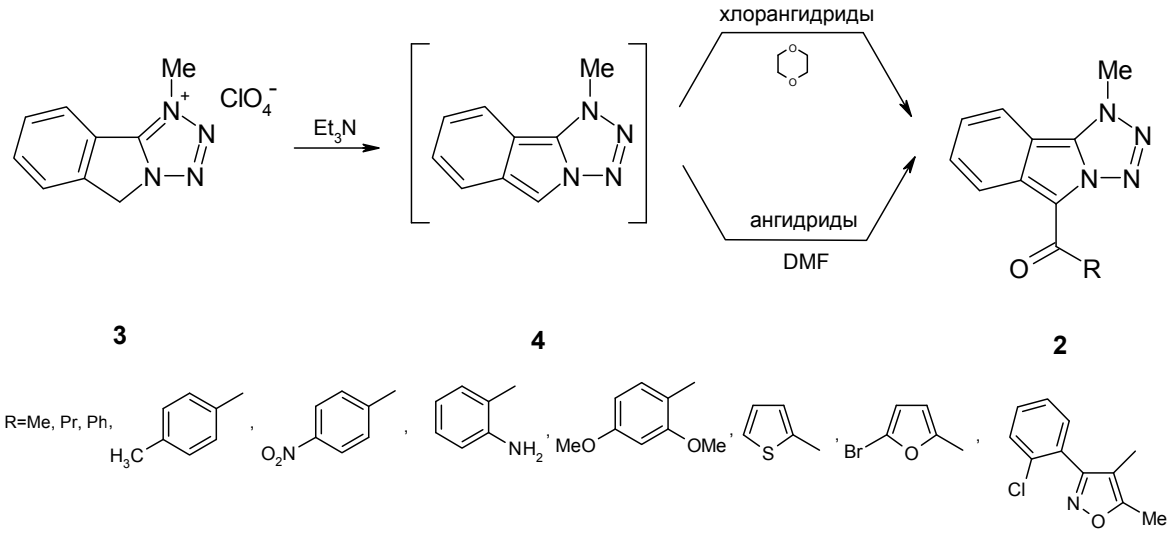


1

a R=CH_3, b R=i-Pr, c R=$PhCH_2$, d R=CH_2=$CHCH_2$, e R=$CHCCH_2$

Это свидетельствует о перспективности дальнейшего изучения данного класса соединений в качестве веществ, оказывающих угнетающее влияние на ЦНС (антиконвульсанты, нейролептики и т. д.), антигипоксантов и антирадикальных агентов.

Нами синтезирован и предложен для биологических испытаний ряд веществ 2, полученных из перхлората 1-метилтетразоло[5,1-a]изоиндолия 3 действием ангидридов и хлорангидридов карбоновых кислот в различных условиях (схема 1).



3 **4** **2**

Схема 1

Использование вместо ангидридов более доступных и разнообразных хлорангидридов карбоновых кислот позволяет варьировать R в широких пределах, в то же время в некоторых случаях вещество 2 удалось получить только при действии соответствующего ангидрида. Все соединения 2, в отличие от промежуточного продукта 4, стабильны при хранении.

Исходный перхлорат 3 был получен по методике [2].

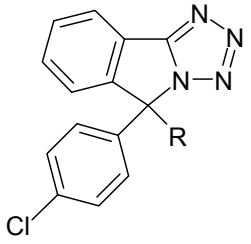
W. J. Houlihan, M. K. Eberle. Пат. США 3642814. Опубл. 15.02.72.
Ф. С. Бабичев, Н. Н. Романов, Укр. хим. журн., 39, № 1, 49 (1973).

SYNTHESIS OF BIOLOGICALLY ACTIVE TETRAZOLOISOINDOLE DERIVATES

T. V. Egorova, A. I. Kysil', Z. V. Voitenko, I. V. Zatovsky, S. A. Oliynyk*

Kyiv National Taras Shevchenko University
**Medical Institute of Ukrainian Association of Folk Medicine*
e-mail: ssegor@svitonline.com; tve@mail.univ.kiev.ua

Tetrazoloisoindole derivates perform complex biological activity. For example, compounds 1 a – e are depressants, and compound 1 a is anticonvulsant [1].

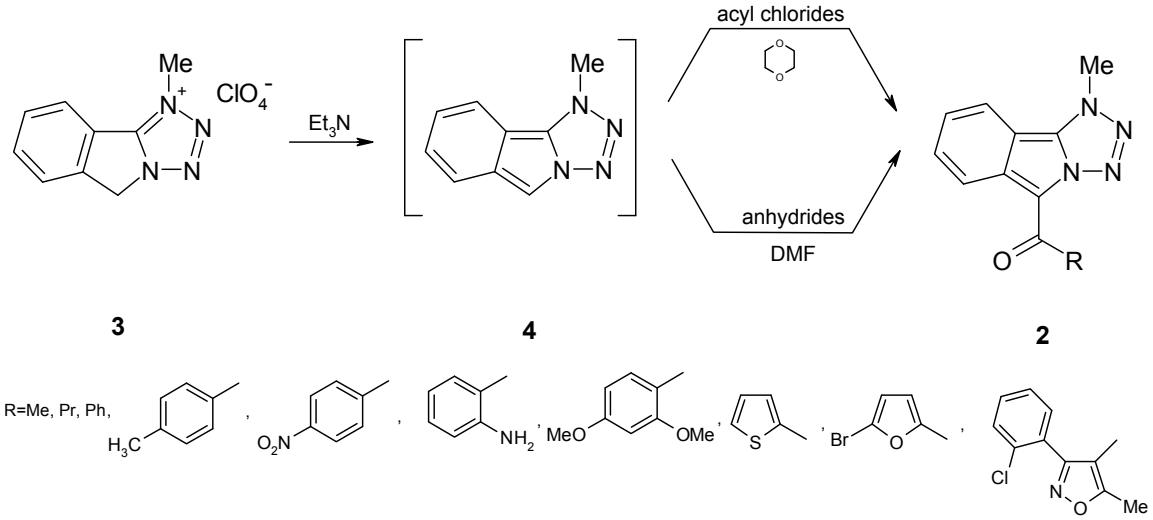


1

a R=CH_3, b R=i-Pr, c R=$PhCH_2$, d R=CH_2=$CHCH_2$, e R=$CHCCH_2$

These facts show that further investigation of such compounds as ones which inhibit CNS (anticonvulsants, neuroleptics and so on), antihypoxants and antiradical substances in perspective.

We synthesized different compounds 2 from 1-methyltetrazolo[5,1-a]izoindolium perchlorate 3 and anhydrides and chloroanhydrides of carboxylic acids in different conditions (scheme 1). These compounds were also tested on biological activity.



Scheme 1

Using of acyl chlorides which are more accessible and various instead of anhydrides allow easily vary R but sometimes we can obtain compound 2 only using appropriate anhydride. All compounds 2 are stable in store in different with intermediate 4.

Starting perchlorate 3 was obtained by the method described in [2].

W. J. Houlihan, M. K. Eberle. US Patent 3642814. Published in 15.02.72.
F. S. Babichev, N. N. Romanov, Ukr. Khim. Zhurn., 39, № 1, 49 (1973).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ β-ГЕПТИЛГЛИКОЗИДА МУРАМОИЛДИПЕПТИДА

А.Е. Земляков, О.В. Калюжин*, В.Я. Чирва

Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского
** НИИ морфологии человека РАМН*

β-Гептилгликозид N-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамина (мурамоилдипептида, МДП) [1] в ряде тестов *in vitro* (стимуляция пролиферации лимфоцитов, активация продукции перитонеальными макрофагами мышей IL-1 и TNF, индукция спленоцитами мышей IL-2 и др.), а также по протективному эффекту при заражении мышей *S. typhi*, превышал по активности мурамоилдипептид и широкую группу его производных.

Дальнейшие исследования показали, что как при пероральном, так и при внутривенном введении β-гептил-МДП стимулируется антиинфекционная резистентность у мышей к внутрибрюшинному заражению *S. typhi* в дозе 100 LD_{50}. Максимальный эффект оказал пероральный прием препарата в дозе 20 мкг/мышь. Профилактическое действие β-гептил-МДП и его комбинаторное воздействие с антибиотиками, также изучалось на мышиных моделях сепсиса, вызываемого летальными дозами *K. pneumoniae, E. coli, S.aureus, P. vulgaris, P. aeroginosa*. Выживаемость животных при введении гликопептида *per os* за 24 час до заражения составила 80% в случае *K. pneumoniae, E. coli, S.aureus* и 20% для *P. vulgaris*. Последующее применение антибиотиков увеличивало выживаемость мышей, например для *P. vulgaris* до 60%. При комбинировании иммуномодулятора с антибиотиком наблюдалось снижение летальности и в случае *P. aeroginosa*, тогда как по отдельности ни β-гептил-МДП, ни антибиотик ее не изменяли.

С помощью меченого гликопептида (β-гептил-МДП-[1-^{14}C]-GlyOMe) [2] была изучена динамика распределения гликопептида по органам и биологическим жидкостям при пероральном и внутривенном введении. Через 24 часа содержание препарата в организме составляло около 2% при и внутривенном введении и 10% при пероральном введении. По сравнению с меченым МДП гликозидный аналог существенно дольше задерживается в тканях.

β-Гептил-МДП тормозил рост опухоли, увеличивал продолжительность жизни и уменьшал число метастазов при исследовании на мышиных моделях опухолей различного гистогенеза: лимфома EL-4, меланома B16 и эпидермоидная карцинома легких Льюиса. Наибольшее противоопухолевое действие

наблюдалась при сочетании цитостатика и иммуномодулятора. Например, в случае меланомы B16 продолжительность жизни животных увеличилась более чем в два раза.

Созданная на основе β-гептил-МДП биологически активная пищевая добавка «глимурид» была рекомендована комиссией Фармкомитета РФ для профилактики и комплексного лечения заболеваний, связанных со вторичной иммунной недостаточностью. Клинические исследования на больных с хроническим описторхозом показало, что применение «глимурида» в комплексном лечении дает стойкое клиническое улучшение. Через 6 месяцев после приема препарата показатели иммунитета у больных были сходны с их значениями у здоровых лиц. Положительные результаты наблюдались и в случае применения иммуномодулятора у пациентов, получающих химиотерапию 5-фторурацилом после радикального удаления злокачественных опухолей желудка и толстой кишки.

1. Земляков А.Е., Чирва В.Я. // Химия природн. соедин.- 1987.- С.714-718.
2. Земляков А.Е., Андрякова И.М., Чирва В.Я. // Химия природн. соедин.- 1990.- С.245-248.

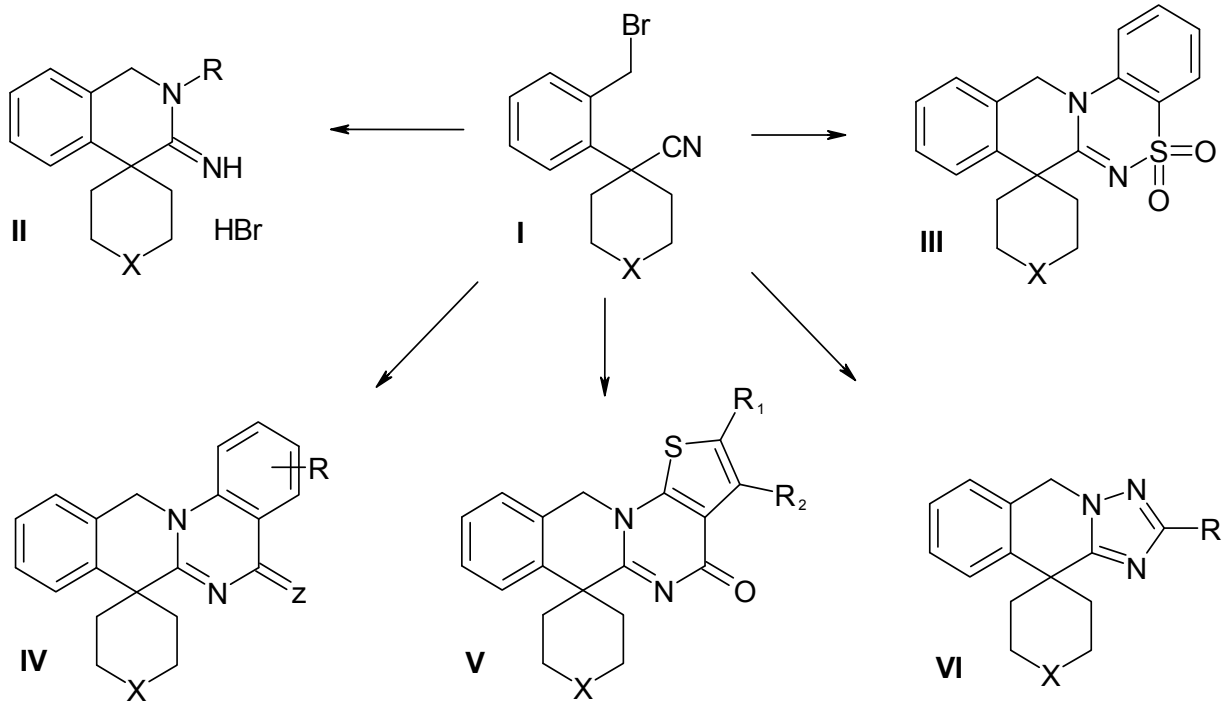
СИНТЕЗ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СПИРАНОВ, СОДЕРЖАЩИХ ЯДРО ИЗОХИНОЛИНА

Костырко Е.О., Ковтуненко В.О., Кисель В.М.

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко,
e-mail: kvm@sbet.com; kostyrko@mail.univ.kiev.ua

Гетероциклические спираны, содержащие в своей структуре ядро изохинолина, известны своим широким спектром биологической активности. Среди них найдены соединения, действующие на ЦНС, а также активные против HIV инфекций и некоторых форм СПИДа. Вместе с тем, недостаточность числа методов их синтеза делает этот класс спиранов труднодоступными для широких биологических исследований.

Предложен новый удобный подход к синтезу 4-спироизохинолинов, основанный на взаимодействии α,α-циклоалкилированных о-бромметилфенилацетонитрилов (I X=O, связь) с первичными аминами, позволяющий получать спиро[изохинолин-4,4'-тетрагидропиран]-3-имины II (X=O) и спиро[изохинолин-4,1'-циклопентан]-3-имины II (X=связь) с варьируемым в широких пределах заместителем R в положении 2 изохинолинового цикла.



Перспективность этого подхода заключается в открывающейся возможности синтеза конденсированных систем, содержащих 4-спироизохинолиновый цикл, при использовании бифункциональных аминов и производных гидразина. Полученные в результате полиядерные изохинолинсодержащие спираны III-VI являются производными новых гетероциклических систем, включающих в свою структуру, кроме изохинолинового, такие фармакологически интересные гетероциклы, как хиназолин, тиено[2,3-d]пиримидин, [1,2,4]-бензотиадиазин, [1,2,4]триазол.

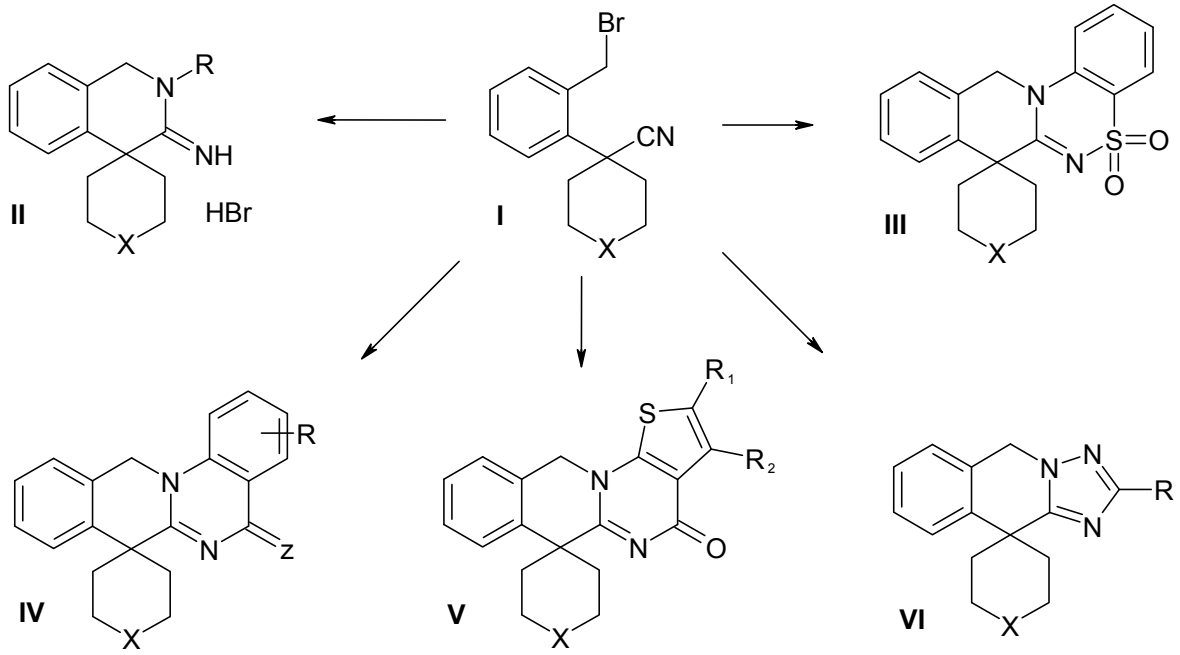
SYNTHESIS OF POTENTIALS BIOLOGICAL ACTIVATE SPIRANES CONTAINING ISOQUINOLINE MOIETY

Kostyrko E.O., Kovtunenko V.A., Kysil V.M.,

Nathional Taras Shevchenko University of Kiev, 01033, Kiev, Volodymyrska 64.
e-mail: e-mail: kvm@sbet.com; kostyrko@mail.univ.kiev.ua

Heterocyclic spiranes, containing isoquinoline moiety are known to posses different kinds of biological activity. Among them are compounds, having CNS activity, also active against HIV infections and some kinds of AIDS. However, the lack of methods of their synthesis makes them problematic for intensive screening.

A new facile route to 4-spiroisoquinolines based on the interaction of α,α-cycloalkilated o-bromomethylphenylacetonitriles I (X=O, bond) with primary amines is reported. This method allows to obtain spiro[isoquinolin-4,4'-tetrahydropyran]-3-imines II (X=O) and spiro[isoquinolin -4,1'-cyclopentan]-3-imines II (X=bond), varying substituent R in 2nd site of isoquinoline moiety.



This approach gives the opportunity to obtain fused heterocyclic systems, containing 4-spiroisoquinoline moiety, using bifunctional amines and hydrazine derivatives. Novel compounds III-VI are the derivatives of new heterocyclic systems, consisting of various farmacologically interesting heterocycles, such as quinazoline, thieno[2,3-d]pyrimidine, [1,2,4]-benzothiadiazine, [1,2,4]triazole.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ КРАУН-ЭФИРОВ

Кратенко Р.И., Жуков В.И., Мацкивский В.И.

Харьковский государственный медицинский университет
e-mail: vim@nti.insuranc.com.ua

В последние годы внимание исследователей привлекают фармакология и биофизика макроциклических полиэфирных комплексонов. Они представляют собой макроциклические системы с 9 - 60 атомами в цикле, из которых треть составляют атомы эфирного кислорода, разделенные между собой этановыми группами. Наиболее важным свойством макроциклических полиэфиров является их способность образовывать устойчивые комплексы с солями щелочных и других металлов, включая в свою полость катион. Образование комплексов обусловлено ион-дипольным взаимодействием катиона с атомами кислорода. Непосредственной мерой комплексообразующей способности краун-эфиров в растворе являются константы устойчивости комплексов полиэфир-катион. На устойчивость бинарных комплексов влияет целый ряд факторов, причем к одному из важнейших относится соотношение размеров катиона и полости краун-эфира. Наиболее устойчивые комплексы образуются в тех условиях, когда диаметр катиона, лишенного сольватной оболочки, соответствует размеру полости краун-эфира. Важную роль в устойчивости комплексов играют физико-химические свойства растворителя. При переходе к неводным растворителям устойчивость комплексов существенно повышается. Краун-эфиры способны экстрагировать металл в органический растворитель, причем избирательность реакции по сравнению с реакцией в водном растворе существенно повышается. Это свойство широко используется для извлечения и разделения металлов. Экстракция комплексов с краун-эфирами в органическую фазу интересна с точки зрения возможности разработки экстракционно-фотометрических методик анализа фармакопейных препаратов и сложных лекарственных форм, содержащих катионы щелочных металлов. Макроциклические соединения можно рассматривать как ионофоры - соединения, способные переносить через жидкостные и липидные мембраны ионы металлов. На этом свойстве основано разделение ионов с помощью жидкостных мембран, моделирование мембранного переноса с использованием макроциклических металлокомплексов в биохимии и биофизике. Из-за высокой окислительно-восстановительной способности многие макроциклические комплексы находят применение при изучении ионов металлов в необычных степенях окисления. Такие комплексы используются в прикладных целях в качестве окислителей и восстановителей или катализаторов ряда редокс-процессов, включая фотохимические реакции. Наличие хиральных атомов в некоторых макроциклических лигандах позволяет использовать эти соединения для разделения рацемических хиральных аммонийных солей. При этом применяется метод жидкостной хроматографии и иммобилизация оптически активных краун-эфиров на различных носителях. Макроциклические комплексы, содержащие большое число сопряженных связей и имеющие плоскостное строение, могут образовывать вещества, способные проводить электрический ток в одном направлении, которые могут быть перспективными для создания нового поколения электронной техники. Некоторые макроциклические соединения имеют высокий положительный заряд и поэтому могут продуцировать устойчивые комплексы с многозарядными анионами типа аденозинтрифосфата, полифосфата. Краун-эфиры могут избирательно связывать токсические металлы, что находит применение в области охраны окружающей среды. В наших экспериментах по изучению механизма биологического действия краун-эфиров (12-краун-4, 15-краун-5, 18-краун-6) установлено, что в основе их биологической активности лежат комплексообразующие свойства. Эти вещества в 1/1000 $ДЛ_{50}$ нарушают биоэнергетику, истощают антиоксидантную систему, стимулируют ПОЛ, изменяют внутриклеточный метаболизм, за счет инактивирования металлозависимых ферментов. В органах и тканях наблюдалось перераспределение микроэлементов ионов металлов, в большинстве случаев отмечалось увеличение их в сыворотке крови, снижение во внутренних органах. Все вышеизложенное свидетельствует о достаточной биологической активности соединений данной группы и обуславливает их дальнейшее изучение.

CROWN-ETHER APPLICATION PERSPECTIVES

Kratenko R.I., Zhukov V.I., Matskivsky V.I.

Kharkov's state medical university
"Research and Technological Institute of Transcription, Translation and Replication",
e-mail: vim@nti.insuranc.com.ua

Within recent years the attention of many investigating companies is attracted by macrocyclic polyether complex pharmacology and biophysics. The compounds are represented by 9-60 atom macrocyclic structures in which ether oxygens take one third of the total atom number and are separated by 1-3 carbon chains. They are also referred to as crown-ethers because of their molecule shape. Crown-ether ability to form stable complexes with alkaline and other metal salts involving the cation into their structural cavity is known to be their most important property. The complex formation is caused by ion-dipole cation interactions with oxygen atoms. Polyether-cation conplex stability constants are considered to be the direct measure of the compound complexforming capacity. The complex stability is influenced by a number of factors although the correlation between cation size and crown-ether cavity is regarded to be of the utmost importance. The most stable complexes are formed when the diameter of hydrate sheath deprived cation is correspondent to the crown-ether cavity size. On the other side the particular physico-chemical properties of the solvent may significantly influence the complex stability. The latter perceptibly increases in inaqueous solvents. Crown-ethers are capable of extracting metals in organic solvent, and, notably, the reaction selectivity is pronouncedly elevated in organic solutions compared to the aqueous ones. This property is widely used for metal extraction and separation. The metal-crown-ether complex extraction might be perspective in analysis method elaboration for pharmacokinetics and pharmacodinamics investigation of complex medicinal forms containing alkaline metal cations. Macrocyclic compounds may even play the role of cation metal transporters across lipid membranes and which property ion separation by liquid membranes and membrane transport modeling using metal-macrocyclic complexes can be based on. Many kinds of macrocyclyc complexes find their usage in ion metal investigation at unusual oxidation degrees because of their high oxido-reductive abilities. Such complexes are used in application purposes as oxidizers and reducers of some redox-processes including photochemical reactions. The occurence of chiral atoms in certain macrocyclic ligands allows to use these compounds for the separation of racemic chiral ammonium salts. This is provided by the appliance of liquid chromatography method and optically active crown-ether immobilisation on different carriers. Macrocyclic complexes containing a high number of conjugated bonds and having a planed structure can form compounds capable of conducting one-directional electric current which might be perspective in a new generation electronic equipment origination. Certain macrocyclic ethers may selectively bind toxic heavy metals and this finds its application in the inviroment protection field. Our own experiments concerned with crown-ether (12-crown-4, 15-crown-5, 18-crown-8) biological effect mechanism investigation suggest their biological activity to be based on complexforming properties. These substances used in 1/1000 LD_{50} disturb cell bioenergetics, exhaust cellular antioxidant system, stimulate lipid peroxidation and alter intracellular metabolism inactivating metal-dependent enzymes. Particularly in different organs and tissues the ion-metal contents were shown to be redistributed: in the majority of cases their blood serum concentrations were observed to increase whilst their internal organ contents had the powerful tendency to decrease. All the above mentioned signifies the pronounced biological activity of the given group compounds and creates their further-following investigation perspective.

RGDF-МИМЕТИКИ НА ОСНОВЕ 4-ОКСО-4-(ПИПЕРАЗИН-1-ИЛ)БУТАНОВОЙ КИСЛОТЫ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ СРЕДСТВА ДЛЯ СЕРДЕЧНО СОСУДИСТОЙ ТЕРАПИИ

А.А. Крысько, Т.Л. Карасёва, В.М. Кабанов, Т.А. Кабанова, Д.И. Яцюк, А.В. Голтуренко, С.А. Андронати

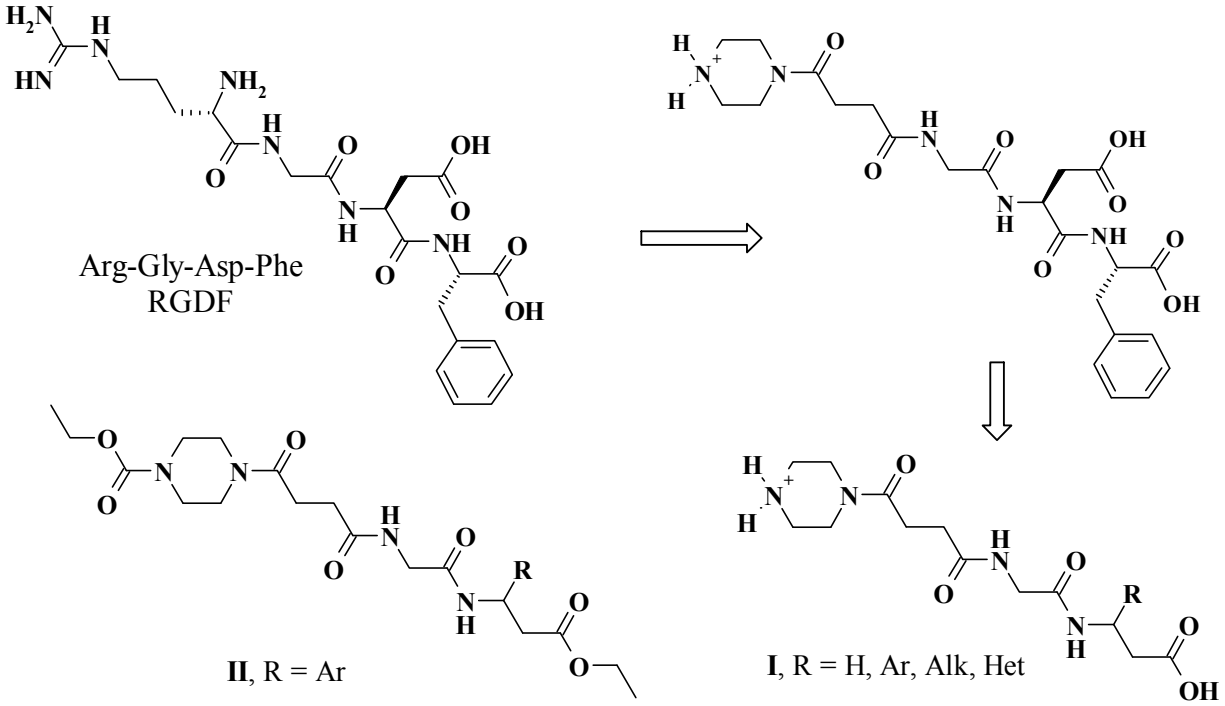
Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины
e-mail: peptides@paco.net

Конечным этапом агрегации тромбоцитов является связывание фибриногена с активированным гликопротеиновым комплексом GP IIb/IIIa на поверхности активированных тромбоцитов. В настоящее время особое внимание уделяется роли селективных антагонистов фибриногенового рецептора GP IIb/IIIa в предотвращении тромбозов и вызванных ими осложнений. RGD (Arg-Gly-Asp)

последовательность, являющейся фрагментом молекулы фибриногена, ответственна за его связывание с рецептором. Соответственно, RGD-пептиды, способные связываться с GP IIb/IIIa, выступают как антагонисты фибриногена, предотвращая его связывание с рецептором и, таким образом, ингибируя агрегацию тромбоцитов. К настоящему времени уже обнаружено большое число антагонистов GP IIb/IIIa, включая непептидные ингибиторы. Большинство этих соединений имитируют узнающую RGD-последовательность.

Нами синтезирован ряд RGDF-миметиков (I) на основе 4-оксо-4-(пиперазин-1-ил)бутановой кислоты (Arg-миметик) и β-арил-β-аланинов (Asp-Phe-миметик). Соединения этого ряда обладают выраженными антиагрегационными свойствами в опытах in vitro и высоким аффинитетом к фибриногеновым рецепторам.

Однако для лечения и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний требуются также вещества, применяемые перорально. Одним из направлений создания веществ, обладающих антиагрегационной активностью при пероральном введении является получение “пролекарств” на основе селективных антагонистов фибриногеновых рецепторов. Подход к получению “пролекарств” основан на “маскировании” нежелательных физико-химических характеристик функциональных групп молекулы. Синтезированные нами “пролекарства” (II) проявляют антиагрегационную активность при его пероральном введении.



RGD-MIMETICS BASED ON 4-OXO-4-(PIPERAZINE-1-YL)BUTYRIC ACID – POTENTIAL AGENTS FOR CARDIO-VASCULAR THERAPY

A.A. Krysko, T.L. Karaseva, V.M. Kabanov, T.A. Kabanova, D.I. Yatsyuk, A.V. Golturenko, S.A. Andronati
A.V. Bogatsky

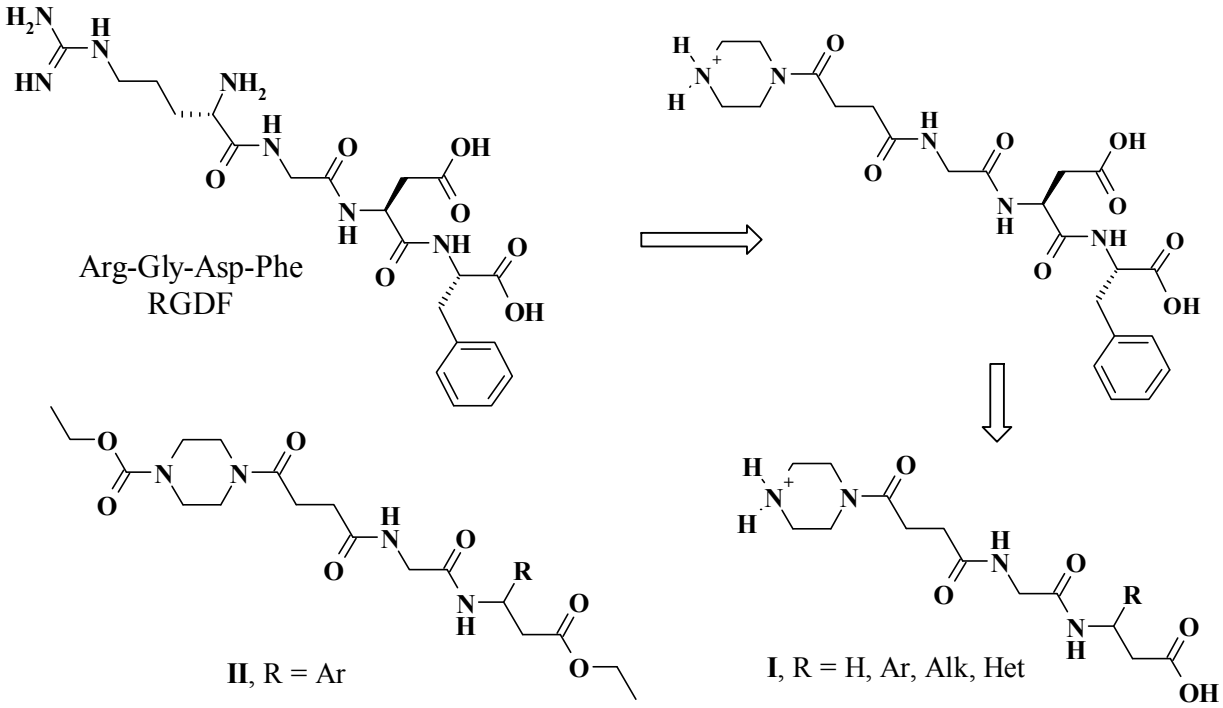
Physico-Chemical Institute of the National Academy of Sciences of Ukraine.
E-mail: peptides@paco.net

Binding of fibrinogen to activated glycoprotein IIb/IIIa (GP IIb/IIIa) on the surface of activated platelets is the final step in the platelet aggregation cascade. Now a special attention is paid to the role of selective fibrinogen receptor antagonists in prevention of thromboses and consequent complications. RGD (Arg-Gly-Asp) sequence, a fragment of fibrinogen molecule, is responsible for binding of fibrinogen to its receptor GP IIb/IIIa. Consequently, RGD-analogs which can bind to GP IIb/IIIa receptors could work as fibrinogen antagonists in inhibiting the binding of fibrinogen to platelets and, therefore, inhibiting platelet aggregation. Numerous GP

IIb/IIIa antagonists including non-peptides analogs are discovered to date. Most of them mimic recognizing RGD-moiety.

We have synthesized the series of RGD-mimetics (I) based on 4-oxo-4-(piperazin-1-yl) butyric acid (as Arg-mimetic) and β-aryl-β-alanines (as Asp-Phe-mimetics). Compounds of this series display distinct in vitro antiaggregative activity and high affinity for fibrinogen receptors.

However, the clinic also needs orally administrating agents for prophylaxy and treatment of cardio-vascular diseases. One approach that has been used to create the substances with antiaggregatory activity under oral administration is that of preparing prodrugs on the basis of selective fibrinogen receptor antagonists. This approach is based on "masking" of unfavourable physico-chemical properties of polar functional groups in RGD-analogs. Prodrugs (II) we have synthesized display ex vivo antiaggregatory activity under oral administration.

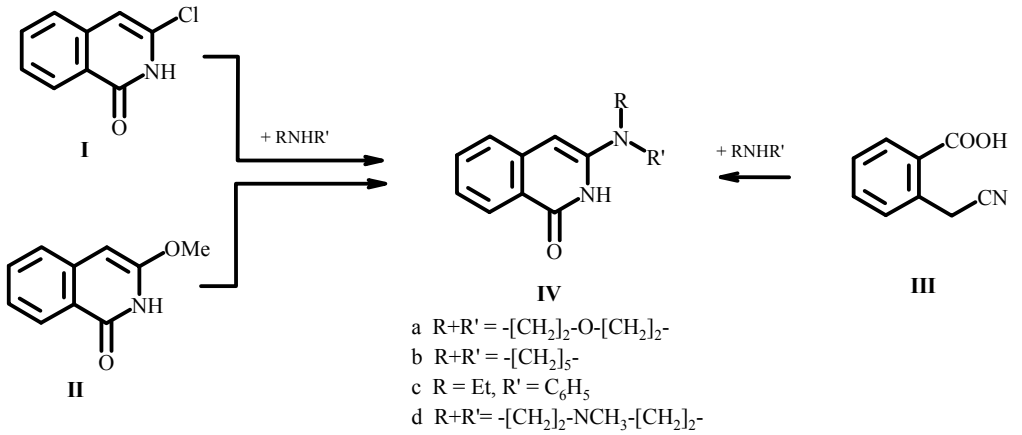


КОНДЕНСАЦИЯ 2-ЦИАНМЕТИЛБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ С ВТОРИЧНЫМИ АМИНАМИ КАК МЕТОД СИНТЕЗА 3-АМИНОПРОИЗВОДНЫХ 1,2-ДИГИДРО-1-ИЗОХИНОЛИНОНОВ

Т.Т. Кучеренко, В.М. Кисель, В.А. Ковтуненко

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко.
E-mail: vkovtunenko@hotmail.com

Соединения IVa,b известны давно [1-3] и, как показано в патенте [2] , обладают анальгетической и гипогликемической активностями. С умеренными выходами их можно получить либо нуклеофильной заменой атома хлора [1] в 3-хлоризокарбостириле (I) вторичным амином, либо вытеснением аминами метоксигруппы [2,3] в 3-метоксиизокарбостириле (II).



a R+R' = -$[CH_2]_2$-O-$[CH_2]_2$-
b R+R' = -$[CH_2]_5$-
c R = Et, R' = C_6H_5
d R+R'= -$[CH_2]_2$-NCH_3-$[CH_2]_2$-

В настоящей работе нами предлагается удобный способ получения соединений IVa-d, который заключается в конденсации 2-цианометилбензойной кислоты (III) с вторичными аминами.

[1] M.D.Nais, S.R.Mehta, Indian J. Chem.,1967, 5(10), 467-70.
[2] Nakanishi M. Isocarbostyril derivatives. Japan Patent 71 12,454, April 15, 1968.
[3] S.Kimoto, M.Okamoto, K.Nogimori,Yakugaku Zasshi, 1976, 96(2), 154-9.

СИНТЕЗ НОВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ТИОСУЛЬФОНАТОВ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СУБСТАНЦИЙ

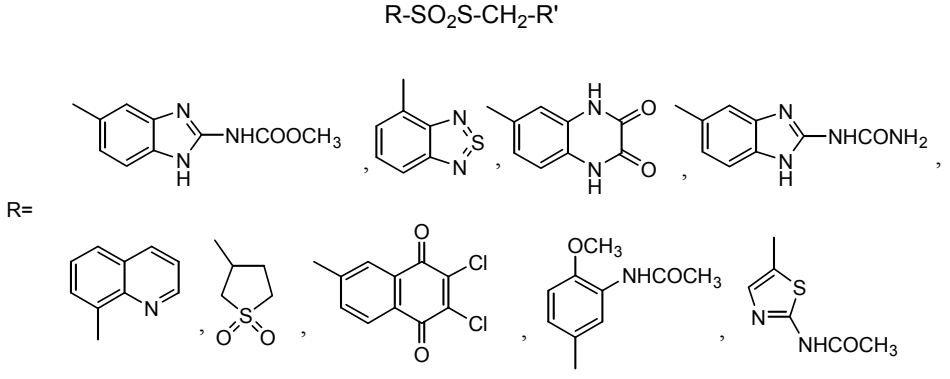
Лубенец В.И., Баранович Д.Б., Стадницка Н.Є., Комаровска-Порохнявец О.З., Паращин Ж.Д., Хомицка Г.М., Гой О.В., Чура М.Б., Новиков В.П.

Национальный университет "Львівська политехника"
e-mail: viralub@polynet.lviv.ua

Тиосульфокислоты встречаются среди природных соединений. Из глубоководной водоросли Echinocardium cordatum выделены две тиосульфокислоты [1]. Постоянный интерес представляют их эфиры, которые являются близкими аналогами аллицина, действующего начала чеснока [2], но более устойчивые и в несколько раз активнее аллицина. Тиосульфонаты отличаются широким спектром антимикробного действия антипростицидной активностью, а некоторые из них противолейкозным и противоопухолевым действием.

Изучение противомикробной активности тиосульфонатов показало, что наиболее высокой активностью обладают алкиловые и алкилзамещенные эфиры алкан-, циклоалкан- и арентиосульфокислот [3].

С целью поиска биологически активных соединений нами синтезированы алкиловые и алкилзамещенные эфиры различных гетероциклических и арилзамещенных тиосульфокислот общей формулы



R'= -H, $-CH_3$, $-C_2H_5$, $-C_3H_7$, $-CH{=}CH_2$, $-CH_2OH$, $-CH_2Cl$, $-CH_2CN$, $-CH_2-CH_2-SO_2-C_6H_4NH_2$

Алкиловые эфиры получены алкилированием соответствующих солей тиосульфокислот различными алкилирующими агентами: диалкилсульфатами, алкилгалогенидами, солями алкилзамещенных серных кислот, эпоксидами в различных растворителях в интервале температур 20-100°С.

Изучена зависимость реакционной способности тиосульфонатов в зависимости от строения их кислотной составляющей, а также спектр их биологического действия.

Полученные тиосульфонаты представляют интерес как противомикробные средства, а некоторые из них обладают противоопухолевой активностью.

SYNTHESIS OF NEW BIOLOGIC ACTIVE THIOSULFONATES AS A POTENTIAL MEDICINAL SUBSTANTS.

Lubenets V.I., Baranovich D.B., Stadnytska N.Ye., Komarovska-Porohnyavets O.Z., Paraschyn Zh.D., Homitska H.M., Goy O.V., Chura M.B., Novikov V.P.

National University "Lvivska Polytechnika"
12. E-mail: viralub@polynet.lviv.ua

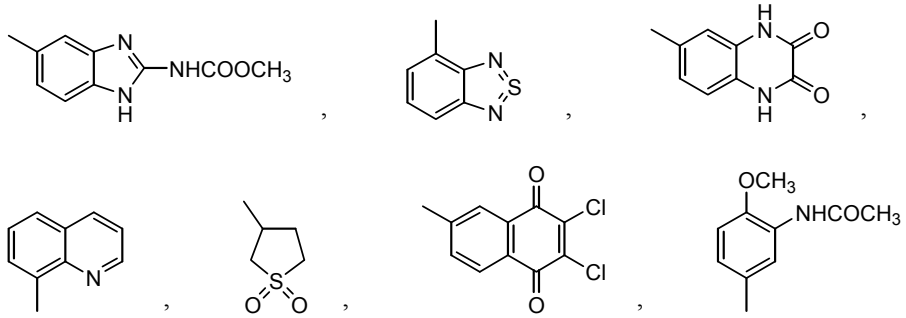
Thiosulfonic acids can be be found in nature. Two thiosulfoacids were educed from deep water-seaweed Echinocardium [1]. Their esters, which are like analogues to allycine, acting element of garlis [2], but more stable and more active then allycine, are in regular interest. Thiosulfonates have a wide spectrum of the antibacterial antiprosticide activities, and some of them antileicose and antitumor activities.

Investigation of the antibacterial activity of thiosulfonates shown that the highest activity have alkyl and alkylsubstituted esters of the alkan-, cycloalkan- and arenethiosulfoacids [3].

With the aim of searching of the biologic active compounds we have synthesized alkyl- and arylsubstituted esters of different heterocyclic and arylsubstituted thiosulfoacids with general formula.

$R\text{-}SO_2S\text{-}CH_2\text{-}R'$

R=



$R' = -H, -CH_3, -C_2H_5, -C_3H_7, -CH{=}CH_2, -CH_2OH, -CH_2Cl, -CH_2CN, -CH_2\text{-}CH_2\text{-}SO_2\text{-}C_6H_4NH_2$

Alkyl esters were obtained by the alkylating of the corresponding salts of thiosulfoacids by different alkylating agents: dialkylsulfates, alkylhalogenides, salts of aklylsubstituted sulfur acids, epoxides in different solvents in the interval of temperature 20-100°C.

Dependence of reactivity of the thiosulfonates from construction of acids components and spectrum of their biologic action was investigated.

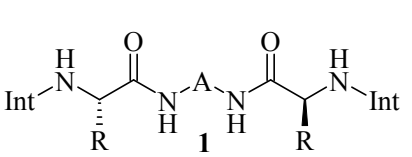
Obtained thiosulfonates have an interest as antibacterial means and some of them have antitumor activity.

ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ЛИГАНДЫ ДНК КАК ЭФФЕКТИВНЫЕ ПРОТИВОВИРУСНЫЕ АГЕНТЫ

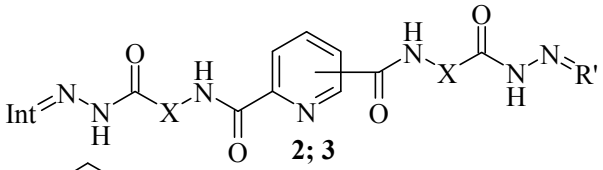
Ляхов С.А[1], Андронати С.А.[1], Ляхова Е.А.[1], Литвинова Л.А.[1], Сувейздис Я.И[1], Панченко Н.Н[2], Лебедюк М.Н[3], Вельчева И.В.[2], Хорохорина Г.А.[3] , Рыбалко С.Л.[4], Дядюн С.Т.[4]

[1]*Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины*
[2] *Одесский Национальный университет им И.И. Мечникова*
[3]*НИЦ "БПППП*
[4]*Киевский НИИ эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В. Громашевского МОЗ Украины*

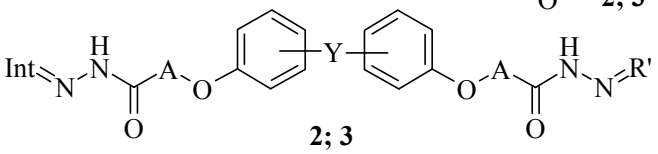
Репликация нуклеиновых кислот играет основную роль в развитии вирусной инфекции. Поэтому ингибиторы ее перспективны как противовирусные агенты. В большинстве случаев эта способность хорошо коррелирует с аффинностью этих агентов к ДНК. Объединение двух функциональных единиц в одной молекуле продемонстрировало эффективность такого подхода при дизайне противоопухолевых препаратов. Бифункциональные лиганды с гибкими линкерами проявили низкую цитотоксичность [1] и, с нашей точки зрения, являются перспективными как противовирусные агенты [2, 3]. Развитие этой идеи привело к синтезу и исследованию биодеградируемых бис- интеркаляторов (1), комбилексинов (2) бисинтерлексинов (3). Некоторые монофункциональные лиганды были также исследованы как модельные соединения.



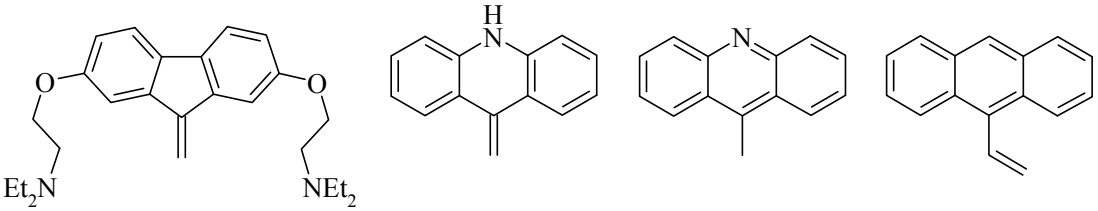
1



2; 3



Int = **2; 3**



A = (CH2)n, n = 1 – 5; R = H; CH3; i-Pr; i-Bu; PhCH2 (1, 2, 3);
X = A; CHR; Y = " ", O, C(CH3)2 (2, 3); R' = H, H (2); Int (3)

Структуры соединений 1 – 3 доказаны спектральными методами. Интеркалирующие свойства показаны в тестах вытеснения этидия бромистого, вискозиметрии, фотометрии. Противовирусная активность показана в экспериментах in ovo и in vitro. Ингибирование репликации охарактеризовано способностью ингибировать ПЦР. Большинство соединений проявляют высокую противовирусную активность, интерфероиндуцирующие свойства и способность ингибировать репликацию нуклеиновых кислот. Более того, полученные результаты позволяют заключить, что наличие у соединения интеркалирующих свойств является основанием для ожидания его интерфероиндуцирующей активности. Синтетические методы и результаты исследований обсуждаются в докладе.

Литература

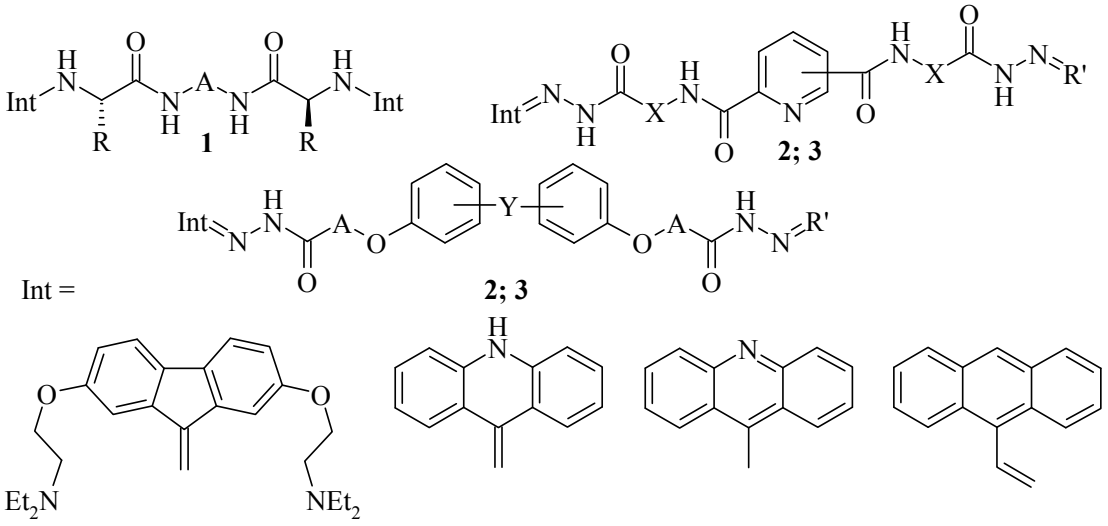
[1] Denny W.A. et all. Potential antitumor agents. 44. Synthesis and antitumor activity of new classes of diacridines: importance of linker chain rigidity for DNA binding kinetics and biological activity. J. Med. Chem. (1985), 28 (11): 1568–1574. [2] Lyakhov S.A. Intercalative Anti viral Drugs: Mode of Action. Abstr. 6th Int. Symp. MAC, Gdansk, Poland, 9-12 Jul., 1997, p. 137. [3] Lyakhov S.A. "Bisinterlexines" - A new perspective class of anti viral agents Abstr. 7th Intat. Symp. MAC, Gdansk, Poland, 8-11 September, 1999, p. 131.

POLYFUNCTIONAL LIGANDS OF DNA AS EFFECTIVE ANTIVIRAL AGENTS

Sergey A. Lyakhov[1], Sergey A. Andronati[1], Helene A. Lyakhova[1], Ludmila A. Litvinova[1], Yan I. Suveyzdis[1], Nikolay N. Panchenko[2], Michail N. Lebedyuk[3], Irina V. Velcheva[2], Galina A. Chorochorina[3], Svetlana L. Rybalko[4], Svetlana T. Dyadyun[4]

[1] A.V. Bogatsky Phis.-chem. Inst. of the National Academy of Sciences of Ukraine.
[2] I.I. Mechnikov Odessa State University
[3] SIC "SRTD
[4]L.V.Gromashevsky Kiev Sci.-Inv. Inst. of the epidem. and infect.

Nucleic acids replication and transcription (including reverse transcription) play the main role in the evolution of the viral infection. That is why inhibitors of these processes are perspective as antivirals. In the most cases this ability well corellate with affinity of such agents to DNA. Two functional units combination in one molecule was shown as a highly affective approach in the anticancer drug design. Bifunctional ligands with flexible linker was shown as agents with low cytotoxicity [1] and seemes us perspective objects for the antiviral drug design [2, 3]. Development of this idea led us to synthesis and investigation of biodegradable bis-intercalators (1), combilexins (2) and bisinterlexins (3). Some monofunctional ligands was also investigated as a model compounds.



A = (CH2)n, n = 1 – 5; R = H; CH3; i-Pr; i-Bu; PhCH2 (1, 2, 3);
X = A; CHR; Y = " ", O, C(CH3)2 (2, 3); R' = H, H (2); Int (3)

Compounds 1 – 3 were synthesised via multistep procedure and their structure confirmed by physico-chemical methods. Their intercalating ability was shown in tests with ethidium competition, viscosimetry and photometry. Antiviral activity was shown in ovo and in vitro. Inhibition of the nucleic acids replication was characterized as ability to the PCR inhibition. Most of the investigated compounds demonstrate high antiviral activity, interferon induction, and ability to the inhition of nucleic acids transcription and replication. Furthermore, obtained results allow to suggest, that intercalation is sufficient ground to suppose interferon inducing properties of compounds.

Synthetic methods and investigation results are discussed.

References

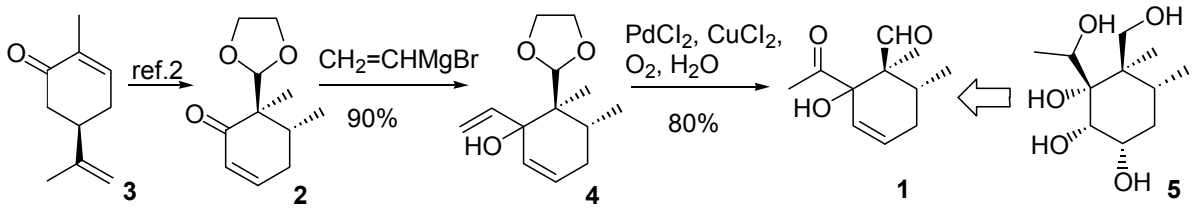
[1] Denny W.A. et all. Potential antitumor agents. 44. Synthesis and antitumor activity of new classes of diacridines: importance of linker chain rigidity for DNA binding kinetics and biological activity. J. Med. Chem. (1985), 28 (11): 1568–1574. [2] Lyakhov S.A. Intercalative Anti viral Drugs: Mode of Action. Abstr. 6th Int. Symp. MAC, Gdansk, Poland, 9-12 Jul., 1997, p. 137. [3] Lyakhov S.A. "Bisinterlexines" - A new perspective class of anti viral agents Abstr. 7th Intat. Symp. MAC, Gdansk, Poland, 8-11 September, 1999, p. 131.

ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ЦИКЛОГЕКСАНОНЫ ИЗ R-КАРВОНА

*[1]Макаев Ф., [2]Де Гроот А.

[1]*Институт химии Академии наук Республики Молдова,*
[2]*Laboratory of Organic Chemistry, Agriculture University*
*E-mail: flmacaev@mail.md

Известно[1], что окисленные производные циклогексанона проявляют антибиотические, фитотоксические и цитотоксические свойства. Целью данной работы было исследование рациональных



путей получения полифункциональных, оптически активных циклогексанолов 1 на основе описанного нами ранее2 енона 2, исходя из монотерпена (-)-карвона 3.

Нами установлено, что реакция взаимодействия кетона 2 с винилмагнийбромидом проходит регио-, стереоселективно давая енол 4 (выход 90%). Паладиум (II) катализируемая трасформация терминальной C=C двойной связи в метилкетонную группу при использовании системы: $PdCI_2$-$CuCI_2$-O_2-H_2O сопровождается одновременным снятием защитной группы. Полученный продукт 5, представляет собой потенциальное промежуточное соединение в получении циклогексановых полиолов- циклитолов1.

ЛИТЕРАТУРА

Семенов А.А. Очерк химии природных соединений. Новосибирск, Наука, 2000, с. 664.

Jansen B.J., Hendrikx C.C.J., Masalov N., Stork G.A., Meulemans T.M., Macaev F.Z., De Groot A.. Tetrahedron. 2000, 56, 2075-2094.

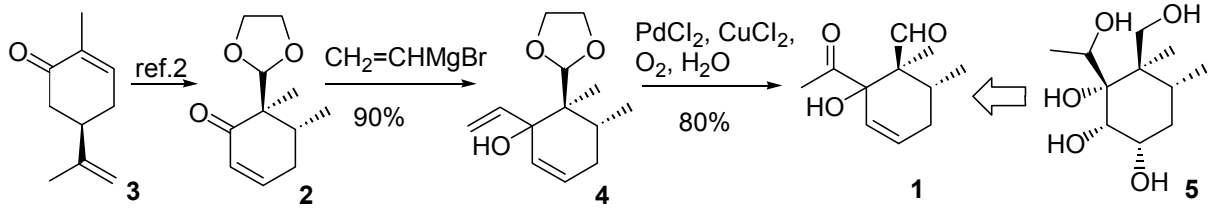
POLYFUNCTIONAL CYCLOHEXANOLS FROM R-CARVONE

*[1]Macaev F., [2]De Groot A.

[1]*Institute of Chemistry, Moldavian Academy of Science2Laboratory of Organic Chemistry, Agriculture University, [2]Dreijenplein 8, 6703 HB Wageningen*
* e-mail: flmacaev@mail.md

It is known1 that oxidized derivatives of cyclohexanol show anytibiotic, fitotoxic, and citotoxic properties.

The object of this research was development of a rational ways of preparation of polyfunctional optical active cyclohexanol 1 based on enone 2, which was prepared from monoterpene (-)-carvone 32.



We established that reaction of ketone 2 with vinylmagnesium bromide proceeds regio- and stereoselectively to produce enol 4 (yield 90%). Palladium (II) catalyzed transformation of terminal C=C double bond to methylketone group by using $PdCI_2$-$CuCI_2$-O_2-H_2O system is accompanied by leaving of protection group. The obtained product 5 is a potential intermediate for the synthesis of cyclohexane polyols – cyclotols[1].

References

Semenov A.A., Essay of Chemistry of Natural Products, Novosibirsk, Nauka, 2000, p. 664.

Jansen B.J., Hendrikx C.C.J., Masalov N., Stork G.A., Meulemans T.M., Macaev F.Z., De Groot A. Tetrahedron. 2000, 56, 2075-2094.

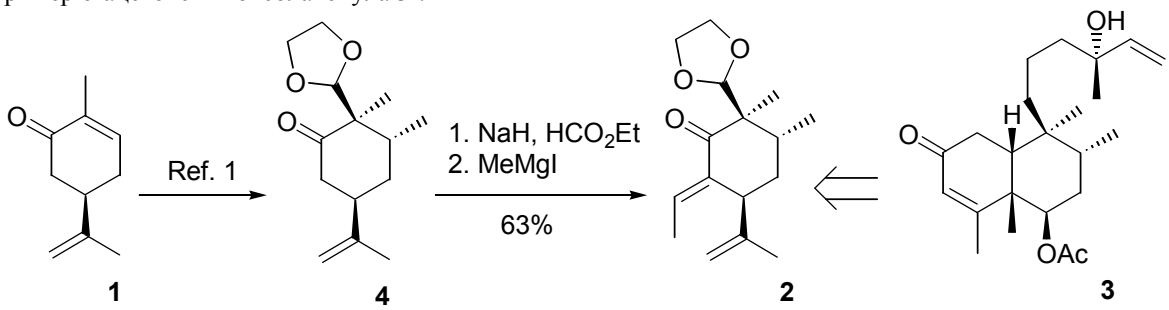
СИНТЕЗ (2R,3R,5S)-2-(1,3-ДИОКСАЛАН-2-ИЛ)-6-(E)-ЭТИЛИДЕН-5-ИЗОПРОПЕНИЛ-2,3-ДИМЕТИЛЦИКЛОГЕКСАН-1-ОНА ИЗ (-)-R-КАРВОНА

*[1]Макаев Ф., [2]Де Гроот А.

[1]*Институт химии Академии наук Республики Молдова,*
[2]*Laboratory of Organic Chemistry, Agriculture University,*
*e-mail: flmacaev@mail.md

Ранее нами было исследовано сопряженное присоединение нуклеофильных реагентов к (-)-R-карвону 1 и последующие анелирование продуктов реакции с целью приготовления функционализированных хиральных декалонов1.

Предметом данного сообщения являются результаты синтезы (2R,3R,5S)-2-(1,3-диоксалан-2-ил)-6-(E)-этилиден-5-изопропенил-2,3-диметилциклогексан-1-она 2, представляющего собой потенциальное, промежуточное соединение в энантиоселективном приготовлении ряда антифидантов – клероданов, например 6-ацетокси-2-оксолавенула 3[2].



Реакция формилирования кетона 4 и его последующее взаимодействие с метилмагний йодидом проходит регио- и стереоселективно давая единственный продукт 2.

Литература

Jansen B.J., Hendrikx C.C.J., Masalov N., Stork G.A., Meulemans T.M., Macaev F.Z., De Groot A.. Tetrahedron 2000, 56, 2075-2094.

Liu H.J., Shia K.S. Tetrahedron 1998, 54, 13449-13458.

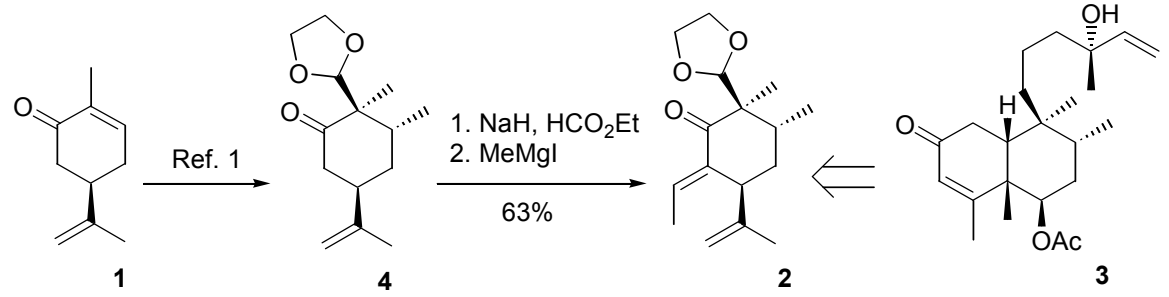
SYNTHESIS OF THE (2R,3R,5S)-2-(1,3-DIOXOLAN-2-YL)-6-(E)-ETHYLIDENE-5-ISOPROPENYL-2,3-DIMETHYLCYCLOHEXAN-1-ONE FROM (-)-R-CARVONE

*[1]Macaev F., [2]De Groot A.

[1]*Institute of Chemistry, Moldavian Academy of Science*
[2]*Laboratory of Organic Chemistry, Agriculture University*
*E-mail: flmacaev@mail.md

Recently we have investigated the conjugate addition of nucleophiles followed by annulation of (-)-R-carvone 1 to obtain highly functioalized chiral decalines1.

This communication deals with the synthesis of the (2R,3R,5S)-2-(1,3-dioxolan-2-yl)-6-(E)-ethylidene-5-isopropenyl-2,3-dimethylcyclohexan-1-one 2, which can be used for the enantioselective synthesis of clerodanes, for example, of 6-acetoxy-2-oxokolavenool 3[2].



The formylation of ketone 4 followed by reaction with methyl magnesium iodide precedes regio-, stereo selective and gives only compound 2.

Reaction conditions, chemical, and spectral properties of the compounds synthesized will be discussed.

References

Jansen B.J., Hendrikx C.C.J., Masalov N., Stork G.A., Meulemans T.M., Macaev F.Z., De Groot A.. Tetrahedron 2000, 56, 2075-2094.

Liu H.J., Shia K.S. Tetrahedron 1998, 54, 13449-13458.

СИНТЕЗ ОПТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ НИТРОНОВ ИЗ (+)-4α-АЦЕТИЛ-2-КАРЕНА

[1]* Макаев Ф., [1]Стынгач Е., [1]Кобан А., [1] Погребной С., [2]Галин Ф.З., [2]Касрадзе В.Г., [2]Климкин М.А.

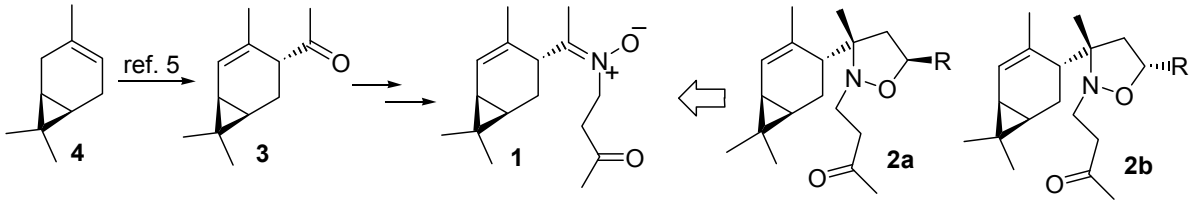
[1]Институт химии АН РМ

[2]Институт органической химии Уфимского научного центра Российской академии наук

* e-mail: flmacaev@mail.md

Реакция 1,3-диполярного циклоприсоединения между олефинами и нитронами является эффективным методом синтеза изоксазолидинов1, являющихся в большинстве случаев физиологически активными субстанциями[2,3]. С другой стороны, само присутствие нитроной группы в качестве структурного фрагмента молекулы может также привести к биоактивности[4].

В синтезе хирального диполя 1 - потенциального промежуточного продукта в синтезе энантиомерно чистых изоксазолидинов 2a-b, мы исходили из доступного (+)-4α-ацетил-2-карена 3[5], продукта



трансформации монотерпена (+)-3-карена [4].

В докладе обсуждаются оптимальные условия для приготовления продукта 1.

Литература

Aggarwal V.K., Grainger R.S. et al. J. Org. Chem., 1998, 63, 3481-3485.

DeCory T.R., Mullen G.B. et al. Eur. J. Med. Chem.,1989, 24, 563-567.

Grünanger P., Vita-Finzi P. Isoxazoles. J.Wiley&Sons: NY, 1991.

Krimer M.Z., Macaev F.Z. et al. Russ. Chem. Bull.,1993, 42, 1995-2000.

Kropp P.J., Hecker D.C., Flant T.J. Tetrahedron., 1968, 24, 1385-1395.

SYNTHESIS OF OPTICALLY ACTIVE NITRONES FROM (+)-4α-ACETYL-2-CARENE

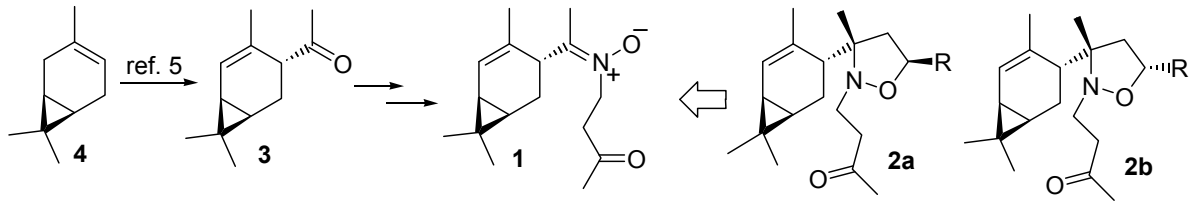
[1]*Macaev F., [1]Stingach E., [1]Coban A., [1]Pogrebnoi S., [2]Galin F., Kasradze V.G., [2]Klimkin M.A.

[1]Institute of Chemistry, Moldavian Academy of Science

[2]Institute of Organic Chemistry, Ufa Research Center of the Russian Academy of Sciences

e-mail: flmacaev@mail.md

Reaction of 1,3-dipolar cycloaddition of olefines and nitrones is an effective method for the preparation of isoxazolidines[1] obtained potential physiologically active substantions[2,3]. On other hand, the presence of nitrone group in the molecule can lead to biological activity, too[4].



The synthesis of a chiral dipole 1, which is a potential intermediate for preparation of enantiomeric pure isoxazolidines 2a-b, was started from available (+)-4α-acetyl-2-carene 3[5]. The last one can be easy prepared from monoperpene (+)-3-carene 4.

The optimal conditions for the preparation of product 1 are discussed.

References

Aggarwal V.K., Grainger R.S. et al. J. Org. Chem., 1998, 63, 3481-3485.

DeCory T.R., Mullen G.B. et al. Eur. J. Med. Chem.,1989, 24, 563-567.

Grünanger P., Vita-Finzi P. Isoxazoles. J.Wiley&Sons: NY, 1991.

Krimer M.Z., Makaev F.Z. et al. Russ. Chem. Bull.,1993, 42, 1995-2000.

Kropp P.J., Hecker D.C., Flant T.J. Tetrahedron., 1968, 24, 1385-1395.

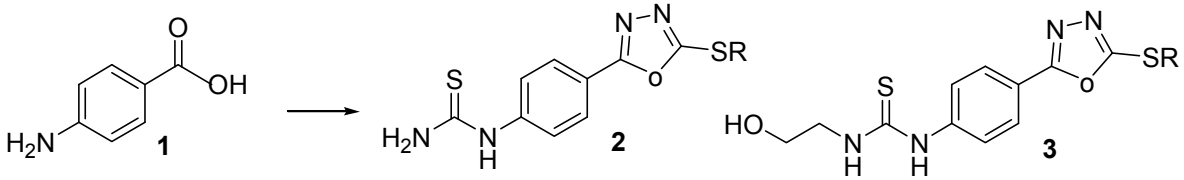
НОВЫЕ 5-АРИЛ(ГЕТЕРИЛ)-2-ТИО-1,3,4-ОКСАДИАЗОЛЫ ИЗ 4-АМИНОБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ - СИНТЕЗ И БИОАКТИВНОСТЬ

[1]* Макаев Ф., [1]Русу Г., [1] Погребной С., 1Шепель Ф., [1]Стынгач Е., [1]Радул О., [1]Гудима А., [1]Кобан А., [1]Штербец И., [2]Роман Р., [3]R.Reynolds

[1]Институт химии АН РМ
[2]Институт зоологии АН РМ
[3]Southern Research Institute
* e-mail: flmacaev@mail.md

Известно, что п-аминобензойная кислота участвует в комплексе биосинтеза витаминов группы В и служит бактериальным фактором роста[1]; её эфиры и амиды являются эффективными местными анастетиками[2]. Известно, что гидразиды ароматических карбоновых кислот проявляют довольно высокую биологическую активность. Однако ввиду высокой токсичности этих соединений, практическое применение нашли не сами гидразиды, а продукты их трансформации – 1,3,4-оксадиазолы, 1,3,4-тиодиазолы, 1,2,4-триазолы и хиназолин-4(3H)-оны[3-6]. Наиболее привлекательными из вышеупомянутых классов гетероциклов с точки зрения разнообразия химических превращений и биологических свойств являются 5-арил(гетерил)-2-тио-1,3,4-оксадиазолы и их производные.

В докладе сообщается о новом направлении в исследованиях по трансформации п-аминобензойной кислоты 1 с целью приготовления новых 5-арил(гетерил)-2-тио-1,3,4-оксадиазолов 2 и 3 представляющих интерес в качестве новых противотуберкулезных и фунгицидных препаратов, отличающихся от известных механизмом действия. Обсуждаются некоторые итоги биологической оценки полученных продуктов.



где R= аллил; 4-пиридилметил; фенацил; 1-(4-фторфенил)-1-этанон; 1-(2,4- дихлорфенил)-1-этанон; 2-пиримидил; бензил

Литература

Barton D., Ollis W.D. Comprehensive Organic Chemistry. Pergamon Press, 4 (1979).

Машковский М.Д. Лекарственные средства. Харьков. Торгсинг, 1998, 501 с.

Weissberger A. Five and Six-Membered Compounds with Nitrogen and Oxigen in Chemistry of Heterocyclic Compounds. Interscience, New York (1962).

Kurtzer F. Adv.Heterocyclic Chem.5, 119 (1965).

Sandstrom J. Adv.Heterocyclic Chem.2, 165 (1968)

Elderfield R.C. Heterocyclic Compounds. Wiley, New York. 7, 541(1961).

NEW 5-ARYL(HETERYL)-2-THIO-1,3,4-OXADIAZOLES FROM 4-AMINOBENZOIC ACID. SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY

[1]∗Macaev F., [1]Rusu G., [1]Pogrebnoi S., [1]Shepeli F., [1]Stingach E., [1]Radul O., [1]Gudima A., [1]Koban A., [1]Shterbec I., [2]Roman R., [3]R.Reynolds

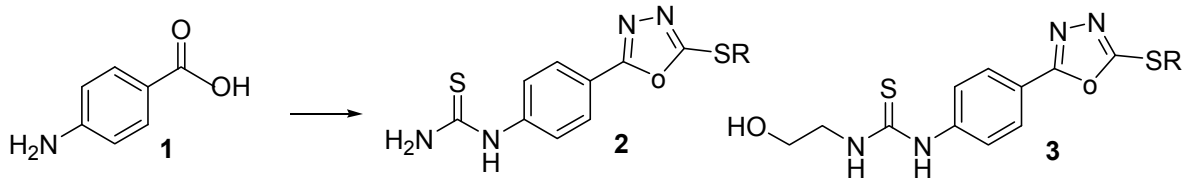
[1]Institute of Chemistry, Moldavian Academy of Science
[2]Institute of Zoology, Moldavian Academy of Science
[3]Southern Research Institute
* e-mail: flmacaev@mail.md

It is known that p-aminobenzoic acid participates in biosynthesis of Vitamins B and serves as a bacterial factor of growing[1]; esters and amides of p-aminobenzoic acid are an effective anastetics[2]. It is known too that hydrazides of aromatic carbonic acids possess a high biological activity. But due to high toxicity of hydrazides, their products of transformation – 1,3,4-oxadiazoles, 1,3,4-thiodiazoles, and quinazoline-4(3H)-ones are practically useful.

5-Aryl(heteryl)-2-thio-1,3,4-oxadiazoles and their derivatives present the most interest from the above classes of heterocycles due to wide spectra of chemical transformations and biological activities.

A new direction of researches on transformation p-aminobenzoic acid 1 for preparation new 5-aryl(heteryl)-2-thio-1,3,4-oxadiazoles 2 and 3 are discussed. Compounds 2 and 3 are new potential antituberculosis and fungicide preparations with a new mechanism of action.

Some results on investigation of biological activity of prepared compounds are discussed.



R= allyl; 4-pyridylmethyl; phenacyl; 1-(4-fluorophenyl)-1-ethanone; 1-(2,4- dichlorophenyl)-1-ethanone; 2-pyrimidyl; benzyl

References

Barton D., Ollis W.D. Comprehensive Organic Chemistry. Pergamon Press, 4 (1979).

Mashkovskii M.D., Drug forms. Kharikov. Torgsing, 1998, p. 501.

Weissberger A. Five and Six-Membered Compounds with Nitrogen and Oxigen in Chemistry of Heterocyclic Compounds. Interscience, New York (1962).

Kurtzer F. Adv.Heterocyclic Chem.5, 119 (1965).

Sandstrom J. Adv.Heterocyclic Chem.2, 165 (1968)

Elderfield R.C. Heterocyclic Compounds. Wiley, New York. 7, 541(1961).

СИНТЕЗЫ НА ОСНОВЕ СКЛАРЕОЛА АЗОТСОДЕРЖАЩИЕ ПРОИЗВОДНЫЕ НОРАМБРЕНОЛИДА

∗ Макаев Ф., Бец Л., Шепель Ф, Арыку А., Погребной С., Карунту А.

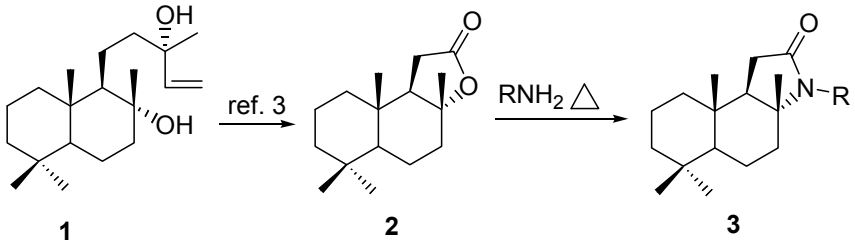
Институт химии АН РМ
* e-mail: flmacaev@mail.md

Введение аминногруппы в продукты окисления бициклического дитерпена склареола 1 и получение аминопроизводных склареола известно давно[1,2].

Норамбренолид 2 получаемый одну стадию[3] из 1, представляет собой удобное исходное для получения некоторых азотсодержащих производных с вероятной физиологической активностью.

Результаты исследований по синтезу лактамов структуры 3 являются предметом данного сообщения.

Установлено, что продолжительное нагревание лактона 2 в среде вторичных аминов (моноэтаноламин, пропаноламин) проходит гладко, давая целевые продукты [3].



1 2 3

R: CH_2CH_2OH; $CH_2CH_2CH_2OH$

ЛИТЕРАТУРА

Лазуревский Г.В., Попа Д.П. . Ж. Общей химии. 1959, Т.29, с. 332-334.

Лазуревский Г.В., Новохатка Д.А. Ж. Общей химии. 1960, Т. 30, с. 3123-3125.

Влад П.Ф., Колца М.Н. Синтез и применение душистых веществ из лабдановых дитерпеноидов. 1988, Кишинев, Штиинца, с. 185.

SYNTHESES ON SCLAREOL'S BASE
1. NITROGEN CONTAINED DERIVATIVES OF NORAMBRENOLIDE

*Macaev F., Bet L., Shepeli F., Aricu A., Pogrebnoi S., Caruntu A.,

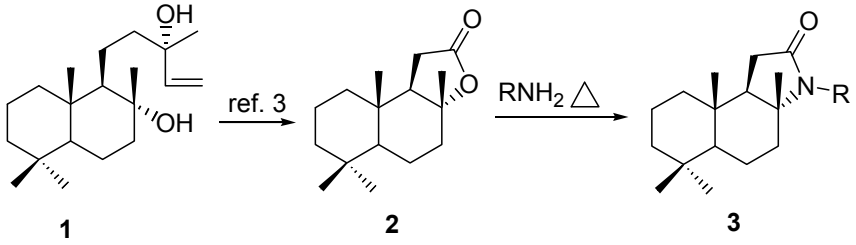
Institute of Chemistry, Moldavian Academy of Science, str. Academiei 3,
MD-2028, Kishinev, Republic of Moldova
e-mail: flmacaev@mail.md

The introduction of amino group into the products of oxidation of bicyclic diterpene sclareol 1 is well known[1,2].

Norambrenolide 2, prepared by one step3 from 1, is a convenient starting material for synthesis of some nitrogen contained derivatives possessed potential biological activity.

This thesis presents results of the search on synthesis of lactames 3.

It is established that long heating of lactone 2 with secondary amines (monoethanolamine, propanolamine) proceeds smoothly to give a target products 3.



1 2 3

R: CH_2CH_2OH; $CH_2CH_2CH_2OH$

References

Lazurievskii G.V., Popa D.P., J.Obschei Khimii. 1959, v.29, pp. 332-334.

Lazurievskii G.V., Novohatka D.A, J.Obschei Khimii. 1960, v. 30, pp. 3123-3125.

Vlad P.F., Koltsa M.N., Synthesis and Application of Fragrant Compounds from Labdane Diterpenoides. 1988, Chisinau, Shtiinca, p. 185.

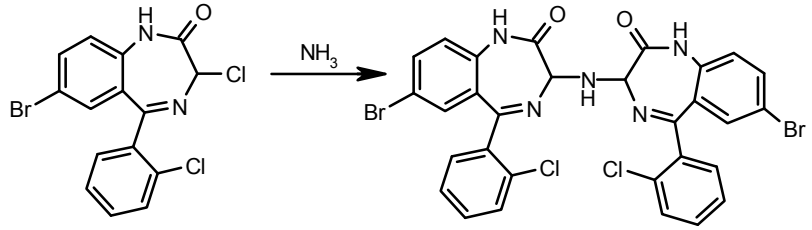
ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С БЕНЗДИАЗЕПИНОВЫМ РЕЦЕПТОРОМ 3,3′-БИС-[7-БРОМ-5-(О-ХЛОР)ФЕНИЛ-1,3-ДИГИДРО-2Н-1,4-БЕНЗДИАЗЕПИН-2-ОН]АМИНА

Макан С.Ю., Костенко С.В., Андронати К.С., Андронати С.А.

Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины

Новые воззрения на подтиповую специфичность действия лигандов бенздиазепиновых рецепторов (БДР) создают предпосылки к разработке селективных нейротропных средств. Показано, например, что гипно-седативные эффекты 1,4-бенздиазепинов опосредуются α_1-субъединицами, а анксиолитическое действие – α_2-субъединицами $ГАМК_A$-рецепторов [1]. Для функциональной дифференциации $ГАМК_A$-рецепторов исследуются участки связывания бенздиазепинов на $ГАМК_A$-рецепторе с использованием точечного мутагенеза и лигандов БДР, различающихся по своей внутренней активности [2].

Нами синтезирован первый представитель нового типа производных 1,4-бенздиазепинов, в структуре которых два остатка молекул дигидробенздиазепинонов связаны с функциональной группой. 3,3′-Бис-[7-бром-5-(о-хлор)фенил-1,3-дигидро-2Н-1,4-бенздиазепин-2-он]амин (II) получен действием на 3-хлорфеназепам (I) амиака. Структура вещества II была доказана спектральными методами и рентгеноструктурным анализом [3].



I II

Методом радиолигандного анализа установлено, что соединение II обладает аффинитетом к БДР центрального типа (IC_{50} = 240 нМ) и по своей функциональной активности является обратным агонистом БДР. В этой связи важно отметить, что 3-окси- и 3-амино-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-оны проявляют свойства агонистов. По способности модулировать ГАМК-эргическую передачу соединение II сопоставимо с известным обратным агонистом БДР этил-β-карболин-3-карбоксилатом (β-ССЕ), величины ГАМК сдвига равны 0,71 и 0,67 соответственно.

Соединение II может быть использовано для изучения бенздиазепинового участка связывания $ГАМК_A$-рецептора.

Литература.

U. Rudolph, F. Crestani, H. Mohler // TiPS,- 2001,- Vol. 22., N.4.- P. 188-194

E. Sigel, M.T. Schaerer, A. Buhr, R. Bauer // Mol. Pharmacol.- 1998.- Vol. 54.- P. 1097-1105

Yu.A. Simonov, K.S. Andronati, S.A. Andronati, M. Gdaniec // VIII International seminar on inclusion compounds. Abstracts, Warsaw (Popovo),- 2001,- T4-04

INTERACTION OF 3,3'-BIS-[7-BROMO-5-(O-CHLORO)PHENYL-1,3-DIHYDRO-2H-1,4-BENZODIAZEPINE-2-ONE]AMINE WITH BENZODIAZEPINE RECEPTOR

Makan S.Yu., Kostenko S.V., Andronati K.S., Andronati S.A.

A.V. Bogatsky Physico-chemical Institute of NAS of Ukraine

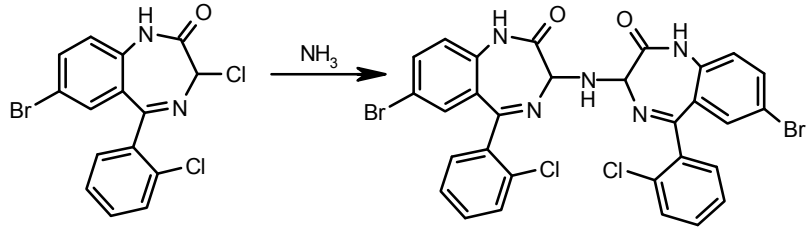
Insights in subtype specificity of action of benzodiazepine receptor (BZR) ligands predispose development of selective neurotropic agents. For example, it has been shown that hypno-sedative effects of 1,4-benzodiazepines are mediated by α_1 subunits, while anxiolytic effects – by α_2 subunits of $GABA_A$ receptors [1]. For functional differentiation of GABAA receptors benzodiazepine binding sites of GABAA receptors are studied by means of site-directed mutagenesis and ligands of BZR, possessing different intrinsic activities [2].

We have synthesized a first representative of a novel type of 1,4-benzodiazepine derivatives, structure of which contains two dihydro-benzodiazepinone residues fused with a functional group. 3,3'-Bis-[7-bromo-5-(o-

chloro)phenyl-1,3-dihydro-2H-1,4-benzodiazepine-2-one]amine (II) was obtained by treatment of 3-chloro-phenazepam (I) with ammonia. Structure of II was proved by spectral methods and X-ray crystallography [3].

Radioligand binding experiments have shown that compound II possesses affinity for central-type BZR (IC_{50} = 240 nM) and behaves as an inverse agonist of BZR. It should be noted that 3-oxy- and 3-amino-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepine-2-ones are agonists. Compound II is comparable on its ability to modulate GABA-ergic transmission with a well-known BZR inverse agonist – ethyl-β-carboline-3-carboxilate (β-CCE); GABA-shift values are 0.71 and 0.67, respectively.

Compound II may be used in studies of benzodiazepine binding site of $GABA_A$ receptor.



I II

Literature.

U. Rudolph, F. Crestani, H. Mohler // TiPS,- 2001,- Vol. 22., N.4.- P. 188-194

E. Sigel, M.T. Schaerer, A. Buhr, R. Bauer // Mol. Pharmacol.- 1998.- Vol. 54.- P. 1097-1105

Yu.A. Simonov, K.S. Andronati, S.A. Andronati, M. Gdaniec // VIII International seminar on inclusion compounds. Abstracts, Warsaw (Popovo),- 2001,- T4-04

НОВЫЕ МОДИФИЦИРОВАННЫЕ КРАХМАЛЫ: СИНТЕЗ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

И.Н. Мищенко, А.П. Галкин, Н.В. Самусь, Н.П. Канивец, А.И. Вовк

Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины

Синтезированы новые модифицированные крахмалы, содержащие ковалентно связанный фосфор или фосфор и кремний. Синтезы включают использование картофельного крахмала, доступных реагентов и являются технологически простыми [1]. Изучено фосфорилирование крахмала в присутствии некоторых биологически активных соединений. Синтезированы модифицированные крахмалы, содержащие ковалентно связанный витамин B_1. Содержание ковалентно связанного витамина B1 в образцах нерастворимых в воде продуктов составляет 0,1-0,2%.

Модифицированный кремний- и фосфорсодержащий крахмал может заменять природный агар-агар. Разработанный заменитель в несколько раз дешевле природного агар-агара. После приготовления клейстера растворы модифицированного крахмала имеют вязкость, в 3-5 раз превышающую вязкость растворов при использовании в качестве исходного продукта обычного картофельного крахмала. Исходная 5-9%-ная смесь модифицированного крахмала с водой после термической обработки дает стойкие гели (стабильны более полугода после двухкратного автоклавирования). Препарат не токсичен, не вызывает хромосомных абберраций, содержит меньше примесей биополимеров, более стерилен.

Получение препаратов модифицированного крахмала для культивирования клеток или растительных тканей включает процедуры: приготовление смеси модифицированного крахмала с водой (8-9% модифицированного крахмала); автоклавирование по технологии, аналогичной технологии приготовления гелей из агар-агара. Модифицированный крахмал выдерживает двухкратное автоклавирование. Показано, что по своим гель-образующим свойствам модифицированный крахмал сходный с агар-агаром.

Получены положительные результаты по использованию модифицированного крахмала как субстанции для культивирования растений, клеток растений и микроорганизмов (клетки E.coli, протопласты табака, картофеля и сахарной свеклы, каллусы этих растений). Показатели скорости образования колоний E.coli, роста клеток растений и самих растений были выше, чем у агар-агара.

Литература:

[1] Пат. 37245 Украины, МКИЗ C08B31/02. Спосіб одержання полімерного матеріалу, який має біологічну активність / Ясников О.О., Марковський А.Л., Узієнко А.Б., Дульнєв П.Г., Галкін А.П., Канівець М.П., Благоєв В.В., Гринченко А.Л., Міщенко І.М., Самусь Н.В.- Заявлено 27.03.1996; Опубл. 15.05.2001. Бюл. № 4.

NEW MODIFIED STARCH: SYNTHESIS AND USAGE

I.N. Mischenko, A.P. Galkin, N.V. Samus, N.P. Kanivets, A.I. Vovk

Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry
of the National Academy of Science of Ukraine

New modified starches containing covalently bound phosphorus or phosphorus and silicon were synthesized. The syntheses include the usage of potato starch, of accessible reagents and are technologically simple [1]. The phosphorylation of starch was studied at the presence of some biologically active compounds. Modified starches containing covalently bound vitamin B1 were synthesized. The contents of covalently bound vitamin B1 in samples of water-insoluble products makes 0,1-0,2 %.

Modified phosphorus and silicon containing starch can be a substitute of natural agar. The elaborated substitute is more than once cheaper than natural agar. After preparation of dextrin glue the solutions of modified starch have the viscosity which is 3-5 times higher than the viscosity of solutions of usual potato starch. After heat treatment starting mixture of modified starch (5-9%) with water forms stable gels (stable for over half a year after double processing in autoclave). This product is not toxic, does not make chromosome aberrations, contains less admixtures of other biopolimers, is more sterile.

Usage of modified starch for cell or plant cultivation includes the following procedures: preparation of mixture of modified starch with water (8-9% of modified starch); processing in autoclave applying technology similar to agar gels preparation technology. Modified starch is stable after double processing in autoclave. It was shown that modified starch according to its gel-formation properties is similar to agar commercial preparations.

Positive results were obtained when using modified starch as a substance for cultivation in vitro of plants, cells of plants and microorganisms (cells of E.coli, protoplasts of tobacco, potato and sugar-beet and calluses of these plants). Rates of forming colonies of E.coli, growth of cells and plants was higher than on agar.

References:

[1] Пат. Украины 37245, МКИЗ С08В31/02. Спосіб одержання полімерного матеріалу, який має біологічну активність / Ясников О.О., Марковський А.Л., Узієнко А.Б., Дульнєв П.Г., Галкін А.П., Канівець М.П., Благоєв В.В., Гринченко А.Л., Міщенко І.М., Самусь Н.В.- Заявлено 27.03.1996; Опубл. 15.05.2001. Бюл. № 4.

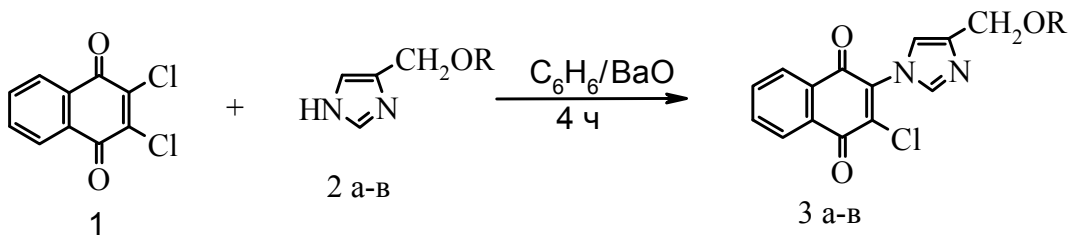
СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-НАФТОХИНОНА

Мусянович Р.Я., Журахивска Л.Р., Ель Едрисси Абдеррахим, Федорова Е.В., Новиков В.В., Плотников М.Ю., Комаровска-Порохнявец Е.З., Болибрух Л.Д., Маринцова Н.Г., Губицка І.І, Новиков В.П.

Национальный Университет "Львивська политехника"

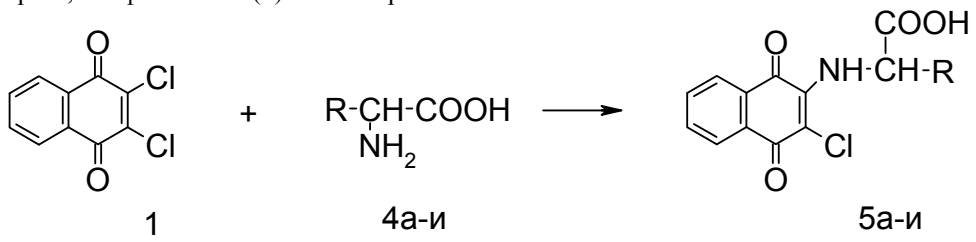
Известно, что большинство производных 1,4-нафтохинона проявляют бактериостатическую, бактерицидную, антивирусную, фунгистатическую и другие виды активности. Препараты на основе нафтохинона оказывают сильное антиоксидантное и цитостатическое действие. Ранее было установлено, что хиноны участвуют в процессах преобразования и сохранения энергии в живых организмах. Биологическую активность этих соединений определяют заместители ароматического ядра и боковой цепи. Целью нашей работы было расширить спектр биологической активности соединений, производных 1,4-нафтохинона.

Среди имидазольных производных обнаружены эффективные терапевтические антигистаминные препараты, и поэтому целенаправленный синтез аналогичных соединений хиноидного ряда перспективен как с практической точки зрения, так и в плане развития химии хинонов. С целью объединения в одной молекуле имидазольного и хиноидного фрагмента нами была разработана схема реакции, основная стадия которой - реакция нуклеофильного замещения одного из атомов хлора в молекуле 2,3-дихлоро-1,4-нафтохинона (1).



де: R= O-Het (а), N-Het (б), S-Het (в)

Исследования в ряду аминокислотных производных 1,4-нафтохинона показали разные виды их биологической активности и перспективность дальнейших исследований в этом направлении. Кроме этого, синтез хелатных комплексов микроэлементов на основе лизина и метионина привел к увеличению биологической активности. Объединение в одной молекуле нафтохинонового фрагментов, на наш взгляд, должно привести как к увеличению биологической активности полученного соединения, так и к пролонгированию его действия. С этой целью были синтезированы новые производные на основе 2,3-дихлоро-1,4-нафтохинона (1) и некоторых L-аминокислот.



Где R= Arg (а), Lis (б), His (в), Pro (г), Leu (д), i-Leu (е), Ala (ж), Phe (з), Tyr (и)

Протекание реакции останавливается на нуклеофильном замещении одного аминокислотные производные интересны как для биологических исследований, так и как синтоны для получения их хелатных форм.

СИНТЕЗ, СВОЙСТВА И АФФИНИТЕТ К МИТОХОНДРИАЛЬНЫМ БЕНЗДИАЗЕПИНОВЫМ РЕЦЕПТОРАМ 1-ЗАМЕЩЕННЫХ-5-АРИЛ-1,2-ДИГИДРО-3Н-1,4-БЕНЗДИАЗЕПИН-2-ОНОВ

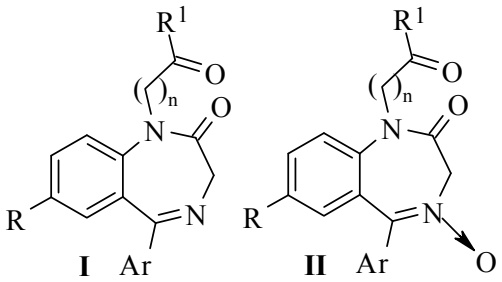
Павловский В.И.[1], Макан С.Ю.[1], Середенин С.Б.[3], Бледнов Ю.А.[3], Корхов В.М.[2], Андронати С.А.[1]

[1]. Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины
Одесский Национальный университет им. И.И. Мечникова
[3]. Научно исследовательский институт фармакологии РАМН
pavlovsky@paco.net

Бензодиазепины занимают ведущее место в фармакотерапии тревожных состояний, бессонницы и панических расстройств. Широкий спектр биологической активности, быстрота наступления фармакологического эффекта, низкая токсичность способствовали их широкому использованию в различных областях медицины: психиатрии, кардиологии, гинекологии, гастроэнтерологии, анестезиологии и др. Биологическими мишенями бензодиазепинов являются центральные (ЦБДР) и переферические или митохондриальные бензодиазепиновые рецепторы (МБДР). Основными, известными на сегодняшний день, функциями МБДР являются: участие в митохондриальном стероидогенезе, регуляция миохондриальнооого дыхания, кальциевых потоков, клеточной пролиферации и адаптационных реакциях на острый и хронический стресс. Наиболее интересной функциональной особенностью МБДР является участие в механизме возникновения тревоги, панических расстройств и депресий.

Ранее при изучении характеристик специфического связывания с ЦБДР и МБДР селективного анксиолитика гидазепама применяемого в клинической практике Украины и России было, показано, что гидазепам проявляет более высокое (в 3 раза) сродство к МБДР, в сравнении с его аффинитетом к ЦБДР.

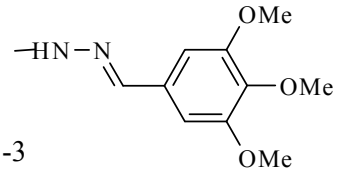
С целью создания новых высокоактивных лигандов МБДР мы синтезировали соединения I-II и исследовали их способность ингибировать связывание радиолиганда Ro5-4864 с МБДР головного мозга крыс.



I Ar **II** Ar

R = Br, Cl, CH_3, NO_2; Ar = C_6H_5, *o*-CI-C_6H_4

R^1 = OH, OCH_3, $NHNH_2$, $NHNHCO(CH_2)_2COOH$,



n = 1-3

Показано, что полиметиленовый линкер, соединяющий бенздиазепиновое ядро с гидразидным фрагментом является важным структурным фрагментом для лиганд-рецепторного взаимодействия. Существенное влияние на аффинитет изученных соединений к МБДР оказывает введение в о-положение фенильного заместителя атома хлора. В ряду исследованных соединений I обнаружены 2 соединения, аффинитет которых в 25-30 раз превышают таковой для гидазепама. Величины IC_{50} этих соединений сопоставимы с аффинитетом коммерческого лиганда МБДР Ro5-4864.

Также было установлено, что соединения I (R = Br Ar = C6H5; R^1 = NHNH2; n = 1) и II (R = Br Ar = C_6H_5, o-Cl-C_6H_4; R_1 = OCH_3, $NHNH_2$; n = 1) являются селективнными анксиолитиками в широком диапазоне доз [1], причем II более селективные анксиолитики чем гидазепам.

1. Середенин С.Б., Бледнов Ю.А., Андронати С.А., Павловский В.И., Яворский А.С. Производные 1,4-бензодиазепина обладающие селективной анксиолитической активностью. Патент России № 2133248

1-SUBSTITUTED-5-ARYL-1,2-DIHYDRO-3H-1,4-BENZODIAZEPIN-2-ONES, SYNTHESIS, PROPERTIES AND AFFINITY FOR MITOCHONDRIAL BENZODIAZEPINE RECEPTORS

Pavlovsky V.I.[1], Makan S.Yu.[1], Seredenin S.B.[3], Blednov Yu.A.[3], Korhov V.M.[2], Andronati S.A.[1]

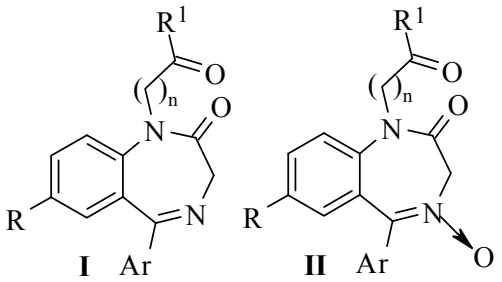
[1]. A.V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of the NASU
[2]. I.I. Mechnikov Odessa National University.
[3]. Scientific-Research Institute of Pharmacology of RAMS,

E-mail: pavlovsky@paco.net

Benzodiazepines occupy the leading place in pharmacological therapy of anxious states, insomnia and panic disorders. The wide range of biological activity, quick developing of pharmacological effect, low toxicity favored their wide use in different fields of medicine: psychiatry, cardiology, genecology, gastroenterology, anaesthesiology, etc. Biological targets of benzodiazepines are central (CBDR) and peripheral or mitochondrial benzodiazepine receptors (MBDR). The main known MBDR functions are: participation in mitochondrial steroidogenesis, regulation of mitochondrial breath, calcium flows, cellular proliferation and adaptation reactions on acute and chronic stress. The most interesting functional peculiarity of MBDR is participation in mechanism of anxiety, panic disorders and depressions.

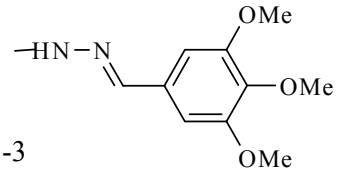
Earlier at the study of characteristics of specific binding to CBDR and MBDR of the selective anxiolytic gidazepam used in clinical practice of Ukraine and Russia it was shown that gidazepam had displayed a higher (3 fold) affinity for MBDR as compared to its affinity for CBDR.

In search for new highly active MBDR ligands we have synthesized compounds I-II and tested their ability to inhibit binding of radioligand Ro5-4864 to MBDR of rats brain.



R = Br, Cl, CH_3, NO_2; Ar = C_6H_5, *o*-Cl-C_6H_4

R^1 = OH, OCH_3, $NHNH_2$, $NHNHCO(CH_2)_2COOH$,



n = 1-3

It has been shown that polymethylene linker connecting benzodiazepine cycle with hydrazide fragment is important structural fragment for ligand-receptor interaction. Introduction of chlorine atom in o-position of phenyl essentially affected on affinity of investigated compounds for MBDR. Two compounds of investigated series had affinity 25-30 fold higher than that for gidazepam.

Values of IC_{50} of these compounds are comparable on affinity of commercial ligand MBDR Ro5-4864.

It has also been established that compounds I (R = Br Ar = C_6H_5; R^1 = $NHNH^2$; n = 1) and II (R = Br Ar = C_6H_5, o-Cl-C_6H_4; R^1 = OCH_3, $NHNH_2$; n = 1) had been selective anxiolytics in wide range of dozes [1], and compound II had been shown to be more selective anxiolytic then gidazepam.

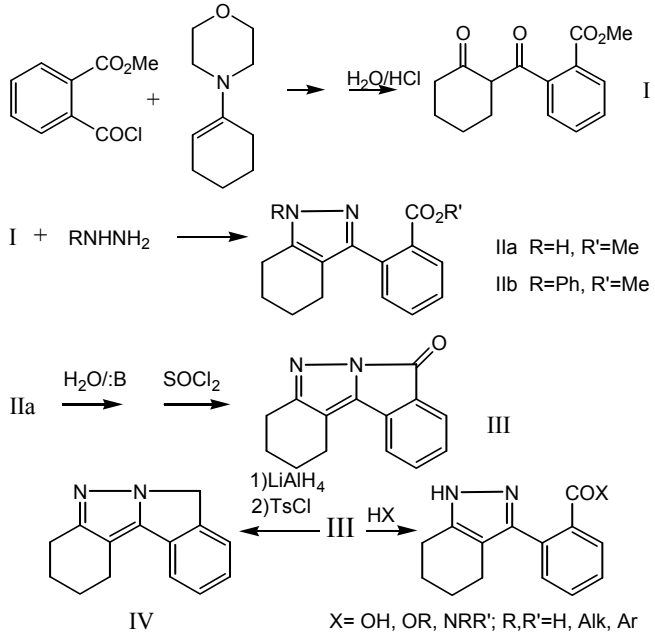
1. 1,4-Benzodiazepine derivatives showing selective anxiolytic activity. Seredenin S.B., Blednov Yu.A., Andronati S.A., Pavlovskii V.I., Yavorskii A.S. Russ. (1999), CODEN: RUXXE7 RU 2133248

НОВЫЕ ПОТЕНЦИАЛЬНО БИОЛОГИЧЕСКИ-АКТИВНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ РЯДА ПИРАЗОЛОИЗОИНДОЛА

А.А.Похоленко, И.С.Кондратов, З.В.Войтенко

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко
e-mail: palek@ukr.net

Известно, что многие производные конденсированных азолоизоиндолов являются биологически-активными веществами. Наиболее яркий пример – лекарственный препарат мазиндол, который представляет собой 2,3-дигидро-5-р-хлорфенилимидазо[2,1-а]изоиндол-5-ол, являясь, таким образом, производным имидазоизоиндола. Другие производные имидазоизоиндолов проявляют рострегулирующее и гербицидное действие. Аналогично, многие известные производные пиразолоизоиндола являются биологически-активными соединениями – как регуляторами роста растений и гербицидами, так и действующими на организмы млекопитающихi.



Исследование взаимодействия 2-карбоксиметилбензоилхлорида с 1-циклогексенилморфолином позволило получить с весьма высоким выходом соединение I. Полученное соединение содержит как 1,3- так и 1,4-дикарбонильный фрагмент.

Исследование взаимодействия I с гидразином и фенилгидразином показывает, что в первую очередь происходит ожидаемая реакция по 1,3-дикарбонильному фрагменту и образуется пиразольное кольцо метилового эфира орто-(4,5,6,7-тетрагидро-2Н-3-индазолил)бензойной кислоты II. Дальнейшие превращения вовлекают оставшуюся карбоксильную группу в циклизацию по пиразольному кольцу с образованием производного пиразолоизоиндолона III - 1,3,4,7-тетрагидро-2Н-изоиндоло[2,1-

b]индазол-7-она.

Полученный пиразолоизоиндолон легко вступает в ожидаемые реакции раскрытия лактамного цикла и образования соответствующих производных кислоты II при действии таких нуклеофилов как вода, спирты, первичные и вторичные амины.

При действии на III алюмогидрида лития в эфире и последующей обработки реакционной смеси тозилхлоридом было получено производное 8H-пиразолоизоиндола IV – 1,3,4,7-тетрагидро-2H-изоиндоло[2,1-b]индазол

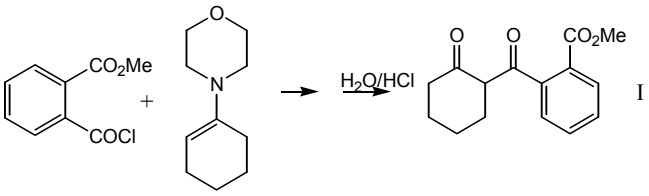
Таким образом, нами были получены новые соединения – структурные аналоги соединений с известной высокой биологической активностью.

NEW POTENTIALLY BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS OF PYRAZOLOISOINDOLE HETEROCYCLIC SYSTEM.

O.A.Pokholenko, I.S.Kondratov, Z.V.Voitenko

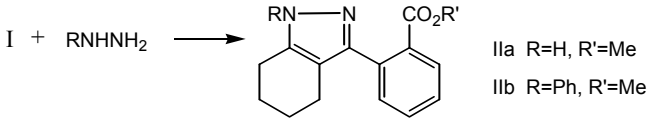
Kiev National Taras Shevchenko University
e-mail: palek@ukr.net

It is well known that many derivatives of annelated azoloisoindoles demonstrate biological activity. The brightest example is 2,3-dihydro-5-p-chlorophenylimidazo[2,1-a]isoindole-2-ol, which is known as mazindole. Other derivatives of imidazoisoindoles show herbicide activity. Similarly, many known pyrazoloisoindoles are biologically active compounds with wide spectrum of applications from herbicides to ones that act in mammalian organismsii.



I

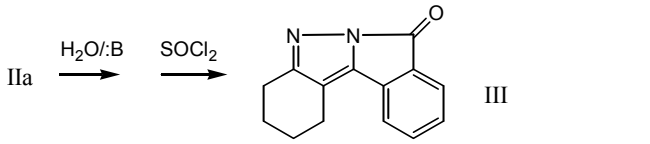
Reaction of o-carboxymethylbenzoyl chloride with 1-cyclohexenylmorpholine lead to compound I with good yield. This compound had both 1,3- and 1,4-dicarbonile fragments.



IIa R=H, R'=Me

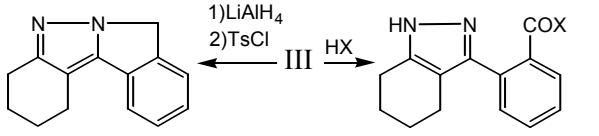
IIb R=Ph, R'=Me

Reaction of I with hydrazine and phenyl hydrazine engaged 1,3-dicarbonile fragment of I and formed the pyrazole ring of methyl ester of o-(4,5,6,7-tetrahydro-2H-3-indazolyl)benzoic acid II, as it might have been expected. Further reactions involved remaining carboxylic function into cyclization at pyrazole ring and formation of pyrazoloisoindolone III – 1,3,4,7-tetrahydro-2H-isoindolo[2,1-b]indazol-7-one.



III

Prepared pyrazoloisoindolone III easily gave expected reactions of lactame ring cleavage and formation of corresponding derivatives of acid II with nucleophiles, such as water, alcohols, primary and secondary amines.



IV

X= OH, OR, NRR'; R,R'=H, Alk, Ar

Reaction of III with LiAlH4 in ether and then treatment of reaction products with TsCl lead to such a derivative of 8H-pyrazoloisoindole as 1,3,4,7-tetrahydro-2H-isoindolo[2,1-b]indazole IV.

So, here we report synthesis of new compounds that are chemical analogs of compounds with reported biological activity.

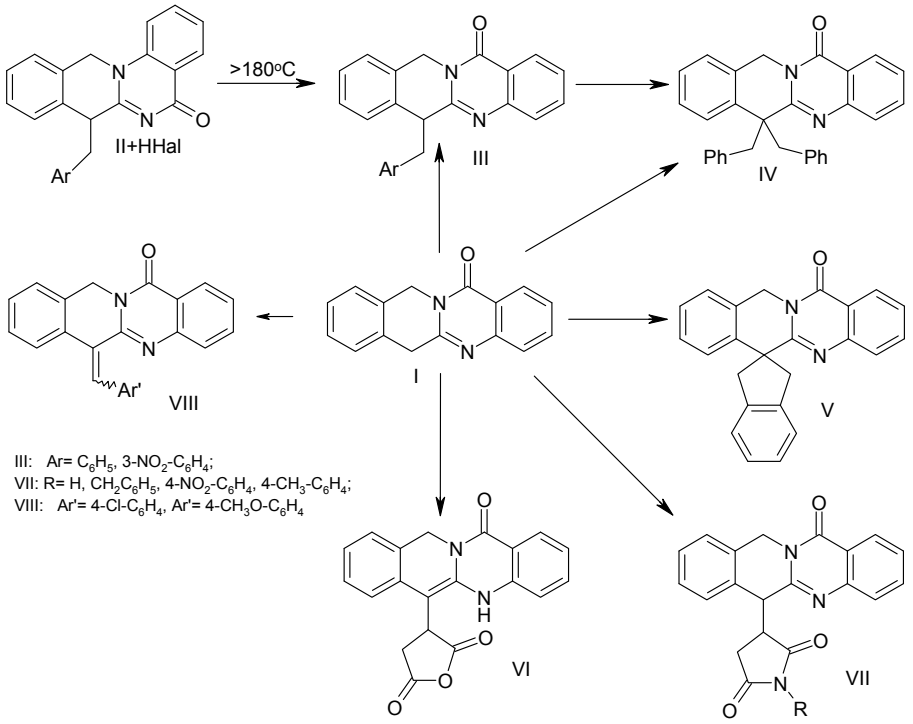
[1] *Ф. С. Бабичев, В. А. Ковтуненко, "Химия изоиндола", Киев, "Наукова думка", 1983, стр. 104-116.*
[1] *F. S. Babichev, V. A. Kovtunenko, "Khimija isoindola", Kiev, "Naukova dumka", 1983, p.p. 104-116.*

АЛКИЛИРОВАНИЕ 6,11-ДИГИДРО-13Н-ИЗОХИНО[3,2-b]ХИНАЗОЛИН-13-ОНА

Потиха Л.М., Кисиль В.М., Ковтуненко В.А., Данилейко Н.В.

Киевський национальный университет имени Тараса Шевченко,
E-mail: vkovtunenko@hotmail.com

Гетероциклическая система изохино[3,2-b]хиназолина (I) объединяет в своей структуре два практически важных гетероцикла - изохинолин и хиназолин, производные которых проявляют широкий спектр биологического действия. Однако методы синтеза и химические свойства производных этой системы на данный момент практически не изучены.



Ранее нами был разработан способ получения производных изохино[3,2-b]хиназолина (II→III). Нами найдено, что соединение I с бензилгалогенидами в присутствии оснований образует продукты моно- (III) или диалкилирования (IV) в зависимости от соотношения реагентов. Реакция з о-ксилилендибромидом приводит к образованию производного новой гетероциклической системы – спиро[изохино[3,2-b]хиназолин-6(13H),2'-индан]-13-она (V). Изохино[3,2-b]хиназолин проявляет высокую реакционную способность в реакциях с электрофильными олефинами: типа малеинового ангидрида и малеинимида (получены соединения VI и VII). Взаимодействие с нитрилом и эфиром цианкоричной кислоты ведет к смеси продуктов, из которых удалось получить соединения типа VIII, также доступные из изохинохиназолина I и соответствующих бензальдегидов.

СИНТЕЗ ТА ПРОТИРАКОВА АКТИВНІСТЬ КОМБІНАТОРНИХ БІБЛІОТЕК 8-АМІНОМЕТИЛЬНИХ ПОХІДНИХ 3-АРИЛОКСИ-7-ГІДРОКСИХРОМОНІВ.

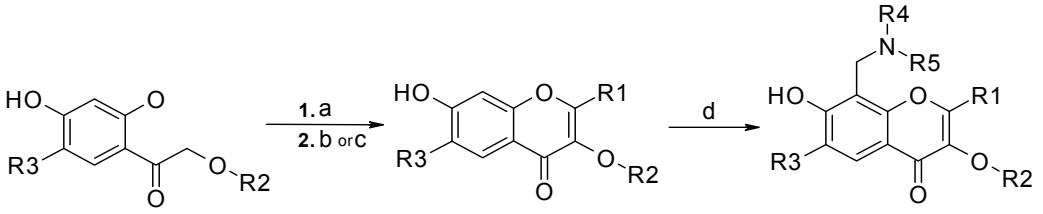
А. О. Приходько, А. Г. Голуб, В. П. Хиля та С. М. Ярмолюк #

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
#Хімічний факультет Київського національного університету імені Тараса Шевченка
e-mail: aupri@svitonline; sergiy@yarmoluk.org.ua; yakovenko_a@ubr.net; andrew_golub@ubr.net

Фосфорилювання гідроксильних груп білків циклін-залежними кіназами (cyclin-dependent kinases, CDK) є одним з базових механізмів, на якому грунтується регулювання клітинного циклу, їхнього

поділу. Внаслідок чого CDK досить привабливі для створення антиракових ліків. Деякі природні флавоноїди є ефективними інгібіторами кіназ, а отже, потенційними протекторами проти канцерогенезу.

Ми розробили зручні методики для створення комбінаторних бібліотек на основі 3-арилокси-7-гідроксихромонів.



R1=H,CF3; R2=Ar; R3=H,Alk; R4,R5=Alk,Піперидин, Морфолін, Піролідін, N-метилпіперазин...

a -$ZnCl_2$, Et_2O, HCl b -ДМФА, Et_2O*BF_3, 70-75 ^{0}C, $POCl_3$

c -Py*, 0^0C, $(CF_3CO)_2O$ d -діоксан, $CH_2(NR_4R_5)_2$, нагрівання

Скринінг синтезованих сполук здійснювався в рамках нашої Угоди про співробітництво з відділом лікування та діагностики раку Національного інституту раку (NCI) Національного інституту здоров'я, США. Біологічне тестування проводилось in vivo на 60 лініях ракових клітин. Чотири сполуки (R4, R5 = алкіл, R2 = арил) показали високу антиракову активність.

На даному етапі ми проводимо оптимізацію визначеної провідної сполуки (lead compound) методами комп'ютерного моделювання та направленого хімічного синтезу.

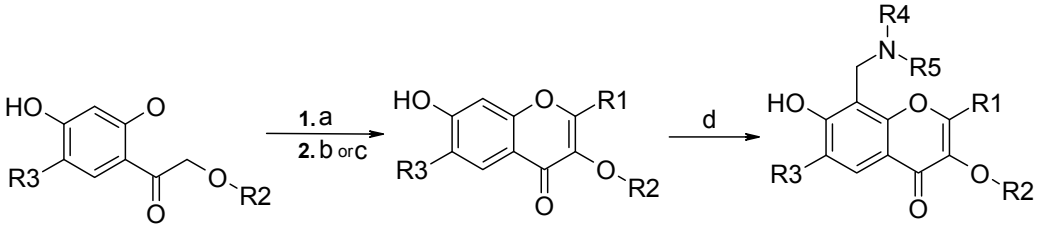
SYNTHESIS AND ANTICANCER ACTIVITY OF COMBINATORIAL LIBRARIES OF 8-АМІНОМЕТИЛЬНИХ DERIVATIVES OF 3-АРИЛОКСИ-7-ГІДРОКСИХРОМОНІВ.

A.O. Prykhod'ko, A. G. Golub, V.P. Khilya# and S.M.Yarmoluk

Institute of Molecular Biology and Genetics of NAS of Ukraine
#Chemical Department of Kyiv T. Shevchenko National University
e-mail: aupri@svitonline; sergiy@yarmoluk.org.ua; yakovenko_a@ubr.net; andrew_golub@ubr.net

Phosphorylation of protein hydroxyl groups by cyclin-dependent kinases (CDK's) is one the primary mechanism for cell cycle regulation, the complex process by which cell divide. Consequently, CDK's are attractive targets for development of antitumor drugs. Naturally occurring flavonoids are effective at inhibiting CDK's

We have developed convenient chemical procedures for preparing of combinatorial libraries on base template of 3-aryloxy-7-hygroxychromones.



R1=H,CF3; R2=Ar; R3=H,Alk; R4,R5=Alk,Pip,Morfoline,Pyrrolidine, N-Methyl-piperazine...

a -$ZnCl_2$, Et_2O, HCl b -DMF, Et_2O*BF_3, 70-75 ^{0}C, $POCl_3$

c -Py, 0^0C, $(CF_3CO)_2O$ d -dioxane, $CH_2(NR_4R_5)_2$, heating

The screening of prepared compounds was carried out in the terms of our Agreement with Division of Cancer Treatment and Diagnosis (DCTD) of National Cancer Institute (NCI) of National Institute of Health, Bethesda, Maryland, USA. The biological testing was carried out in vivo on 60 cell lines. The four compounds (R4, R5 = alkyl, R2 = aryl) showed high antitumor activity.

Now we optimize obtained lead compound by computer stimulation and aim-directed chemical synthesis.

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНОХИМИЧЕСКОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ РУТИНА С ДЕЗОКСИПЕГАНИНОМ

Халиков С.С., Хошимов Ф.Ф.
NamDU@uzpak.uz

Профилактика и лечения кровеносных сосудов является одним из актуальных задач здравоохранения. При увеличение проницаемости и ломкости кровеносных сосудов, потери свертываемости крови, анемии, диатезе, гипертонии, радиоактивном облучении, мышечной дистрофии, атеросклерозе, авитаминозе С и Р, кессоновой болезни, действие высоких температур и в других болезнях применение витамина Р предотвращает возможность заболевание и помогает выздоровлению организма. В качестве витамина Р применяют кверцетин-3-рамноглюкозид, называемый в медицине рутин. Рутин (витамин Р) получают экстракцией горячей водой бутонов Софоры Японской (1,2).

Целью работы была разработка механохимической технологии препаратов на основе рутина с регулируемой биодоступностью и исследование полученных комплексов. Рутин по своей структуре является фенольным веществом, относящимся к классу флавоноидов. Исходя из этого в качестве комплексообразующего агента выбрали дезоксипеганин относящийся к органическим основаниям класса алкалоидов.

Механохимическое взаимодействие рутина с комплексообразователем проводили в механореакторе “АГО-2У” фирмы Гефест (Россия). В стальной барабан загружали исходные компоненты и мелющие тела в определенных соотношениях. Процесс измельчения - активации проводили с энергонапряженностью от 20 до 60g при температуре 5-10^{0}С.

Измельчение исходных веществ приводит к изометричности кристаллов. ИК-спектры исходных и измельченных в различных условиях рутина и дезоксипеганина идентичны. Это указывает на стабильность рутина (Р) и дезоксипеганина (ДОП) к механическим нагрузкам.

Изучение ИК-спектров механообработанной смеси Р:ДОП-1:4(моль) показало появление нового пика 3344см$^{-1}$, который соответствует поглощению ассоциированных -NH и -OH групп. Отсутствие данного пика в ИК-спектрах исходных веществ позволяет предположить образование водородной связи между протоноакцепторной амино группой дезоксипеганина и протонодонорной гидроксильной группой рутина. Этот вывод подтверждается и данными ЯМР-спектроскопии, из которых следует, что основными взаимодействующими группами является -OH группы А кольца рутина(6 и 8 протонов сдвиг сигнала на 0,1м.д. в сторону сильного поля) и азот молекулы ДОП (9 и 11 протонов сдвиг сигнала на 0,1м.д. в сторону слабого поля). Полученные комплексы имели яркую апельсино-желтую окраску, в то время как рутин имеет бледный желто-зеленый цвет, а ДОП белый цвет. Механообработка в жестких условиях приводит к углублению окраски комплексов. Исходя из этой информации можно предположить, что взаимодействие идет именно с фенольными гидроксильными группами рутина и аминогруппой ДОП. Изменение окраски является следствием структурной изменение ароматического кольца, из за образование частичного двойного связи кислородом. Увеличение времени механообработки увеличивает выход комплекса. Изучение динамики высвобождения и растворимости показало высокую растворимость комплексов Р:ДОП. Физическая смесь Р:ДОП-1:1(моль) имела растворимость за 30 минут 93,11%, в тоже время комплекс такого же состава имел растворимость-95,71%. Увеличение в комплексах мольного содержания дезоксипеганина привело к увеличению растворимости. Физическая смесь Р:ДОП-1:4(моль) имела растворимость - 95%, в тоже время комплекс полученный при энергонапряженности 60g имел растворимость - 99,8%. Увеличение мольного содержания ДОП в комплексов, а также энергонапряженности приводит к увеличению растворимости. При равновесном диализе комплексы имели следующие показатели за 20 минут растворения:

Р:ДОП-1:1(моль,физ.см) - 52,44%, Р:ДОП-1:1(моль,60g) - 60.73%, Р:ДОП- 1:4(моль,физ.см) - 82,44%, Р:ДОП-1:4(моль,60g) - 96.12%,

Литература

1.Машковский М.Д. Лекарственные средства., том 1,Ташкент,1998,стр.90.

2.Полюдек-Фабини Р., Бейрих Т. Органический анализ. Л., 1981,стр.502-503.

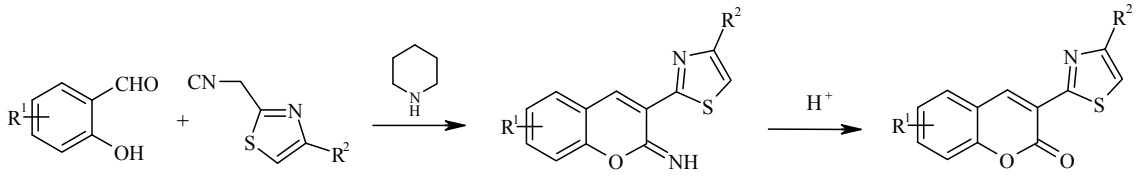
3.Максудхужаева Д.С., Копп Р.З., Глюкель Ф.Л.//Взаимодействие рутина с кальцием гидроксидом//Узбекский химический журнал,1989, N -2, стр.53-55.

СИНТЕЗ И СВОЙСТВА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ 3-(2-ТИАЗОЛИЛ)КУМАРИНОВ

О.В. Хиля, О.В. Шаблыкина, М.С. Фрасинюк, А.В. Туров, В.В. Ищенко, В.П. Хиля

Киевский Национальный университет имени Тараса Шевченко
e-mail: shablykina@mail.univ.kiev.ua; olgakh@mail.univ.kiev.ua

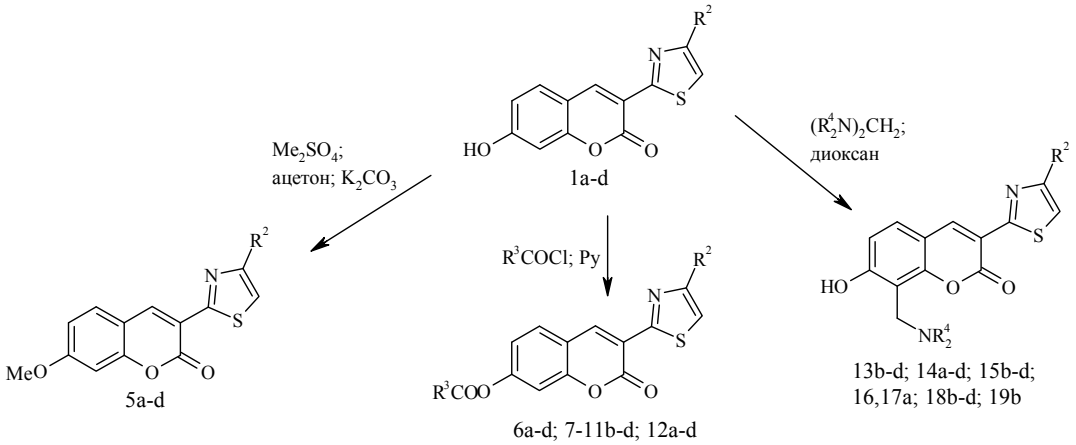
3-Гетарилкумарины известны как вещества, которым присуща высокая билогическая активность различных видов и которые обладают интересными спектральными свойствами. С целью изучения влияния природы гетероцикла на свойства кумариновой системы в ряду 3-гетарилкумаринов мы синтезировали различные 3-(2-тиазолил)кумарины 1a-d, 2b,c, 3b,c, 4c путем конденсации салициловых альдегидов и замещенных тиазолил-2-ацетонитрилов с последующим гидролизом полученных 2-иминокумаринов.



1a-d; 2b,c; 3b,c; 4c

1 R^1=7-OH; 2 R^1=6-Br; 3 R^1=6-NO_2; 4 R^1=6-Cl;
a R^2=Me; b R^2=4-BrPh; c R^2=3-NO_2Ph; d R^2=3,4-метилендиоксифенил

Наличие активной гидроксигруппы в соединениях 1a-d сделало возможным получение метильных 5a-d и ацильных производных 6a-d, 7-11b-d, 12a-d, а также оснований Манниха 13b-d, 14a-d, 15b-d, 16,17a, 18b-d, 19b, которые растворяются в разбавленных кислотах и в воде, что значительно расширяет возможности их полезного использования.



6a-d; 7-11b-d; 12a-d

6 R^3=Me; 7 R^3=Et; 8 R^3=Me_3C; 9 R^3=2-MePh; 10 R^3=4-MeOPh; 11 R^3=3,4-$(MeO)_2$Ph; 12 R^3=2-фурил;
13 R^4_2N=Me_2N; 14 R^4_2N= ; 15 R^4_2N= ; 16 R^4_2N= ; 17 R^4_2N= ; 18 R^4_2N= ; 19 R^4_2N= ;
a R^2=Me; b R^2=4-BrPh; c R^2=3-NO_2Ph; d R^2=3,4-метилендиоксифенил

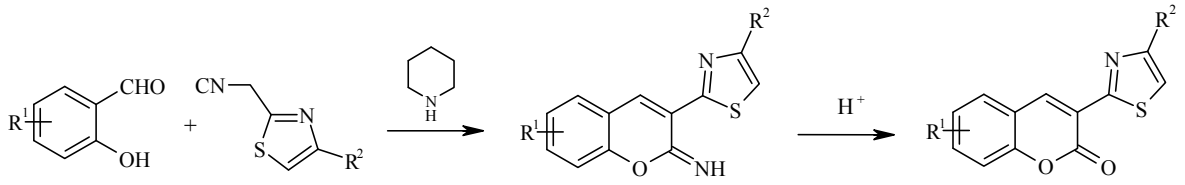
Предварительные биологические тесты подтвердили перспективность полученных соединений как биологически активных субстанций.

SYNTHESIS AND PROPERTIES BIOLOGICALLY ACTIVE 3-(2-THIAZOLYL)COUMARINS

O.V. Khilya, O.V. Shablykina, M.S. Frasinyuk, A.V. Turov, V.V. Ischenko, V.P. Khilya.

Kiev National Taras Shevchenko University,
e-mail: shablykina@mail.univ.kiev.ua; olgakh@mail.univ.kiev.ua

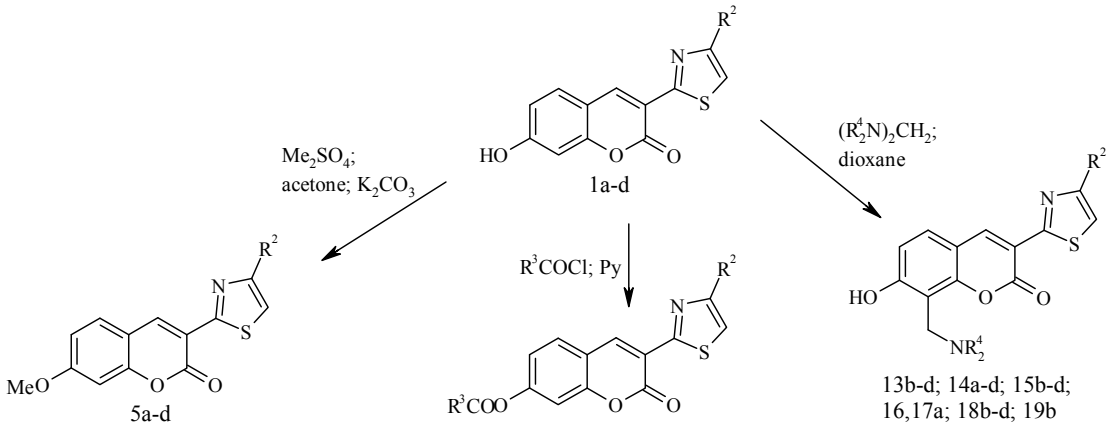
3-Hetarylcoumarins are known as substance in which the high bilogical activity of various sorts is inherent and which have interesting spectral properties. With the purpose of studing influence of a heterocycle's nature on properties of coumarin system in series 3-hetarylcoumarins we synthesized various 3-(2-thiazolyl)coumarins 1a-d, 2b,c, 3b,c, 4c by condensation of salicylic aldehydes and substituted thiazolyl-2-acetonitryles with the consequent hydrolysis of obtained 2- iminocoumarins.



1a-d; 2b,c; 3b,c; 4c

1 R^1=7-OH; 2 R^1=6-Br; 3 R^1=6-NO_2; 4 R^1=6-Cl;
a R^2=Me; b R^2=4-BrPh; c R^2=3-NO_2Ph; d R^2=3,4-methylendioxyphenyl

The availability active hydroxygroup in compounds 1a-d has made to possible obtaining methyl 5a-d and acyl derivatives 6a-d, 7-11b-d, 12a-d, and also Mannich bases 13b-d, 14a-d, 15b-d, 16,17a, 18b-d, 19b, which are dissolved in dilute acids and in water, that considerably extends possibilities of their useful use.



6 R^3=Me; 7 R^3=Et; 8 R^3=Me_3C; 9 R^3=2-MePh; 10 R^3=4-MeOPh; 11 R^3=3,4-$(MeO)_2$Ph; 12 R^3=2-furyl;
13 R^4_2N=Me_2N; 14 R^4_2N= ; 15 R^4_2N= ; 16 R^4_2N= ; 17 R^4_2N= ; 18 R^4_2N= ; 19 R^4_2N= ;
a R^2=Me; b R^2=4-BrPh; c R^2=3-NO_2Ph; d R^2=3,4-methylendioxyphenyl

The preliminary biological tests have confirmed perspectivity of obtained compounds as biological active substances.

АМИДИНЫ В РЕАКЦИЯХ РЕЦИКЛИЗАЦИИ ГЕТЕРОАНАЛОГОВ ИЗОФЛАВОЛИГНАНОВ.

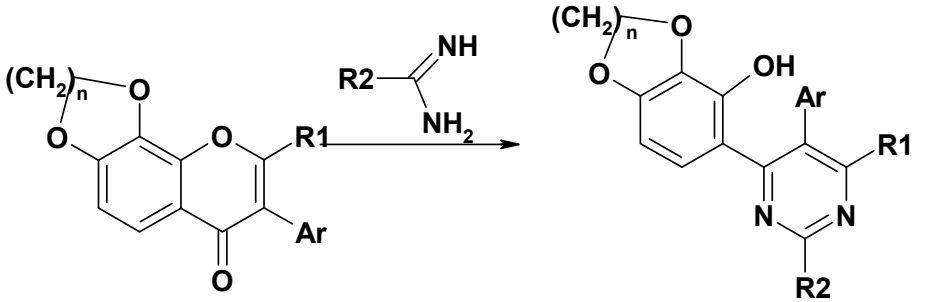
Хиля В.П., Ткачук Т.М., Шевчук Л.И.

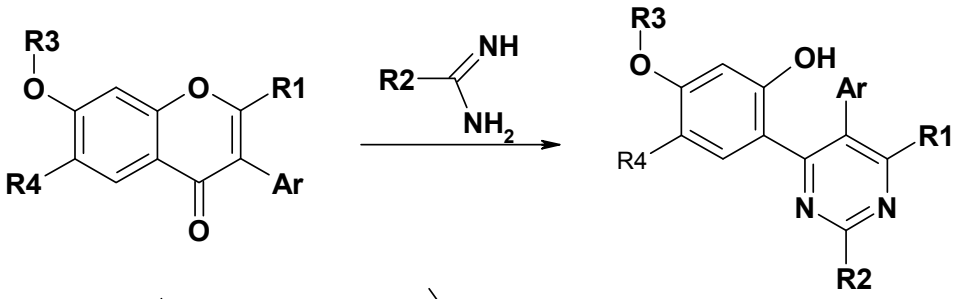
Киевский Национальный Университет имени Тараса Шевченко

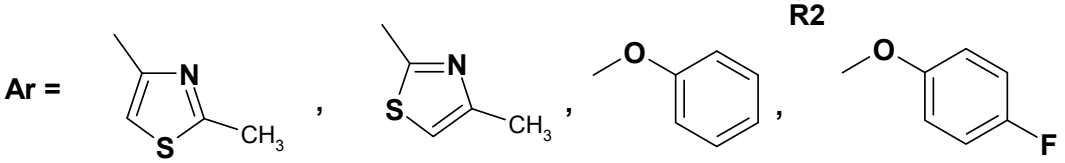
Бурное развитие синтетической органической химии в последние годы обусловлено, прежде всего, необходимостью поиска новых соединений, обладающих комплексом прогнозируемых биологически-активных свойств. Это особенно важно для фармацевтической промышленности.

Мы осуществили синтез молекулярных структур, включающих несколько фармакофорных остатков, а именно пиримидин, тиазол, бензодиоксан, бензодиоксол, бензодиоксепан, фенол.

3-гетарил-хромоны и 3-фенилхромоны под действием амидинов в спиртовом растворе рециклизуются в производные пиримидина:

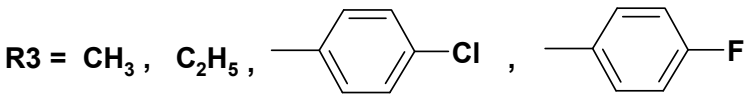






R1 = H , CF_3

R2 = H , NH_2 , CH_3 , C_6H_5



R4 = CH_3 , C_2H_5 , H

Структура полученных соединений доказана данными ПМР-спектроскопии, элементным анализом и химическими превращениями.

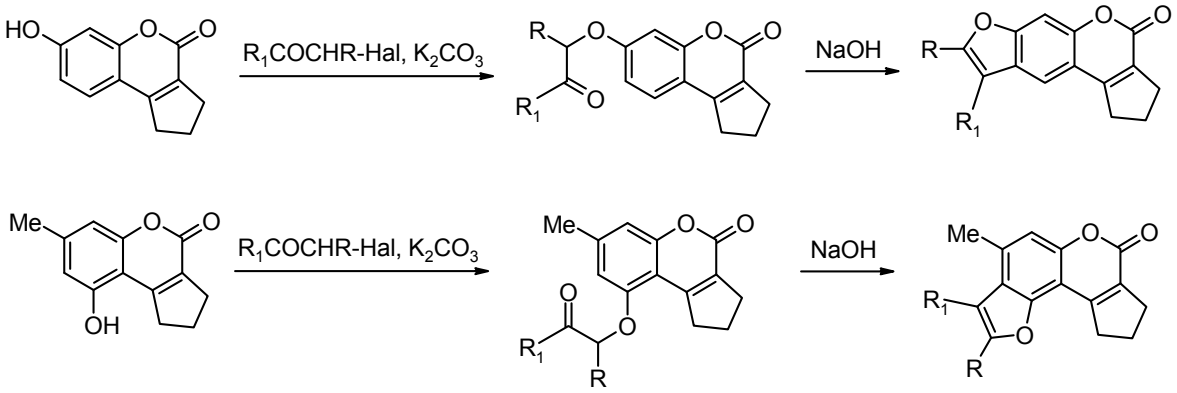
СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АННЕЛИРОВАННЫХ ФУРОКУМАРИНОВ

[1]Шилин С.В., [1]Бубовик И.П., [1]Гаразд Я.Л., [2]Пантелеймонова Т.Н., [3]Гаразд М.М., [1]Хиля В.П.

[1]Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко
[2]Институт геронтологии АМН Украины
[3]Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины

Фурокумарины – это важная группа биологически активных природных соединений, которые в большинстве случаев являются производными линеарного фурокумарина псоралена или его ангулярных изомеров ангелицина и аллопсоралена.

Нами было синтезировано аналоги природных фурокумаринов, содержащих аннелированный циклопентановый фрагмент. Реакция Вильямсона гидроксикумаринов и α-галогенкетонов приводит к образованию замещенных оксоэфиров. Полученные кетоны в условиях реакции Маклеода под действием раствора гидроксида натрия гладко замыкаются в полизамещенные 1,2,3,4-тетрагидроциклопента[c]фуро[3,2-g]хромен-4-оны (фурокумарины псораленового ряда) и 4-метил-7,8,9,10-тетрагидроциклопента[c]фуро[2,3-f]хромен-7-оны (фурокумарины аллопсораленового ряда).



R_1 = Me, R = H; R_1 = R = Me; R_1 = Ar, R = H; R_1 = Ph, R = Me; $R_1R = (CH_2)_4$

Фармакологический скрининг 9-фенил-1,2,3,4-тетрагидроциклопента[c]фуро[3,2-g]хромен-4-она, проведенный на крысах линии Вистар, показал, что полученный фурокумарин обладает низкой токсичностью – ЛД50 составляет более 3300 мг/кг. Указанное соединение в дозе 400 мг/кг обладает признаками стимулятора ЦНС. Кроме того, при дозе 100 мг/кг полученный фурокумарин показал кардиотропную активность – биоэлектрическая активность миокарда крыс характеризовалась уменьшением частоты сердечных сокращений.

ХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФОТОПОЛИМЕРИЗАЦИИ НАПОЛНЕННЫХ КРЕМНИЙОКСИДНЫМИ ВЫСОКОДИСПЕРСНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ ОЛИГОЭФИРАКРИЛАТНЫХ КОМПОЗИЦИЙ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В ОРТОПЕДИЧЕСКОЙ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ СТОМАТОЛОГИИ.

Д.Л.Старокадомский*, Т.Н.Соловьева, А.А.Чуйко

Email: user@surfchem.freenet.kiev.ua

Исследовано влияние наполнителей (высокодисперсного кремнезема и его смеси с дисперсным кварцевым стеклом) на механизм послойного формирования поилмера, скорость фотополимеризации (ФП), степень конверсии, кинетику радикалообразования и химизм происходящих при фотополимеризации процессов. Полимерной основой наполненных композиций служили системы "олигомер-фотоинициатор", с использованием олигомеров марок ОКМ-2, бис-ГМА, бис-УДМА, ТГМ-3 и фотоинициаторов диметилкетальбензил и изобутилбензоат.

Установлено, что высокодисперсный кремнезем тормозит скорость ФП (измеряемую в %/с), хотя при определенных концентрациях способен увеличивать степень конверсии. Наполнение кремнеземами и их смесями с дисперсным стеклом (последнее - на примере коммерческого пломбировочного композита "Оксомат-Дипол") приводит к существенному торможению послойного отверждения композиции, причем с увеличением удельной поверхности в ряду кремнеземов А-100, А-175, А-300, А-455 это торможение усиливается. В толстых высоконаполненных образцах наблюдается эффект избирательного отверждения, когда пристенные слои (в случае поглощающих стенок сосуда) не полимеризуются вследствие потерь света из-за рассеяния и поглощения.

Наполнение заметно уменьшает общее количество радикалов в процессе ФП и увеличивает их время жизни. После выключения УФ-облучения на стадии максимального протекания ФП, радйикалоиспользование практически прекращается, что говорит об отсутствии пост-эффекта.

Установлено, что наполнение кремнеземом инициирует или активизирует протекание конкурентных реакции ФП процессов, и этому способствует гидроксильный покров поверхности кремнезема.

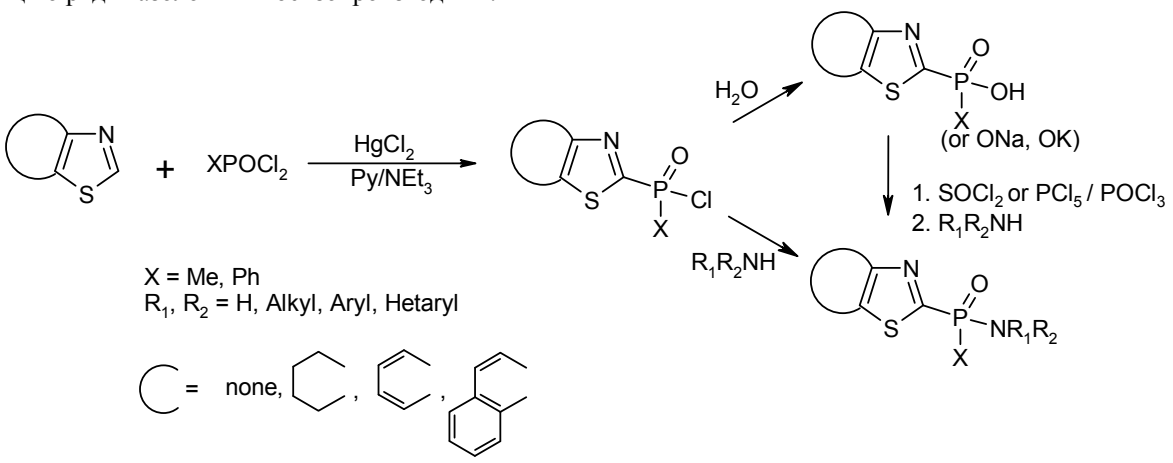
Сравнение результатов с имеющимися в литературе позволяет говорить о слабой изученности наполненных систем (в особенности фотоотверждаемых) на сегодняшнем этапе развития химии полимеризационноспособных олигомеров.

КАТАЛИТИЧЕСКОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ ТИАЗОЛОВ ГАЛОГЕНИДАМИ ПЯТИВАЛЕНТНОГО ФОСФОРА

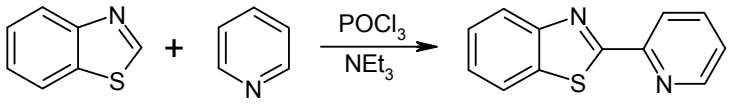
Стрижак А.В., Комаров И.В., Толмачев А.А., Корнилов М.Ю.

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко
e-mail: strizhak@eldorado.ua

Гетарилфосфоновые и фосфиновые кислоты и их производные представляют большой интерес как биологически активные вещества, ингибиторы ферментов а также как гаптены для получения каталитических антител. Недавно была описана реакция прямого С-фосфорилирования некоторых азотсодержащих гетероциклов, в частности имидазолов, галогенидами пятивалентного фосфора в системе пиридин - триэтиламин. Тиазолы в данных условиях в реакцию не вступают, однако нами был найден эффективный катализатор для данной реакции – соли двухвалентной ртути. Нами был введен в реакцию ряд тиазолов и их бензопроизводных:



Фосфорилирование проходит по второму положению тиазола. Было проведено сравнение реакционной способности различных тиазолов и влияние стерических факторов на протекание реакции. Интересно, что реакция $POCl_3$ с бензотиазолом не приводит к ожидаемому хлорангидриду фосфоновой кислоты. Вместо него образуется 2-(2-пиридил)бензотиазол – продукт окислительного сдваивания:

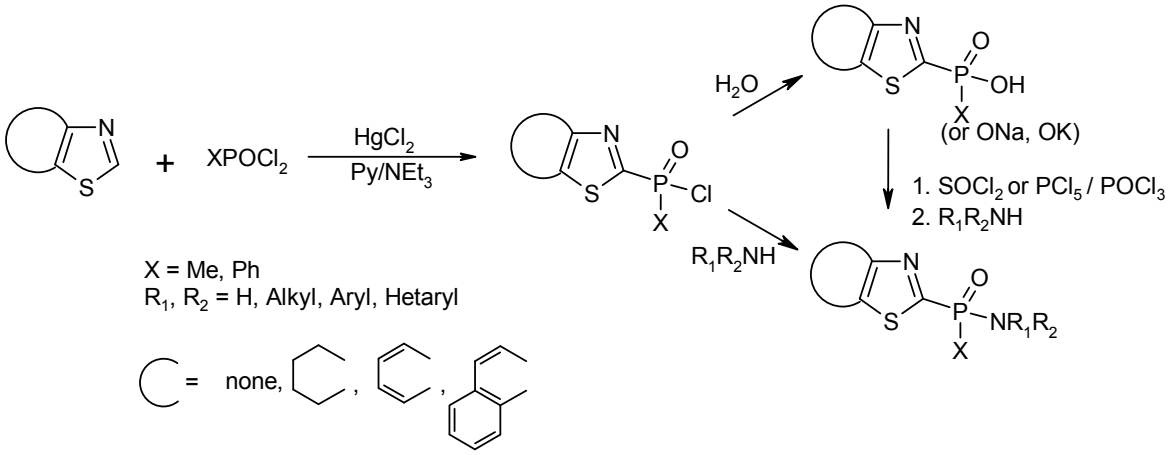


CATALYTIC PHOSPHORYLATION OF THIAZOLES BY PHOSPHORUS (V) ACID HALIDES

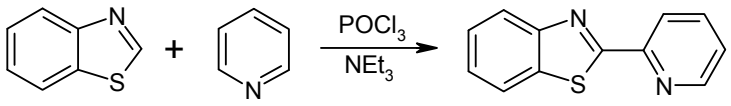
Strizhak A.V., Komarov I.V., Tolmachev A.A., Kornilov M.Yu.

Kyiv National Taras Shevchenko University
e-mail: strizhak@eldorado.ua

Hetarylphosphonyc and phosphinic acids and their derivates are of great interest because their biological activity, enzyme inhibition and also they are fine haptens for catalytic antibodies. As it was shown recently, some nitrogen-containing heterocycles, for example imidazoles, undergo smooth C-phosphorylation reaction by phosphorus (V) acid chlorides in pyridine – triethylamine solution.. Thiazoles do not react in same conditions but we find out that some Hg (II) salts are effective catalysts of thiazole's phosphorylation. We carried out phosphorylation of some thiazoles and their benzoderivates:



Phosphorylation involve second position of thiazole ring. Reaction ability of different thiazoles was compared and sterical factors were investigated. It is interesting that reaction of $POCl_3$ with benzothiazole does not lead to corresponding phosphonic acid chloride, the only product is 2-(2-pyridil)benzothiazole which is result of oxidative coupling:



СИНТЕЗ ФОСФОРСОДЕРЖАЩЕГО ПРОИЗВОДНОГО КАРВОТАНАЦЕТОНА

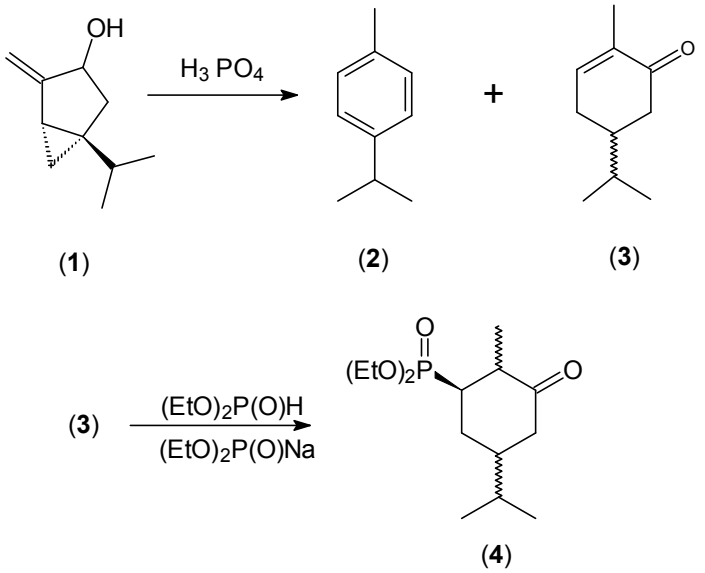
Е.М.Сулейменов[а], А.Т.Кулыясов[а], С.М.Адекенов[а], В.А.Ралдугин[б], М.М.Шакиров[б]

а: Институт фитохимии МОН Республики Казахстан
б: Новосибирский институт органической химии СО РАН
E-mail: arglabin@mail.krg.kz
E-mail: raldugin@nioch.nsc.ru

В результате взаимодействия сабинола (1), выделенного из эфирного масла Juniperus sabina L.[1], с концентрированной фосфорной кислотой получено два продукта – п-цимол (2) и карвотанацетон (3) с выходами 60 и 30% соответственно.

С целью получения нового фосфорсодержащего соединения[2] мы провели реакцию взаимодействия карвотанацетона с натриевой солью диэтилфосфита и получили соединение (4), которое выделили колоночной хроматографией в виде масла с выходом 83%.

Строение полученных соединения (2) доказано методом хромато-масс-спектрометрии, а строение (3) и (4) – подтверждается данными спектров ЯМР ^{1}H и ^{13}C.



Список литературы

Suleimenov Ye. M., Atazhanova G.A., Ozek T., Demirci B., Adekenov S. M., Basher K.H.C. 4th Int. Symp. Chem. Nat. Compounds, 6-8 June, 2001, Isparta, Turkey, p.65.

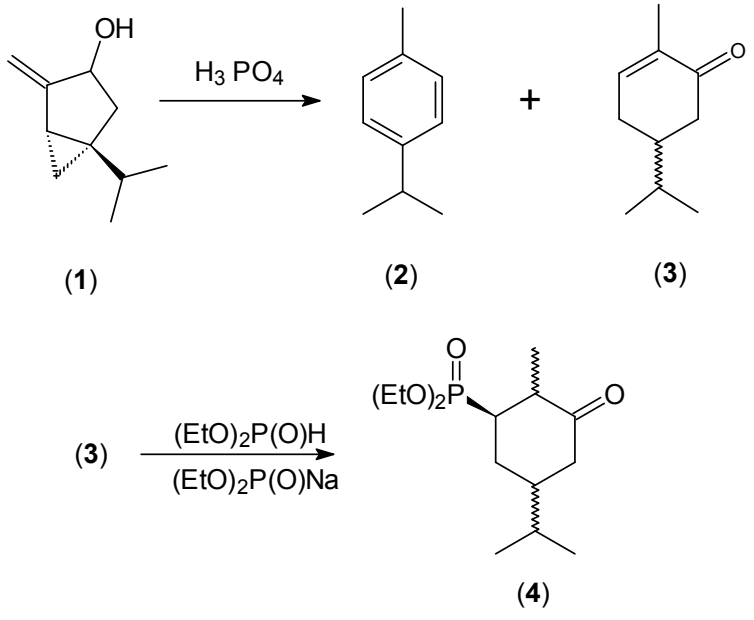
Kolesnik V.D., Shakirov M.M., Tkachev A.V. Mendeleev Commun., 1997, 4, 141.

SYNTHESIS OF PHOSPHORCONTAINING DERIVATIVES OF CARVOTANACETONE

Ye.M. Suleimenov[a], A.T. Kulyjasov[a], S.M. Adekenov[a], V.A. Raldugin[b], M.M. Shakirov[b]

a: Institute of phytochemistry MES RK
б: Novosibirsk Institute of organic chemistry of SB RAS
E-mail: arglabin@mail.krg.kz
E-mail: raldugin@nioch.nsc.ru

As result of reaction sabinol (1), isolated from Juniperus sabina L. essential oil [1], with concentrated phosphoric acid we have obtained two products - p-cymene (2) and carvotanacetone (3) with 60 и 30% yields respectively.



With purpose to produce new phosphorcontaining substance[2] we made reaction of carvotanacetone with diethylposphit's soudium salt and obtained compound (4), which isolated by column chromatography as oil in 83% yield.

The structure obtained compound (2) was proved by GC/MS and structure (3) and (4) – is confirmed by NMR ^{1}H and ^{13}C data.

Literature

Suleimenov Ye. M., Atazhanova G.A., Ozek T., Demirci B., Adekenov S. M., Basher K.H.C. 4th Int. Symp. Chem. Nat. Compounds, 6-8 June, 2001, Isparta, Turkey, p.65.

Kolesnik V.D., Shakirov M.M., Tkachev A.V. Mendeleev Commun., 1997, 4, 141.

СИНТЕЗ, МОЛЕКУЛЯРНАЯ И КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПЕНТАЦИКЛИЧЕСКОГО ДИМЕРА САБИНОНА

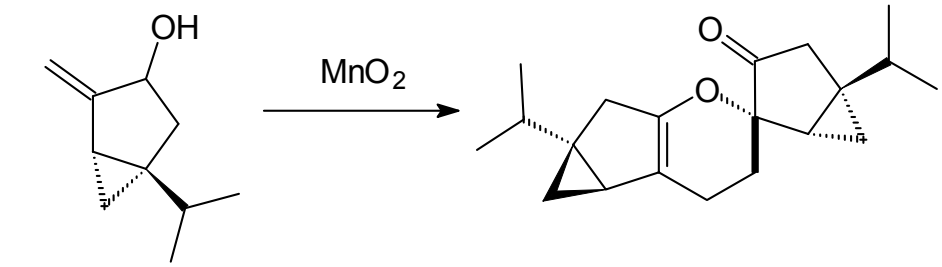
Е.М.Сулейменов[а], А.Т.Кулыясов[а], С.М.Адекенов[а], В.А.Ралдугин[б], М.М.Шакиров[б], И.Ю.Багрянская[б], Ю.В.Гатилов[б]

а: Институт фитохимии МОН Республики Казахстан

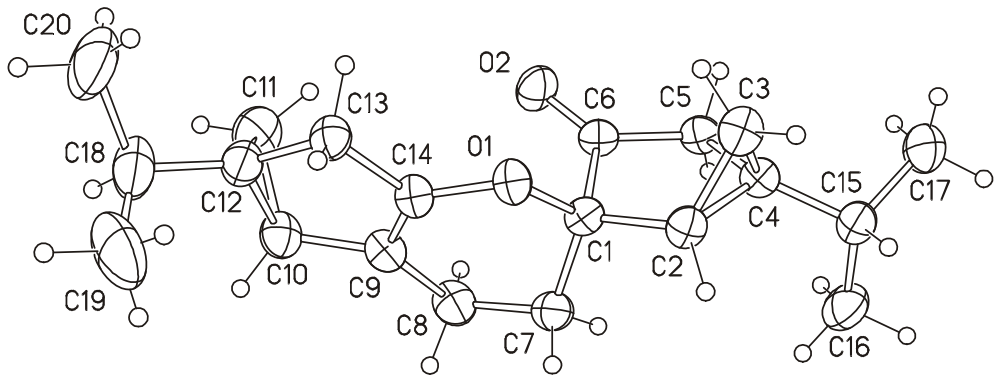
б: Новосибирский институт органической химии Сибирского Отделения Российской академии наук

E-mail: arglabin@mail.krg.kz; raldugin@nioch.nsc.ru

В результате окисления сабинола (1), выделенного из эфирного масла Juniperus sabina L.[1], активной двуокисью марганца[2] в петролейном эфире неожидано вместо ожидаемого сабинона получен его пентациклический димер (2). Пространственное строение полученного нового соединения доказано методом РСА и данных двумерных спектров ЯМР ^{1}H - ^{13}C (COSY, COLOC), ЯМР ^{1}H - ^{1}H (COSY).



1 2



Список литературы

1. Suleimenov Ye. M., Atazhanova G.A., Ozek T., Demirci B., Adekenov S. M., Basher K.H.C. 4th Int. Symp. Chem. Nat. Compounds, 6-8 June, 2001, Isparta, Turkey, p.65.

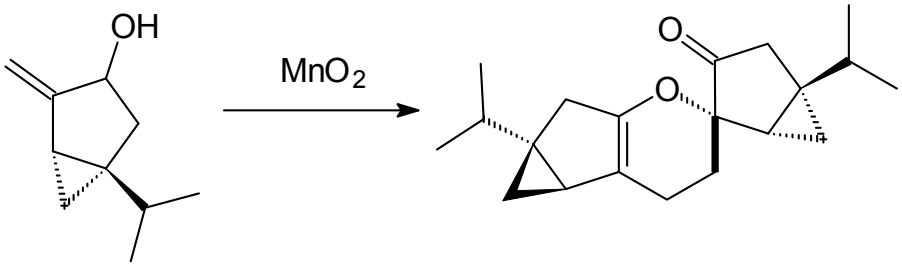
2. Физер Л., Физер М., Реагенты для органического синтеза, II, с. 219

SYNTHESIS, MOLECULAR AND CRYSTAL STRUCTURE OF PENTACYCLIC DIMER OF SABINONE

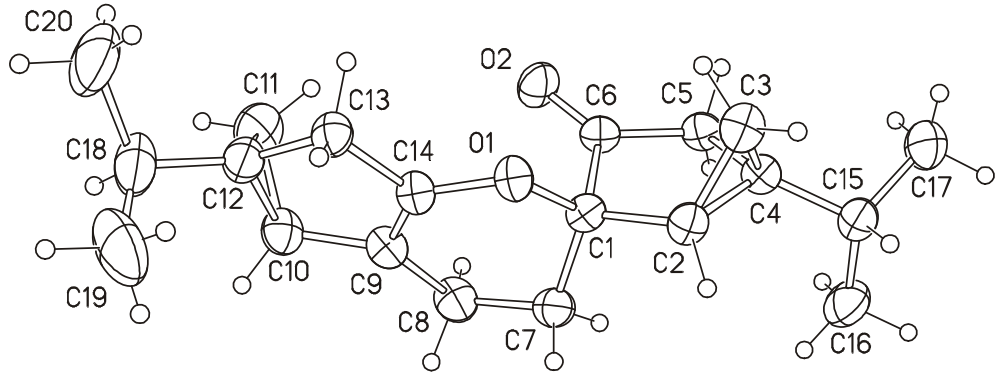
Ye.M. Suleimenov[a], A.T. Kulyjasov[a], S.M. Adekenov[a],
V.A. Raldugin[b], M.M. Shakirov[b]

[а]: *Institute of phytochemistry MES RK*
[б]: *Novosibirsk Institute of organic chemistry of SB RAS*
E-mail: arglabin@mail.krg.kz; raldugin@nioch.nsc.ru

As a result of sabinol oxidation (1), isolated from Juniperus sabina L. essential oil1 by manganese dioxide[2] in petroleum ether suddenly instead of sabinone, pentacycle dimer (2) was obtained. Spatial configuration of new obtained compound was proved by X-ray analysis and on the basis of 1H-13C NMR (COSY, COLOC), 1H-1H NMR (COSY) data.



1 2



Literature

1. Suleimenov Ye. M., Atazhanova G.A., Ozek T., Demirci B., Adekenov S. M., Basher K.H.C. 4th Int. Symp. Chem. Nat. Compounds, 6-8 June, 2001, Isparta, Turkey, p.65.

2. Fiser L., Fiser M. Reagents for organic synthesis. II, p. 219

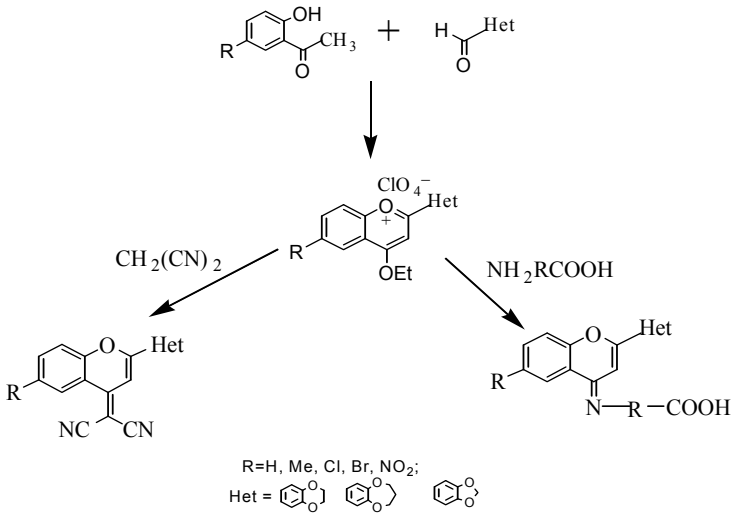
НОВЫЕ МЕТОДЫ СИНТЕЗА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ АНАЛОГОВ ФЛАВОНОВ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ

Светлых Н.А., Ищенко В.В., Хиля В.П.

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко
e-mail: svet@mail.univ.kiev.ua

Флавоноиды и изофлавоноиды обладают бесспорно высокой и разноплановой биологической активностью. Особенно интересны в этом плане хромоны, модифицированные по второму положению кислородсодержащими гетероциклами и их 4-производные, в частности, содержащие метилендициановый и аминокислотный фрагменты. Метилендициановая компонента может быть синтоном для получения новых гетероциклических систем и, по литературным данным, является основной составляющей частью ингибиторов ферментативных систем. Наличие аминокислотной группы позволяет модифицировать гетероциклическими аналогами хромонов пептидные системы.

Эти соединения практически не изучены, ввиду трудности их синтеза. Мы разработали доступный метод получения производных кислородсодержащих гетероаналогов хромонов, основанный на реакции гетероциклических альдегидов с о-гидроксиацетофенонами. и дальнейшем взаимодействии полученных солей 4-етоксихромилия с нуклеофильными реагентами.



Структура полученных соединений была доказана с помощью ИК- и ПМР-спектроскопии, элементного анализа.

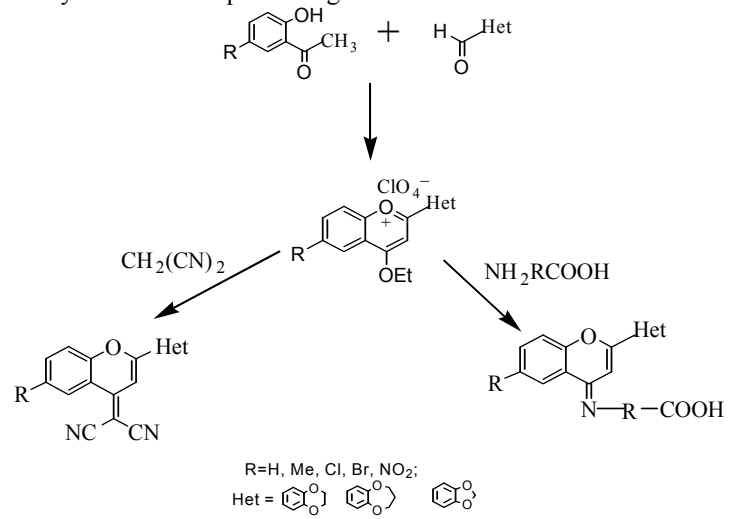
NEW METHODS OF SYNTHESIS OF THE BIOLOGICALLY ACTIVE FLAVONOID HETEROCYCLIC ANALOGUES AND THEIR DERIVATIVES.

Svetlykh N.A., Ishchenko V.V., Khilya V.P.

Kiev Taras Shevchenko National University
e-mail: svet@mail.univ.kiev.ua

Flavonoids and isoflavonoids have an undoubtedly high and different biological potency. The chromones, modified on the second position by oxygen-containing heterocycles and their 4-derivative, in particular, keeping metilendicyano and aminoacidic fragments are specially interesting in this schedule. Metilendicyano component can be synton for obtaining new heterocyclic systems and, under the literary data, is the main part of inhibitors of enzymatic systems. Aminoacidic groups allow to modify peptide systems by heterocyclic analogues of chromones. These compounds practically are not studied, because of difficulty of their synthesis. We have elaborated an accessible method of synthesis of flavonoid heterocyclic analogues containing oxygen

It based on reacting of heterocyclic aldehydes with o-hidroxyacetophenones. And further interplay of the obtained salts 4-etoxyhromiliym with nucleophilic reagents.



The structure of obtained compounds was confirmed by IR and NMR spectroscopy.

АМИДИНЫ В РЕАКЦИЯХ РЕЦИКЛИЗАЦИИ ГЕТЕРОАНАЛОГОВ ИЗОФЛАВОЛИГНАНОВ.

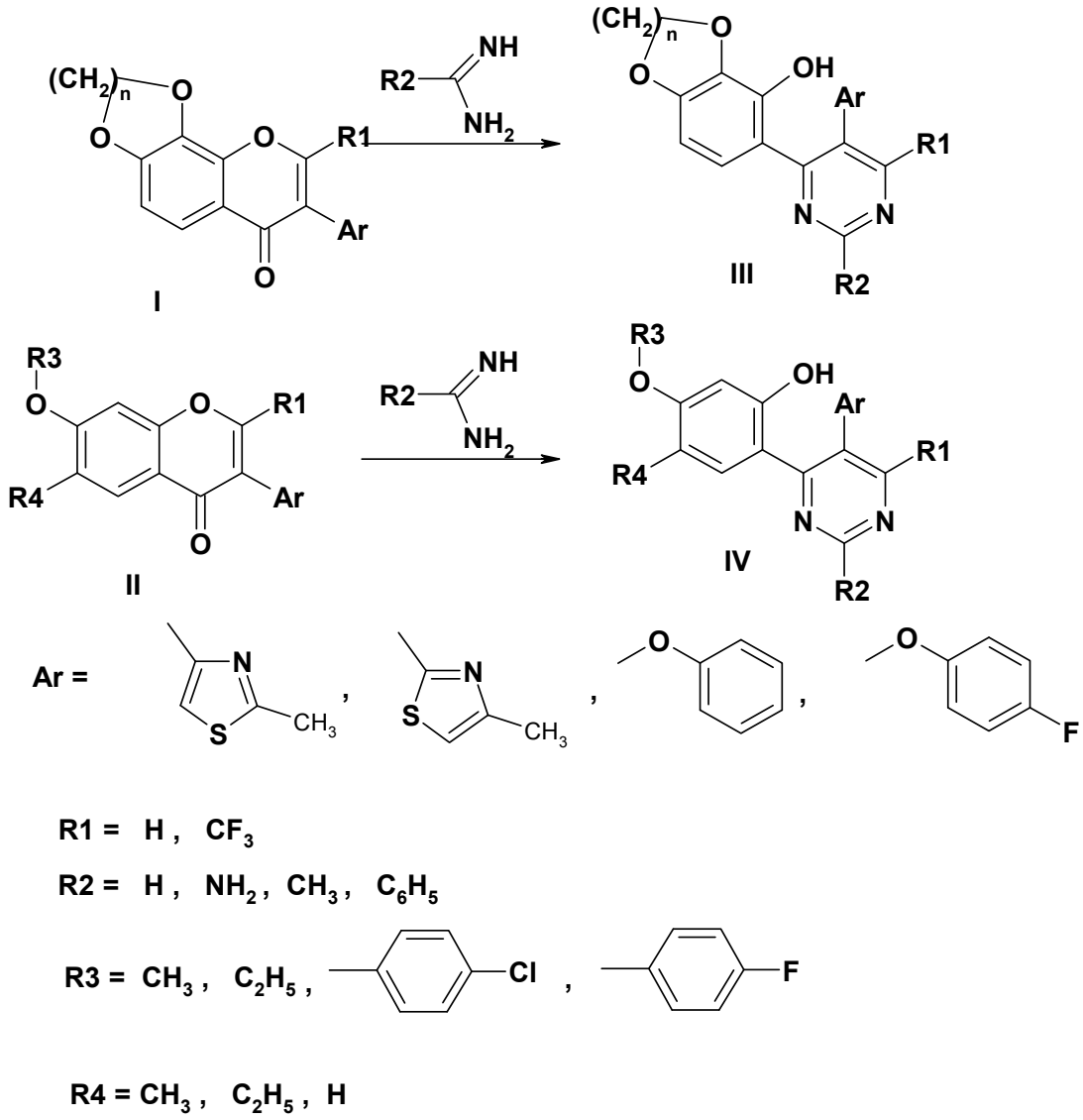
Ткачук Т.М., Шевчук Л.И, Хиля В.П.

Киевский Национальный Университет имени Тараса Шевченко
e-mail: tkachuk@mail.univ.kiev.ua

Бурное развитие синтетической органической химии в последние годы обусловлено, прежде всего, необходимостью поиска новых соединений, обладающих комплексом прогнозируемых биологически-активных свойств. Это особенно важно для фармацевтической промышленности.

Мы осуществили синтез молекулярных структур, включающих несколько фармакофорных остатков, а именно пиримидин, тиазол, бензодиоксан, бензодиоксол, бензодиоксепан, фенол.

Модифицированные изофлавоны I, II под действием амидинов в спиртовом растворе рециклизуются в производные пиримидина III, IV:



Структура полученных соединений III, IV доказана данными ПМР-спектроскопии, элементным анализом и химическими превращениями.

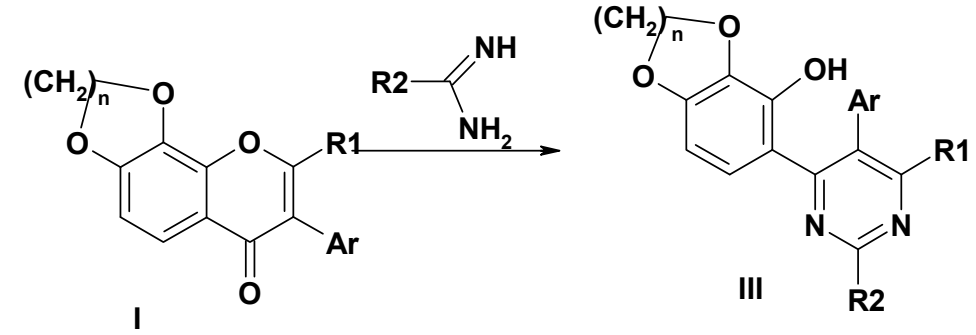
AMIDINES IN REACTIONS OF RECYCLIZATION OF MODIFIED ISOFLAVONES.

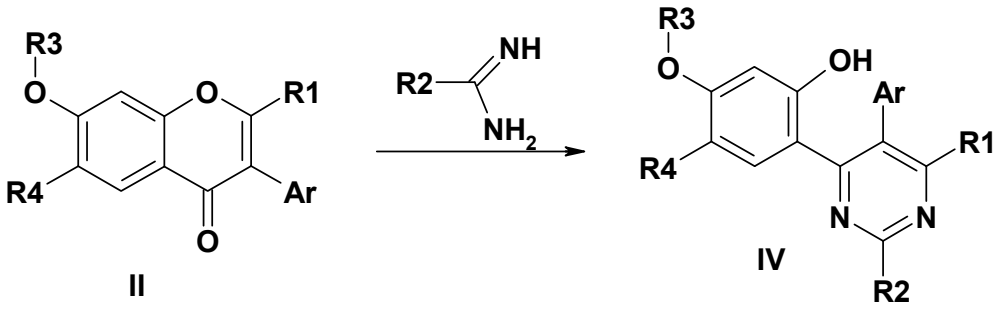
Tkachuk T.M., Shevchuk L.I., Khilya V.P.

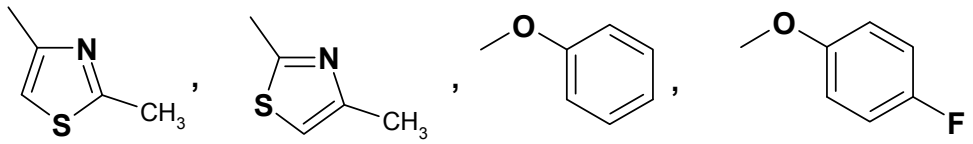
Shevchenko National University,
e-mail: tkachuk@mail.univ.kiev.ua

Recent rapid progress in synthetic organic chemistry is associated with a search for new biologically active compounds with original structure and desired properties. Such compounds are being widely used in pharmaceutical industry. In this context, we carried out synthesis compounds containing several pharmacophoric heterocycles: pyrimidine, thiazole, benzo-dioxane (-dioxole, -dioxepane), phenol.

The reaction of modified isoflavones I, II with amidines leads to derivatives of pyrimidines III, IV :

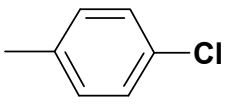
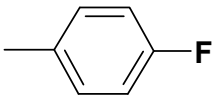




Ar = 

R1 = H , CF_3

R2 = H , NH_2 , CH_3 , C_6H_5

R3 = CH_3 , C_2H_5 ,  **,** 

R4 = CH_3 , C_2H_5 , H

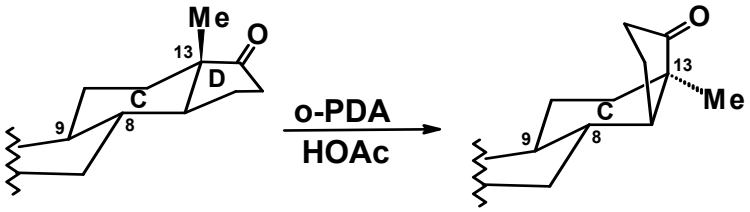
The structure of pyrimidines III, IV was confirmed by NMR-spectra, elemental analysis and chemical reactions.

НОВАЯ УНИВЕРСАЛЬНАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ИЗОМЕРИЗАЦИИ 17-КЕТОСТЕРОИДОВ С ПРИРОДНОЙ КОНФИГУРАЦИЕЙ В ИХ 13α-АНАЛОГИ

Яременко Ф.Г., Кондратюк Ж.А., Сова А.Н., Вакула В.Н.

Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского АМН Украины.
e-mail: ipep@vl.kharkov.ua; steroid@ukrniifez.vl.net.ua

Нами открыта новая реакция изомеризации 17-кетостероидов андростанового и эстранового рядов. Особенность этой реакции состоит в изменении конфигурации С-13 центра стероида с 13β на 13α, происходящем при взаимодействии 17-кетостероида с ароматическим орто-диамином (например, о-фенилендиамином), в кипящей уксусной кислоте. Интермедиатами этой реакции являются нестабильные катион-радикалы, поэтому конечным продуктом есть чистый 13α-стероид. Изменение условий реакции («ноу-хау» авторов) дает возможность получать 13α-St с измененной или неизмененной 3-гидроксифункцией.



13β-St (C/D-trans) **13α-St (C/D-cis)**

Среди преимуществ предлагаемой технологии: одностадийность синтеза, уменьшение времени реакции, повышение выхода до 60 – 80 % за один технологический цикл. Метод не требует специального оборудования или значительных затрат энергии.

Наша новая технология может быть использована для получения широкого ряда 13α-17-кетостероидов, некоторые из которых являются промежуточными продуктами в синтезе новых лекарственных средств с антигормональной и противоопухолевой активностью, подобных онапристону.

Результаты наших исследований запатентованы в Украине: пат. UA № 14704A (1997); № 23979A (1998) и России RU № 2129125 (1999).

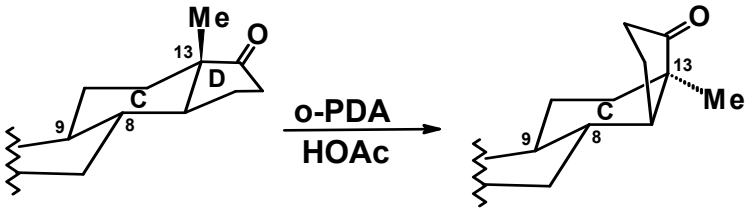
Мы приветствуем возможные формы сотрудничества, включая лицензирование, Мы можем разработать методику изомеризации необходимого 17-кетостероида с предоставлением отчетов и образцов стероидов. Более развитые формы сотрудничества могут включать не только синтез, но и изучение специфической активности оговоренного ряда соединений.

A NEW UNIVERSAL TECHNOLOGY OF ISOMERISATION OF 17-KETOSTEROIDS WITH NATURAL CONFIGURATION TO THEIR 13α-ANALOGUES.

Yaremenko F., Kondratjuk G., Sova A., Vakula V.

Institute of endocrine pathology problems
E-mail: ipep@vl.kharkov.ua; steroid@ukrniifez.vl.net.ua

We have discovered a new reaction of isomerisation of 17-ketosteroids of androstane and estrane series. The essence of this reaction lies in changing of the configuration of the C-13 center of steroid from 13β to 13α during the reaction of 17-ketosteroid with aromatic ortho-diamine, e.g. ortho-phenilenediamine, in boiling acetic acid. The intermediates of this reaction are unstable, cation-radical particles and due to this fact the resulting product is a pure 13α-steroid (II, IV). The manipulation of the reactions conditions, which is the essence of the authors "know-how", makes it possible to obtain the II and IV with changed or unchanged R3 on 3-hydroxyfunction.



13β-St (C/D-trans) **13α-St (C/D-cis)**

Among the advantages of the offered technology should be mentioned such as single-step synthetic procedure, reduction of the reaction time, increasing of the yield of the desired product up to 60-80% per one technological cycle. The method does not require any special equipment or intensive consumption of energy.

Our new technology can be used for obtaining of the wide range of 13α-17-ketosteroids. Some of them are intermediates in the synthesis of the new drugs with antihormonal and antitumour activity similar to "onapristone" on the basis of 13α-steroids.

The results of our investigation have been patented in Ukraine: Pat. UA ¹ 14704A (1997); ¹ 23979A (1998) and Russia RU ¹ 2129125 (1999).

We should welcome any opportunities for cooperation including licensing. We can develop the technology of isomerisation applied to particular 13α-steroid with submitting a report as well as placing at the company's disposal the samples of steroids. The more expended form of cooperation may include not only synthesis but also studying of specific activity of the agreed series of the compounds.

СЕКЦИЯ:

«ПОЛУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ РАСТИТЕЛЬНЫХ И ЖИВОТНЫХ ТКАНЕЙ»

БЕЛКОВЫЕ АНТИОКСИДАНТЫ КРОВИ И СЛЮНЫ, ВЫДЕЛЕНИЕ И АНАЛИЗ.

Е.А.Абрикосова, Д.Г.Ажицкий (младший), Г.Ю.Ажицкий.

Крымский Государственный медицинский университет

Методом электрофореза в полиакриламидном геле в сыворотке крови и слюне человека выделены белки реагирующие с 2-4 динитрофенилгидразином (ДФГ). Предполагается, что эти белки подверглись процессу свободно-радикального окисления кислородом с образованием альдегидных группировок, которые и взаимодействуют с 2-4 ДФГ с образованием производных жедлтого цвета и максимумом поглощения 370 нм. По электрофоретической подвижности эти эти белки соответствуют сывороточному альбумину и альфа глобулину.

Показано, что в условиях ин витро сывороточный альбумин активно окисляется в присутствии перекиси водорода и ионов двухвалентного железа, что выявляется по реакции с 2-4 ДФГ, при этом окисленный компонент может быть определен количественно. Изучен уровень окисленно-модифицированных белков в сыворотке крови и слюне здоровых людей и при различной патологии.

Показано, что в норме эти белки есть и в крови и в слюне, а при патологии их количество может увеличиваться на 100 и более процентов. Показано, что сывороточный альбумин человека способен ингибировать реакцию окисления восстановленного 2-6 дихлорфенолиндлфенола, что рассматривается обычно, как антиоксидантная активность.

Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что сывороточный альбумин является белковым антиоксидантом и выполняет защитную функцию в организме. Определение уровня окисленно-модифицированных белков в слюне применено в стоматологии, как тест на совместимость при ортопедическом протезировании различными материалами.

PROTEIN ANTIOXIDANTS OF BLOOD AND SALIVA, EXTRACTION AND ANALYSIS.

E.A. Abrikosova, D.G. Agitsky (young), G.Yu. Agitsky.

Crimea State Medical University

By the method of electrophoresis in polyacrylamid gel in the blood serum and in the human saliva proteins reacting with 2-4 dinitrophenilhydrazine (DPG) were extracted. It is assumed that these proteins have been subjected to the process of free-radical oxidation with oxygen with creation of aldehide droups , which interact with 2-4 DPG with formation of derivatives of the yellow colour, with the maximum of absorption in the area 370 nm.

The electrophoretic mobility these proteins correspond to the serum albumin and alpha-globulin. It was shown that under conditions in vitro serum albumin is actively oxidizing in the presence of hydrogen peroxide and ferrum ions, that is revealed by the reaction with 2-4 DPG and oxidized component may be determined by the quantity. The level of oxidized modified proteins in the blood serum and saliva of healthy persons and in pathology was studied.

It was shown that in the norm they present in the blood and saliva and in different pathology their quantity may increase by 100 and more per cent. It was shown that human serum albumin is able to inhibit the reaction of oxidation of restored 2-6 dichlorophenolindophenol, that is usually considered to be as antioxidant activity. The data obtained allow to make a conclusions that serum albumin is a protein antioxidant and increase a protective function in organism. Determining the level of oxidized modified proteins in saliva is used in stomatolody as the test for compatibility in orthopedic prosthetics with different materials.

НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ПРОИЗВОДСТВЕ ФИТОПРЕПАРАТОВ

Ветров П.П., Носовская Т.Д., Гарная С.В., Русинов А.И.

Государственный научный центр лекарственных средств
e-mail: samatov@phukr. kharkov.ua

Основной технологической стадией в производстве фитопрепаратов является процесс экстрагирования биологически активных веществ из растительного сырья. От эффективности экстракции зависит выход и качество целевого продукта.

Извлечение липофильных комплексов из растительного сырья возможно экстракцией растворителями неполярной природы.

В 30-50-е годы минувшего столетия выделение липофильных комплексов проводили по принципу "подобное извлекается подобным". Поэтому в качестве экстрагентов использовалось растительное масло. Таким образом получали масляные каротиноидсодержащие препараты из моркови, шиповника, облепихи.

Позднее в качестве экстрагентов липофильных фракций стали использовать органические растворители. Так, в своё время, с использованием в качестве экстрагента дихлорметана были разработаны технологии получения таких масляных каротиноидсодержащих препаратов как Каротолин, Масло шиповника.

Совершенствуя способы извлечения природных комплексов липофильной природы, мы предложили новую технологию получения препаратов с использованием в качестве экстрагента сжиженного дихлордифторметана. Указанный экстрагент обладает рядом преимуществ по сравнению с другими органическими растворителями. Вязкость сжиженного дихлордифторметана значительно меньше вязкости обычных органических растворителей, что характеризует его как экстрагент с наилучшими диффузионными свойствами. В химическом отношении он индифферентен. Низкие значения теплоты парообразования и температуры кипения дихлордифторметана указывают на сравнительно малые энергозатраты, требуемые на его испарение при удалении из экстракта. Дихлордифторметан не токсичен, взрыво- и пожаробезопасен. А самое главное его преимущество - низкое значение диэлектрической постоянной, характеризующее высокую селективность дихлордифторметана по отношению к веществам липофильной природы.

С использованием в качестве экстрагента сжиженного дихлордифторметана нами были разработаны новые технологии известных фитопрепаратов - Масло шиповника, Каротолин, Облепиховое масло.

Замена дихлорметана дихлордифторметаном позволила сократить время технологического цикла, исключив стадию очистки. Препараты, полученные с использованием в качестве экстрагента дихлордифторметана, отвечают требованиям нормативной документации. Их идентичность была также подтверждена фармакологическими исследованиями.

С использованием в качестве экстрагента дихлордифторметана нами были выполнены исследования по созданию новых фитопрепаратов липофильной природы. Успешно прошли клинические испытания и разрешены к медицинскому применению препараты: Аромелин - из плодов аронии черноплодной, Сорбилин - из плодов рябины обыкновенной. В стадии разработки находится препарат Ликоперсикол - из семян томатов. Были выделены также липофильные комплексы ромашки, шалфея, зародышей пшеницы, овса, проса, на основе которых могут быть созданы новые фитопрепараты.

Преимуществом новых технологий является ведение многоступенчатого технологического процесса в замкнутом цикле, где последовательно осуществляются стадии экстракции, концентрирования и регенерации растворителя из шрота. Использование в качестве экстрагента дихлордифторметана позволяет более полно извлекать сумму биологически активных веществ из растительного материала, тем самым сокращая удельные нормы его расхода и повышая коэффициент использования лекарственного сырья. Увеличение выхода целевых продуктов позволяет получить не только экономический, но и социальный эффект, увеличивая объём выпуска эффективных фитопрепаратов.

NEW TECHNOLOGIES IN PHYTODRUGS PRODUCTION

Vetrov P.P., Nosovskaya T.D., Garnaya S.V., Rusinov A.I.

State Scientific Centre of Drugs
e-mail: samatov@phukr. kharkov.ua

The basic technological stage in production of phytodrugs is the process of an extraction biologically of active materials from vegetative raw. The yield and quality of a main product depends on efficiency of extraction.

The withdrawal of lipophilic complexes from vegetative raw is possible by extraction by solvents of the non-polar nature.

In 30-50-th years of the last century allocation of lipophilic complexes conducted by a principle " similar is extracted similar ". Therefore in quality extragent the vegetable oil was used. Thus oily drugs received from carrots, wild rose, hyppophoes which contain carotenoides.

Later in quality extragents of lipophilic fractions began to use organic solvents. So with usage in quality extragent CH_2Cl_2 the technology of obtaining such oily drugs as Carotolin, Oil of a Wild rose were designed.

Perfecting ways of withdrawal of natural complexes of the lipophilic nature, we have offered new know-how of obtaining of drugs with usage in quality extragent of liquefied freon -12. Indicated extragent has a series of advantages as contrasted to by other organic solvents. The viscosity liquefied freon-12 is much less than viscosity of customary organic solvents, that characterizes it as extragent with the best diffusive properties. In chemical attitude it indifferent. Low values of evaporation heat and the boiling temperatures of freon -12 indicate on rather small power consumption, demanded on its vaporization at deleting from an extract. The freon -12 is not toxic, explosion-proof and is fireproof. And its most important advantage - low value of dielectric constant describing high selectivity of freon -12 in relation to matters of the lipophilic nature.

With usage in quality extragent of liquefied freon -12 we designed new technologies known phytodrugs - Oil of a wild rose, Carotolin, Hippophoes oil.

The replacement CH_2Cl_2 by freon -12 has allowed to reduce time of a work cycle, having eliminated stage of clearing. The drugs obtained with usage in quality extragent of freon -12, meet the requirements the normative documentation. Their identity also was affirmed by pharmacological researches.

With usage in quality extragent of freon -12 we made researches on creation new phytodrugs of the lipophilic nature. Clinical tests successfully have passed and the drugs are permitted to medical applying: Aromelin - from fruits Aronia , Sorbilin - from fruits Sorbus. In a development stage there is a drug Licopersicol - from seed of Tomatoes. The lipophilic complexes of a daisy, sage, germs wheat, oats, millet were isolated also, on the basis of which one can be created new phytodrugs.

Advantage of new technologies is the management of a multistage manufacturing process in a closed cycle, where stages of extraction, concentrating and reactivation of a solvent from raw sequentially implement. Usage in quality extragent of freon -12 allows more full to extract the sum biologically of active materials from a vegetative material, thus reducing the specific norms of its consumption and increasing operating ratio of medicinal raw. The gain in yield of main products allows to receive not only economical, but also social effect, augmenting a production volume effective phytodrugs.

КРИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ЭКСТРАКТА ИЗ ФРАГМЕНТОВ СВИНОЙ СЕЛЕЗЕНКИ С ЦЕЛЬЮ ЕГО КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

С.Е.Гальченко, Б.П.Сандомирский, В.В.Бызов, И.В.Слета

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины
e-mail: cryo@online.kharkov.ua

Количество инфекционых заболеваний, в том числе тяжелыми формами гнойно-деструктивных поражений легких, за последние годы не имеет тенденции к снижению. Трудности в лечении таких заболеваний требуют поиска нових подходов.

В связи с этим нами разработан способ получения экстракта из криоконсервированных фрагментов свиной селезенки. Установлено, что если при криоконсервировании фрагментов в качестве криопротектора используются полиэтиленоксиды, то экстракт содержит большее количество биологически активных веществ (полипептидов, нуклеотидов), чем при получении его из нативного материала. Показано также, что пептиды экстракта эффективно связываются с мембранами липосом и интактных клеток по конкурентному механизму, что предполагает достаточную биологическую активность полученного препарата.

Была изучена клиническая эффективность эндобронхиального введения экстракта в комплексной консервативной терапии больных с абсцессами лёгких. Показано, что его эндобронхиальное введение в комплексном лечении больных с указанной патологией достоверно улучшает клиническое течение заболевания, уменьшает количество случаев хронизации процесса.

При этом наблюдалось восстановление или тенденция к достоверному восстановлению показателей неспецифического и специфического иммунитета и, в первую очередь, местных механизмов бронхолёгочной защиты в более ранние сроки и в большем объёме показателей по сравнению с контрольными группами больных.

CRYOBIOLOGICAL TECHNOLOGIES OF OBTAINING PIG SPLEEN EXTRACT FOR CLINICAL APPLICATION

S.E. Galchenko, B.P. Sandomirsky, V.V. Byzov, I.V. Sleta

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine
e-mail: cryo@online.kharkov.ua

Now the number of infectious diseases, including serious forms of suppurative and destructive affections of lungs, has no tendency to decrease. The difficulties in treating such diseases require the necessity of seeking for new appoaches.

In connection with this fact we have worked out the method of obtaining the extract from cryopreserved pig spleen fragments. It was stated, that due to using polyethylene oxides as cryoprotectants under fragments cryopreservation, the extract contains more biological active substances (polypeptides, nucleotides), than the one from native material. It was also shown that the extract polypeptides effectively bind to membranes of liposomes and intact cells according to competitive mechanism. Thus, the obtained preparation is supposed to have a sufficient biological activity.

The clinical efficiency of endobronchial injection of the extract under complex conservative treatment of patients with lung abscesses has been studied. It was shown that endobronchial injection of the extract during treatment of this pathology statistically improves the clinical passing of disease and decreases the number of chronic cases.

Besides, we observed the restoring or tendency to statistically significant recovering of specific and non-specific immunity indexes of bronchi and lungs defence with shorter period of rehabilitation and higher amount of standardized indexes in comparison with the control patients groups.

ПОЛУЧЕНИЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ СИНТЕТИЧЕСКОГО И ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ И СОЗДАНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ИХ ОСНОВЕ

Георгиевский В.П., Шеин А.Т., Чайка Л.А., Бутенко И.Г., Казаринов Н.А., Сухинин В.Н.

Государственный научный центр лекарственных средств (ГНЦЛС)

Одним из направлений научно-исследовательской деятельности ГНЦЛС является получение соединений на основе индивидуальных биологически активных веществ синтетического и природного происхождения с основными аминокислотами. Характерным свойством полученных соединений является их хорошая растворимость в воде, что позволяет значительно повысить биодоступность исходных биологически активных веществ, а также расширить спектр терапевтических эффектов.

Были получены новые соединения на основе аминокислот L- и DL-лизина, L-гистидина, L-аргинина и биологически активных веществ - ацетилсалициловой кислоты, индометацина, глутаминовой кислоты, байкалина - флавонового глюкоронида, основного компонента корней шлемника байкальского, и эсцина - тритерпенового гликозида, полученного из семян каштана конского.

Исследования по изучению строения этих соединений с использованием таких спектральных методов как ИК-, ПМР-, УФ-спектроскопия, показали, что полученные соединения представляют собой соли, катионом в которых является аминокислота, а анионом - ацетилсалициловая и глутаминовая кислоты, индометацин, байкалин и эсцин. На основании элементарного анализа установлено, что компоненты соли находятся в эквимолекулярных соотношениях. Это же подтверждается и при изучении полученных соединений методом ВЭЖХ. Способы получения аминокислотных производных биологически активных соединений и их лекарственных форм защищены патентами Украины и России.

На основе полученных соединений разработаны, прошли весь цикл доклинических и клинических испытаний и рекомендованы к медицинскому применению 11 препаратов разной направленности действия, из которых 5 серийно выпускаются заводами Украины: Ацелизин для инъекций и гель Далацин (АО “Киевмедпрепарат”), 0,1% раствор L-лизина эсцината (АО “Галычфарм”), Глутаргин - таблетки и раствор для инъекций (ООО компания “Здоровье”), а остальные находятся на стадии внедрения в производство.

RECEIPT OF AMINO ACID DERIVATIVE BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS OF SYNTHETIC AND NATURAL ORIGIN AND CREATION OF MEDICINES ON THEIR BASE

Georgievskiy V.P., Shein A.T., Chaika L.A., Butenko I.G., Kazarinov N.A., Sukhinin V.N.

State Scientific Centre of Drugs (SSCD)

One of the directions of research activity SSCD is receipt of compounds on base of individual biologically active compounds of synthetic and natural origin with basic amino acids. Typical property of obtained compounds is their good solubility in water, that allows considerably to raise bioliability of initial biologically active matters, and also to broaden a spectrum of therapeutic effects.

The new compounds were obtained on base of amino acid L- and DL-lysine, L-gistidine, L-arginine and biologically active matters - acetylsalicylic acid, indometacin,, glutamine acid, baikaline from flavonic glucoronide, the basic component of roots shlemnike baicalic, and aescine from glicozide tripleterpene, obtained from seeds horsy chestnut.

Research the structure of these compounds with using such spectral methods as IR spectrophotometry, NMR, UV spectrophotometry, showed that the obtained compounds were salts, in which amino acid is cation, acetylsalicylic and glutamine acids, indometacin, байкалин and эсцин are anions. On base of elementary analysis were established, that the salt components are in equimolecular correlations. This statement is confirmed by study of obtained compounds by liquid chromatography. Means of receipt amino acid derivative biologically active compounds and their medicines are defended by Ukraine and Russia patents.

On base of obtained compounds 11 medicines of different action orientation from which 5 serially are producing by Ukraine pharmaceutical plants: Acelyzine for injections and gel Dalacine (JCC “Kievmedpreparat"), 0,1% L-lysine aescinate solution (JCC “Galuchfarm"), Glutargine in tablets and solution for injections (JCC “Zdorovye") , were developed and walked for all cycle clinical and clinical trials and recommended to medical application and the rest now are on inculcation stage to production.

«КРИОКОРД - С» - БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНАЯ КРИОКОНСЕРВИРОВАННАЯ СЫВОРОТКА КОРДОВОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА.

В.И.Грищенко, О.В.Липина, О.С.Прокопюк, Ю.А.Мошко, И.Б.Мусатова

Уникальные состав и свойства кордовой (плацентарной) крови и ее компонентов (плазмы и сыворотки) обусловили их активное использование в биотехнологических программах. Плазма и сыворотка кордовой крови содержат комплекс репродуктивных иммуномодуляторов, весь спектр гормонов, присущих организму новорожденного, факторы роста и антипролиферативные факторы, гемопоэтины и адаптогены, опиоидные пептиды, микроэлементы и витамины. Сберечь биоактивные соединения в нативном состоянии и физиологическом соотношении позволяет низкотемпературное консервирование.

В Институте проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины нами была разработана уникальная биотехнология заготовки и низкотемпературного консервирования сыворотки кордовой крови. Препарат стерильной криоконсервированной сыворотки кордовой крови человека – «Криокорд - С» защищен Декларационным патентом Украины.

В результате научных исследований было установлено, что «Криокорд - С» может храниться в условиях умеренно низких температур (-18 - -20^0 С) до 6-8 месяцев, глубокое замораживание в жидком азоте (-196^0 С) позволяет хранить сыворотку кордовой крови длительное время – до 15 лет.

Биоактивные компоненты криоконсервированной сыворотки кордовой крови человека обусловливают эффективность применения «Криокорда - С» при нарушениях гормонального баланса, хронических воспалительных процессах, бесплодии, нарушениях процессов репарации для ускорения заживления ран, пролежней, язв, послеоперационных состояних, иммунологическом дефиците, преждевременном старении, инфантильности, астенизации, депрессивных состояниях, половых расстройствах у мужчин и женщин, патологическом климаксе, полиартрите, синдроме хронической усталости. В частности, «Криокорд - С» имеет выраженёную клиническую эффективность при лечении хронических неспецифических сальпингоофоритов (группу больных составляли 74 женщины). При этом наблюдался стойкий анальгизирующий и противовоспалительный эффект, а также, что особенно важно, нормализация нарушенных функций иммунной системы больных, восстановление овуляции.

"CRYOCORD-S" IS A BIOLOGICALLY ACTIVE CRYOPRESERVED SERUM OF HUMAN CORD BLOOD

V.I. Grischenko, O.V. Lipina, O.S. Prokopyuk, Yu.A. Moshko, I.B. Musatova

Unique composition and properties of cord (placental) blood and its components (plasm and serum) stipulated their active usage in biotechnological programs. Cord blood plasm and serum contain the complex of reproductive immunomodulators, all spectrum of hormones, inherent to a newborn's organism, growth factors and antiproliferative factors, hemopoietins and adaptogens, opioid peptides, microelements and vitamins. Preservation of bioactive compounds in native state and physiological ratio is achieved due to the low temperature preservation.

At the Institute for Problems of Cryobiology & Cryomedicine of the National Academy of Sciences of the Ukraine we have developed the unique biotechnology for procurement and low temperature preservation of cord blood serum. The preparation of sterile cryopreserved human cord blood serum "Cryocord-S" is protected by the Declaration Patent of Ukraine.

As a result of scientific investigations it was established, that "Cryocord-S" could be stored under conditions of moderately low temperatures (-18-20˚C) up to 6-8 months, a deep freezing into a liquid nitrogen (-196˚C) allowed to store the cord blood serum for a long time up to 15 years.

Bioactive components of cryopreserved serum of human cord blood stipulate the efficiency of the "Cryocord-S" application at the disorders of hormonal balance, chronic inflammatory processes, infertility, disorders in reparation processes for accelerating wound, decubitus, ulcer healing, post-operative states, immunological deficient, premature ageing, infantilism, asthenisation, depressive states, sexual disorders in men and women, pathological climacterium, polyarthritis, chronic fatigue syndrome. In particular, "Cryocord-S" possesses a manifested clinical efficiency when treating chronic non-specific salpingo-oophoritis (the group of patients consisted of 74 women). Thereat a resistant analgesing and anti-inflammatory effects were observed, and, that is especially important, the normalization of impaired functions in patients' immune system, ovulation recovery as well.

НОВЫЕ ТРИТЕРПЕНОРВЫЕ ГЛИКОЗИДЫ α-АМИРИНОВОГО РЯДА ИЗ ЛИСТЬЕВ Cussonia paniculata И SCHEFFLEROPSIS ANGKAE

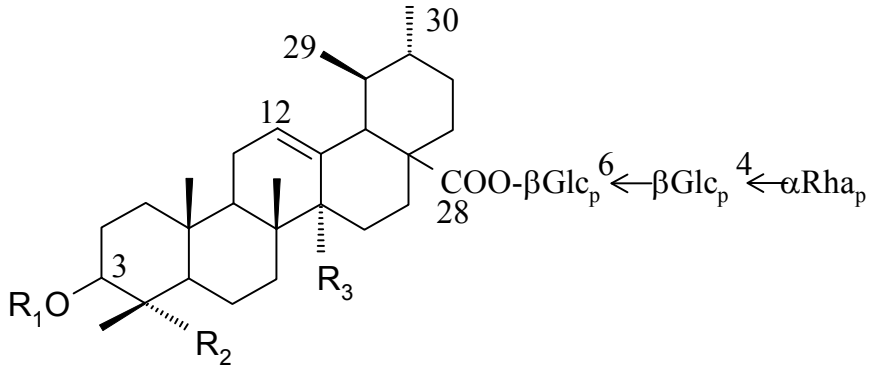
В.И. Гришковец

Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского

Cussonia paniculata Eckl. et Zeyh. (Araliaceae) широко распространена на Мадагаскаре и ранее не изучалась. Ее листья богаты тритерпеновыми гликозидами. Из этанольного экстракта листьев с использованием обычных хроматографических методов было выделено более 20 индивидуальных гликозидов β-амиринового типа – производных олеаноловой кислоты и хедерагенина. Однако один из основных тритерпеновых гликозидов является новым гликозидом α-амиринового типа - 28-O-α-L-рамнопиранозил-(1→4)-O-β-D-глюкопиранозил-(1→6)-O-β-D-глюкопиранозиловым эфиром 23-гидроксиурс-12-ен-28-овой кислоты (1). Структура этого гликозида была установлена на основе сравнения химических сдвигов сигналов в спектре ЯМР-^{13}C с литературными данными для соответствующих углеводной и агликонной частей и дополнительно подтверждена различными методиками ЯМР (^{1}H, ^{13}C, COSY, HETCOSY, ROESY, HSQC и HMBC).

Scheffleropsis angkae (Craib.) Grushv. et N. Skvorts. – другое растение из семейства Araliaceae, произрастающее в тропических районах Юго-Восточной Азии. Тритерпеновые гликозиды из листьев этого растения были экстрагированы 80%-ным изопропиловым спиртом и разделены препаративной хроматографией на силикагеле. Один из выделенных гликозидов также является новым гликозидом α-амиринового типа. Структуры углеводных частей этого гликозида и их положение были установлены с использованием различных методов ЯМР (^{1}H, ^{13}C, ^{13}C-APT, COSY, HSQC, HMBC и ROESY) и представляют собой 3-O-α-L-арабинопиранозильный и 28-O-α-L-рамнопиранозил-(1→4)-O-β-D-глюкопиранозил-(1→6)-O-β-D-глюкопиранозильный фрагменты. Анализ спектра. ^{13}C-ЯМР с APT-редактированием позволил установить принадлежность агликона к α-амириновому типу и показал наличие дополнительной первичноспиртовой гидроксильной группы в сравнении с урсоловой кислотой. Нахождение этой группы у C-27 атома агликона доказано на основе кросс-пиков Cα-протонов с атомами H-7a, H-9, H-16a, H-19 и H-22e в 2D ROESY-спектре. Окончательно полная структура этого

гликозида установлена как 3-O-α-L-арабинопиранозил-28-O-α-L-рамнопиранозил-(1→4)-O-β-D-глюкопиранозил-(1→6)-O-β-D-глюкопиранозид 27-гидроксиурсоловой кислоты (2).



R_1=H, R_2=CH_2OH, R_3=CH_3
R_1=α-Arap, R_2=H, R_3=CH_2OH

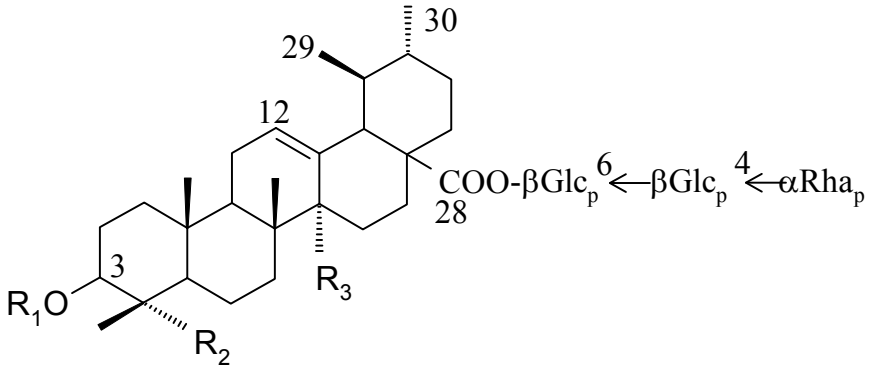
NEW α-AMYRIN TYPE TRITERPENE GLYCOSIDES FROM CUSSONIA PANICULATA AND SCHEFFLEROPSIS ANGKAE LEAVES

Vladimir I.Grishkovets

Department of Organic Chemistry, V.I. Vernadsky Taurida national university

Cussonia paniculata Eckl. et Zeyh. (Araliaceae) is widespread in Madagaskar and was not studied earlier. Its leaves are rich in triterpene glycosides. From the leaves ethanol extract using usual chromatographic methods more then 20 individual β-amyrin type glycosides of oleanolic acid and hederagenin were isolated. However, one of the main triterpene glycosides is a new α-amyrin type glycoside - 28-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-O-β-D-glucopyranosyl ester of 23-hydroxyurs-12-en-28-oic acid (1). The structure of this glycoside was determined on the basis of comparison of 13C-chemical shifts with literature data for relative carbohydrate and glycon parts and supported by various NMR methods (^{1}H, ^{13}C, COSY, HETCOSY, ROESY, HSQC and HMBC).

Scheffleropsis angkae (Craib.) Grushv. et N. Skvorts., an other plant of Araliaceae family grows in tropical regions of South-East Asia. Triterpene glycosides from leaves of this plant were extracted by 80% 2-propanol and separated by SiO2-column chromatography. One of isolated glycosides is also new α-amyrin type glycoside. Structures of carbohydrate chains of this glycoside and their locations were determined by use of different NMR methods (^{1}H, ^{13}C, ^{13}C-APT, COSY, HSQC, HMBC and ROESY) and are 3-O-α-L-arabinopyranosyl- and 28-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-O-β-D-glucopyranosyl fragments. Analysis of ^{13}C-APT spectrum let us to reveal that gglycon part belongs to α-amyrin type and showed the presence of additional primary hydroxyl group in comparison with ursolic acid. Location of this group at C-27 atom was suggested on the basis of Cα-protons cross-peaks with H-7a, H-9, H-16a, H-19 and H-22e in the 2D ROESY spectrum. Finally the complete structure of this glycoside was established as 3-O-α-L-arabinopyranosyl-28-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-O-β-D-glucopyranosyde of 27-hydroxyursolic acid (2).



R_1=H, R_2=CH_2OH, R_3=CH_3
R_1=α-Arap, R_2=H, R_3=CH_2OH

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕУКОМИЗИНА В СЫРЬЕ ARTEMISIA LEUCODES SCHRENK. МЕТОДОМ ВЭЖХ.

Ивасенко С.А., Талжанов Н.А., Рахимова Б.Б., Ишмуратова М.Ю., Кулыясов А.Т., Адекенов С.М.

Институт фитохимии МОН Республики Казахстан
E-mail: arglabin@mail.krg.kz

Комплексное фитохимическое использование растительного сырья, богатого вторичными метаболитами является одним из основных направлений исследований Института фитохимии (г.Караганда). Artemisia leucodes Schrenk (семейство Asteraceae, секция Junceum), один из перспективных видов сырья, широко распространенный на территории Казахстана, является источником сесквитерпенового лактона леукомизина (1) показавшего в ходе скрининговых испытаний гипохолестеринемическую и антиатеросклеротическую активность /1-2/.

В связи с этим нами проведено исследование количественного содержания леукомизина в сырье Artemisia leucodes методом ВЭЖХ, в зависимости от места произрастания. Объектом исследований являлась полынь беловатая (Artemisia leucodes Schrenk), образцы для анализа (надземная часть полыни) собирали в период бутонизации в окрестностях Капчагайского вдхр. (Алматинская обл.) и пустыне Мойынкум (Жамбылская обл.).

Установлено, что содержание леукомизина в образце собранном в окрестностях Капчагайского вдхр. (Алматинской обл.) составляет 0,23%, в образце собранном в пустыне Мойынкум (Жамбылская обл.) – 0,50%, в пересчете на воздушно-сухое сырье.

Проведенные исследования показали, что в образцах, собранных в различных местах произрастания, содержание леукомизина существенно отличается. Наиболее перспективным сырьем для наработки леукомизина является полынь беловатая(Artemisia leucodes Schrenk) собранная в пустыне Мойынкум (Жамбылская обл.).

Методика количественного определения леукомизина методом ВЭЖХ является оптимальной для стандартизации сырья.

Литература:

Рахманкулов У., Касымов С. З., Тайжанов К., Короткова Е.Е., Сидякин Г. П. Присутствие γ-лактонов в видах семейства сложноцветных флоры Центральной Азии . Растит. Ресурсы, 15 : 79-89 (1979)

Шамьянов И. Д., Сагидулаев Ш.Ш., Арипов Х. Н. Химическое изучение отходов производства атеросклеротического припората «Олигвон».// Тезис 3-го Международного Симпозиума по химии природных соединений. Бухара 1998. С.33.

THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF LEUCOMISIN IN RAW MATERIAL ARTEMISIA LEUCODES SCHRENK BY HPLC.

Ivsenko S.A., Talzhanov N.A., Pakhimova B.B., Ishmuratova M.Yu., Kulyyasov A.T., Adekenov S.M.

Institute of Phytochemistry of MES of Kzakhstan Republic

Complex phytochemical use of vegetable raw materials, rich with secondary metabolites is one of the main trends of the studies of the Phytochemistry Institute (Karaganda c.).

Sesquiterpene lacton leucomisin, isolated from aerial parts of Artemisia leucodes Schrenk (the family Asteraceae, section Junceum) revealed hypolipidemic and antiatherosclerotic activity /1-2/.

In connection with this we investigated quantitative contents of leucomisin in plant material Artemisia leucodes collected in different places, using HPLC method. The plant material was collected during the budding season in the vicinity of Kapchagay reservoir (Almaty region) and Moyunkum desert (Zhambyl region).

As a result of our investigations it was established, contents of leucomisin in sample collected in vicinity of Kapchagay reservoir forms 0,23%, and in sample collected in Moyunkum desert - 0,50%, in recalculation on air-dry plant material.

These examinations revealed that in samples collected in different places contents of leucomisin greatly differs and the most perspective as a raw material is Artemisia leucodes collected in Moyunkum desert.

The HPLC method of quantitative determination of leucomisin is optimal for standardization of plant material.

References

1. Rahmankulov U., Kasimov S. Z., Tayzhnov K., Korotkova E.E., Sidakin G. P.

Contents of γ-lactones in species of Asteraceae family of Central Asia flora.// Plant Resources, 15, 79-89 (1979).

2. Shamyanov I. D., Sagidullaev Sh. Sh., Aripov Kh. N. Chemical investigation of waste of antiatherosclerotic drug «Oligvon» production // Abs.of 3-d Intern.Symposium on the chemistry of natural compounds. Bukhara.1998. P.33

БІОТЕХНОЛОГІЯ ОТРИМАННЯ ВТОРИННИХ МЕТАБОЛІТІВ ІЗ ГЕНЕТИЧНО-ТРАНСФОРМОВАНИХ КЛІТИН РОСЛИН GLYCYRRHIZA

Коваленко П.Г., Малюта С.С.

Відділ молекулярної генетики, ІМБіГ НАНУ
e-mail: malyuta@imbg.org.ua

Лікарська рослина солодець (Glycyrrhiza sp.) є важливим комерційним продуктом, метаболіти якої використовують у фармакології. Корінь солодцю містить у собі природний підсолоджувач (тритерпеновий сапонін- гліцризин, який є замінником цукру з лікувальним ефектом для хворих на діабет із цукровим еквівалентом 50).

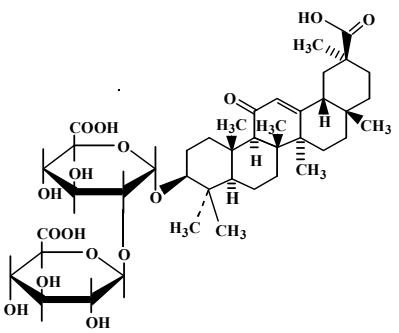
Дуже важливими є також такі метаболіти як: гліцирризинова та гліциретова кислоти, тритерпенові сполуки, флавоноїди, які є біологічно активними інгредієнтами протизапальної дії, і ефективними засобами проти алергії, гепатиту, цукрового діабету та радіопротектори організму. Також в Європейській фармацевтичній індустрії, метаболіти із кореня солодцю використовують як проти виразкові й антилейкемічні засоби. Цей вид рослин містить також значну кількість сапонінів та флавоноїдів та більш ніж 100 різних біоактивних інградієнтів.

З цією метою використовують культуру клітин та ізольованих кореневих сегментів із послідуючою генетичною трансформацією клітин за допомогою плазмід, що дають поштовх до збільшеного виходу метаболітів.

В культурі in vitro підібрані поживні середовища для мікроклонального розмноження, а також оптимізовані поживні середовища для калусної та суспензійної культур. Оптимального приросту біомаси вдалося досягти при використанні збагачениз поживних середовищ та еліситорів (дріжджового екстракту та сумарних метаболітів, що були отримані із грибів ендофітної мікоризи Panax ginseng). При використанні таких збагачених поживних середовищ вдалося стимулювати в культурі синтез сполук фенольної природи.

З метою збільшення виходу вторинних метаболітів, нами був застосований метод генетичної трансформації за допомогою Ri-плазмід агробактерій (Agrobacterium rhizogenes , штами LBA 9402 та 8196), та A.tumefaciens (pRiA4/pBI121). Експлантати інокулювали рідким MS рідким поживним середовищем з суспензією агробактерій в розведеннях (1:1;1:5;1:10;1:20). Культуру “hairy roots”, було отримано на молодих стеблах та листках при використанні штамів агробактерій LBA 9402 і 8196. В рідкому поживному середовищі на 30 день культивування культури коренів G.uralensis, вдалося ідентифікувати гліцирризинову кислоту (Мал.1), 4.5% в перерахунку на суху біомасу.

У трансформованих кореневих сегментах G.glabra і G.echinata сумарний вміст флавоноїдів складав 3.42 гр/л, в порівнянні з контролем (0.2 гр/л). За допомогою тонкошарової хроматографії вдалося ідентифікувати 2 флавоноїди (ліквиритигенін та ліквиритіген).



BIOTECHNOLOGY OF EXTRACTION OF SECONDARY METABOLITES PRODUCTION FROM LICORICE Glycyrrhiza species

P. G.Kovalenko,S.S.Maliuta

Department of Molecular Genetic, Institute of Molecular biology & Genetic, NAS of Ukraine
e-mail: malyuta@imbg.org.ua

The pharmaceutically important plant species of Glycyrrhiza sp. (called licorice) is an important commercial product used as a natural sweetener, anti-inflammatory, and anti-diabetic agents. Also in Europe it has been utilized in the pharmaceutical industry for its antiulcerative activities. This plant contains a large amount of saponins and flavonoids. However, the roots of Glycyrrhiza have been shown to contain than 100 other bioactive compounds and espicially as a antileukemic inductors. For this purpose, usage of biotechnological and genetic engineering manipulations will be very important to improve quality of secondary metabolites production. Apical and axillary buds of licorice, were used for induction of adventitious shoots, and for induction of multiple shoots, modified Murashige and Skoog (MS) medium with N6 –benzyladenine was used.

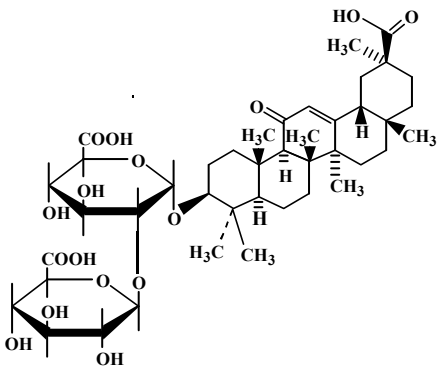
Have been initiated callus and suspension culture. Addition of elicitors (yeast extract and bioextract of fungal mycelia isolated from Panax ginseng) to cell cultures, were shown the induce of phenolics, including flavonoids.

Explants were immersed in Agrobacterium diluted 1:1 (v:v) with liquid MS medium [1:5; 1:10 and 1:20 (v:v)]. Cultures were incubated in the dark. Production of hairy roots was observed on the leaf and petiole explants from cultivated plants when inoculated with A. rhizogenes strain 8196 alone or in combination with acetosyringone. Opine analysis of the cultures was performed according the method of Han et al.(1994). Expression of the gus reporter gene was detected on the explants from in vitro seedlings and inoculated with strains R1000 of A. tumefaciens. Furthermore, these explants have been produced hairy roots when inoculated with LBA 9402, and 8196 of A. rhizogenes. However, the transformed roots via R1000, were slow–growing (0.03-0.07 cm/day) but now branching on the plating medium. The transformed roots were identified as hairy roots.

The present studies demonstrated that Glycyrrhiza species is highly sensetive to Agrobacterium-mediated transformation, and especially when used a supervirulent Agrobacterium rhizogenes strains.

According to tentative analyses the hairy roots cultures of Glycyrrhiza species produced liquiritigenin and liquiritigen. More high levels (3.42 g/l) of the total flavonoids production have been identificated on the strains which transformed by LBA 9402 , in comparison with non transformed control (0.2 g/l).

Agrobacterium-mediated transformation studies of Glycyrrhiza specie have been limited to date. In the present study, two strains of A. rhizogenes (LBA9402, 8196) and A. tumefaciens R1000(pRiA4/pBI121) were used to infect different organs and tissues of Glycyrrhiza species in order to evaluate whether Agrobacterium could be used for gene transfer in this species. Aerial parts (young leaves and petioles) were inoculated by Agrobacterium strains.The transformed hairy roots of G.uralensis were obtained by infection of A.rhizogenes 8196 either in aseptically grown plantlets. One of the established liquid culture lines produced glycyrrhizin (Fig.1) at an yield of 4.5% dry weight on the period of culture as a 30 days.



БИОГЛОБИН – ОТЕЧЕСТВЕННЫЙ БИОНОРМАЛИЗАТТОР ИЗ ЧЕЛОВЕЧЕСКОЙ ПЛАЦЕНТЫ: ТЕХНИЧЕСКИЕ И МЕДИЦИНСКИЕ АСПЕКТЫ.

Козин Ю.И., Шитов Г.Г., Россихин В.В., Бухмин А.В.

Важнейшей проблемой профилактики и лечения большинства заболеваний отдельных органов и систем является восстановление их естественного метаболизма. В 90-х годах была разработана технология окисления и очистки водорастворимых полипептидов из плаценты человека и животных (свиней), содержащих в своем составе аминокислоты в окисленной стабильной форме (типа оксипролин, оксилизин), микроэлементы, без содержания белков и гормонов [1]. Отечественный препарат получил название «Биоглобин»[2], не вызывает аллергических реакций, обладает низкой токсичностью и проявляет в клинике полифункциональное фармакологическое действие: хондропротекторное, противовоспалительное, репаративное, иммунотропное, антиоксидантное, антимутагенное, антисрессовое, антикоагулянтное, антилитопротекторное. Препарат выпускается в виде питьевой формы, парентеральных инъекций, прямокишечных свечей и широко используется в клинической практике с 1987 года. Превосходит по эффективности зарубежный «Румалон» и «Раверон». Лечение биоглобином получили 6782 больных с разнообразной патологией. Высокие лекарственные свойства биоглобина позволяют считать его эффективным отечественным бионормализатором, доступным нашим пациентам [3,4].

Литература

1. *Патент РФ N2036650 «Способ получения биогенного стимулятора». Авт. Г.Г. Шитов. Приоритет от 5 апреля, 1991 года.*

2. *Положительное решение Госдепартамента интеллектуальной собственности Украины на заявку Г.Г. Шитова N 2001117381 от 19.11.2001 «Биоглобин».*

3. *Фармакотерапевтическая эффективность биоглобина как бионормализатора / Материалы научно-практической конференции, 29 сент., 2000 года., 80 с.*

4. *Научное и практическое значениек биоглобина в медицине как бионормализатора / Материалы научно-практической конференции, 19 сент., 2001 года., 74 с.*

ИЗУЧЕНИЕ БЕЗВРЕДНОСТИ ОБЛЕПИХОВО-ГВОЗДИЧНОГО МАСЛА, ПОЛУЧЕННОГО РАЗНЫМИ ТЕХНОЛОГИЯМИ (ЭКСТРАКЦИЯ ХЛАДОНОМ,УГЛЕКИСЛОТОЙ,ОРГАНИЧЕСКИ-МИ РАСТВОРИТЕЛЯМИ)

Липкан Г.Н.,Олейник Е.А.

Київська медична академія післядипломної освіти(КМАПО) ім.П.Л.Шупика
e-mail: rovalenko@gbe-ukraine.com

На кафедре клинической лабораторной диагностики КМАПО на протяжении последних 10 лет проводится научная работа по изучению биологического действия различных новых растительных масел, получаемых из сухого растительного жмыха (бархатцевого,облепихового,облепихово-гвоздичного,облепихового,обогащенного ко-ординационными соединениями биометаллов,черносмородинового и др.). Масла получали различными хорошо известными технологиями,которые применяются в промышленном производстве:1) хладоном-12 на установке для экстракции сжиженными газами (Кудрицкая С.Е.,1990; Ветров П.П ,1983;Ветров П.П. и др., 1981). 2) Экстракцией углекислотой (Касьянов Г.И.,1977); 3) Экстракцией органическими растворителями хлороформом,гексаном и др., с последующей отгонкой их на вакуум-установке. Все изучаемые масла являются каротинсодержащими. Облепихово-гвоздичное масло обладает ценными лечебно-профилактическими эффектами при его применении месячными курсами.Несмотря на то,что бутоны цветков гвоздичного дерева (гвоздика) являются привозным сырьем (в Украине гвоздичное дерево не произрастает), Гарник Т.П. и др. (1998) относят гвоздику к перспективному лекарственному растительному сырью.Гвоздичное масло обладает рядом важных фармакодинамических эффектов. В научной литературе есть данные об увспешном лечении больных острой дизентерией экстрактом гвоздики (Цынкаловский И.Б. и др.,1973). Проведены исследования, свидетельствующие о гепатопротекторном действии гвоздичного масла и его составной части эвгенола (Pulla R.A.C.,Lokesh B.R.,1996). В стоматологии с лечебной целью используется эфирное гвоздичное масло в качестве антисептического средства. С этой же целью употребляется также чистый эвгенол. Кривенчук П.Е.

(1993) в Российской Федерации запантентовал новое лекарственное средство, включающее гвоздичное масло. Мы получсили комплексное облепихово-гвоздичное масло,которое обладает фармакологическими эффектами его составных частей.

Стандартизация лечебно-профилактической дозы проводилась по концентрации каротина.Полученные масла при изучении лечебно-профилактического действия вводили на протяжении месяца в дозе 10 мг/кг (курсовая доза составляла 300 мг/кг). Хроническую токсичность масел изучали на кроликах при четырехмесячном введении облепихово-гвоздичного масла в дозе, в 5 и 10 раз превышающей терапевтическую при пероральном введении. Таким образом курсовая введенная на протяжении четырех месяцев доза составляла 6000 и 12000 мг/кг массы в пересчете на каротин. У животных каждый месяц определяли формулу крови,количество форменных элементов,показатели свертывания крови, активность ферментов – органоспецифического фермента печени сорбитолдегидрогеназы, аланинаминотрансферазы,аспартатаминотрансферазы, глюкозу крови, концентрацию мочевины,креатинина и др. биохимические показатели. Через 4 месяца животных забивали и определяли помимо биохимических показателей крови – активность тканевых факторов крови, мочевину тканей.

Проведенные исследования показали, что изученные облепихово-гвоздичные масла безвредны для животного организма и не вызывают существенных патологических нарушений изучаемых показателей.

СОВРЕМЕННЫЕ КРИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПЕРЕРАБОТКИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Осецкий А.И., Подольский А.Г., Россихин В.В.
e-mail: rovalenko@gbe-ukraine.com

В настоящее время наметилась тенденция массового использования поливитаминных лекарственных перапаратов для коррекции витаминной и минералоэлементарной недостаточности. Вместе с тем. подобный подход не есть единственно эффективный.

Натуральные криосублимационные порошки ягод, овощей и фруктов, изготовленных по криогенным технологиям, содержат практически полный набор важнейших витаминов и микроэлементов в биологически сбалансированных пропорциях .

Полученные с помощью криогенно-вакуумной технологии пищевые добавки (61 наименование) во много раз эффективнее искусственно синтезированных поливитаминных препаратов, не имеют противопоказаний и особенно рекомендуются детям, беременным, пожилым людям, а также контингентам, имеющим длительные физические и нервно-психические нагрузки.

Разработанная технология (двухкаскадное десублимирование с использованием жидкого азота – установка «КП-200») успешно используется для извлечения высокоактивных растительных масел (37 наименований), БАВ из человеческой плаценты [1,2,3]. Новым и высокобиоактивным веществом явилась отгоночная растительная криосублимационная жидкость [4].

Литература:

1. Патент на изобретение N 23496 A (Украина). Способ обработки фруктово-ягодного сырья. Авт.: А.И. Осецкий, Т.М. Гурина. От 02.06.98.

2. Декларативный патент на изобретение (Украина) N 30523. Способ криосублимационного фракционирования сырья растительного и биологического происхождения. Авт.: А.И. Осецкий, Т.М. Гурина. От 29.12.99., Бюл. 8.

3. Декларативный патент на изобретение (Украина) N 30523. Способ получения биологически активной экстракции из растительного сырья. Авт.: А.И. Осецкий, Э.Ф. Дзюбенко. 15.12.2000., Бюл. 7-11.

4. Подольский А.Г., Осецкий А.И. Современные криобиологические технологии переработки растительного сырья. криоконсервация пищевых продуктов, получение биологически активных пищевых добавок. косметических и лекарственных препаратов. Оборудование. Анализ: Справочное пособие – Харьков: НТУ «ХПИ». 2001. – 311 с.

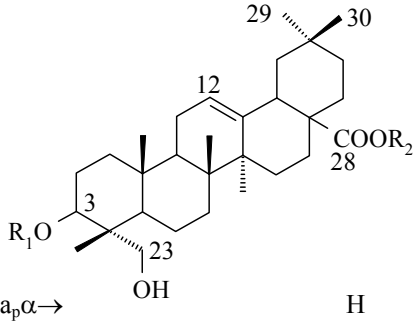
НОВЫЕ И ИЗВЕСТНЫЕ ТРИТЕРПЕНОВЫЕ ГЛИКОЗИДЫ ИЗ ЛИСТЬЕВ КАЛОПАНАКСА KALOPANAX PICTUS ИНТРОДУЦИРОВАННОГО В КРЫМУ

Е.А. Палий[а], В.И. Гришковец[а], В.В. Качала[б], А.С. Шашков

[а)] Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского
[б)] Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН

e-mail: invite@tnu.crimea.ua;

Kalopanax pictus (Thunb.) Nakai (Araliaceae), широко распространеный в Китае и на Тайване, богат тритерпеновыми гликозидами. Однако лишь несколько тритерпеновых гликозидов было выделено из листьев этого растения ранее [1]. Мы выделили более чем 20 тритерпеновых гликозидов из листьев Kalopanax pictus f. Maximowiczii (Van Houtte) Hara , успешно интродуцированного в Никитском Ботаническом Саду (Крым, Украина). Тритерпеновые гликозиды экстрагировались 80%-ным изопропиловым спиртом и были разделены препаративной хроматографией на силикагеле при элюировании системой растворителей хлороформ-этанол-вода. В результате были получены 12 чистых индивидуальных тритерпеновых гликозида. Их полные структуры были установлены на основе химических методов (аммонолиз, щелочной, кислотный и ферментативный гидролизы), путем идентификации продуктов расщепления с помощью тонкослойнойц хроматографии и на основе различных вариантов одно– и двумерной ^{1}H и ^{13}C-ЯМР спектроскопии (COSY, TOCSY, ROESY, HSQC and HMBC). Некоторые из выделенных гликозидов (1-4) являются монодесмозидными, а другие (5-12) - бисдесмозидными гликозидами хедерагенина (3β,23-дигидроксиолеан-12-ен-28-овой кислоты). Структуры выделенных гликозидов приведены ниже. Гликозиды 4, 8, 11 и 12 - новые сапонины.



	R_1	R_2
1	$Ara_p\alpha\rightarrow$	H
2	$Rha_p\alpha\rightarrow{}^{2}Ara_p\alpha\rightarrow$	H
3	$Xyl_p\beta\rightarrow{}^{3}Rha_p\alpha\rightarrow{}^{2}Ara_p\alpha\rightarrow$	H
4	$Glc_p\beta\rightarrow{}^{4}Xyl_p\beta\rightarrow{}^{3}Rha_p\alpha\rightarrow{}^{2}Ara_p\alpha\rightarrow$	H
5	$Ara_p\alpha\rightarrow$	$\leftarrow\beta Glc_p{}^{6}\leftarrow\beta Glc_p{}^{4}\leftarrow\alpha Rhap$
6	$Rha_p\alpha\rightarrow{}^{2}Ara_p\alpha\rightarrow$	$\leftarrow\beta Glc_p{}^{6}\leftarrow\beta Glc_p{}^{4}\leftarrow\alpha Rhap$
7	$Xyl_p\beta\rightarrow{}^{3}Rha_p\alpha\rightarrow{}^{2}Ara_p\alpha\rightarrow$	$\leftarrow\beta Glc_p{}^{6}\leftarrow\beta Glc_p{}^{4}\leftarrow\alpha Rhap$
8	$Glc_p\beta\rightarrow{}^{4}Xyl_p\beta\rightarrow{}^{3}Rha_p\alpha\rightarrow{}^{2}Ara_p\alpha\rightarrow$	$\leftarrow\beta Glc_p{}^{6}\leftarrow\beta Glc_p{}^{4}\leftarrow\alpha Rhap$
9	$Ara_p\alpha\rightarrow$	$\leftarrow\beta Glc_p{}^{6}\leftarrow(6\text{-}OAc\text{-}\beta Glc_p)^{4}\leftarrow\alpha Rha_p$
10	$Rha_p\alpha\rightarrow{}^{2}Ara_p\alpha\rightarrow$	$\leftarrow\beta Glc_p{}^{6}\leftarrow(6\text{-}OAc\text{-}\beta Glc_p)^{4}\leftarrow\alpha Rha_p$
11	$Xyl_p\beta\rightarrow{}^{3}Rha_p\alpha\rightarrow{}^{2}Ara_p\alpha\rightarrow$	$\leftarrow\beta Glc_p{}^{6}\leftarrow(6\text{-}OAc\text{-}\beta Glc_p)^{4}\leftarrow\alpha Rha_p$
12	$Glc_p\beta\rightarrow{}^{4}Xyl_p\beta\rightarrow{}^{3}Rha_p\alpha\rightarrow{}^{2}Ara_p\alpha\rightarrow$	$\leftarrow\beta Glc_p{}^{6}\leftarrow(6\text{-}OAc\text{-}\beta Glc_p)^{4}\leftarrow\alpha Rha_p$

[1] Shao C.-J., Kasai R., Ohtani K., Tanaka O., Kohda H. Chem. Pharm. Bull., 38 (1990), 1087-1089.

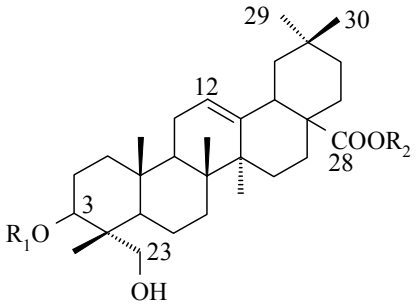
NEW AND KNOWN TRITERPENE GLYCOSIDES FROM LEAVES OF KALOPANAX PICTUS INTRODUCED IN CRIMEA

Yegor A. Paliy[a], Vladimir I. Grishkovets[a], Vadim V. Kachala, Alexander S. Shashkov[b]

[a] V.I. Vernadsky Taurida national university
[b] N.D. Zelinsky institute of organic chemistry

e-mail: invite@tnu.crimea.ua.

Kalopanax pictus (Thunb.) Nakai (Araliaceae) widespread in Taiwan and China is rich in triterpene glycosides. Only few triterpene glycosides were isolated from leaves of this plant earlier [1]. We have isolated more than 20 triterpene glycosides from leaves of Kalopanax pictus f. Maximowiczii (Van Houtte) Hara successfully introduced in Nikita State Botanical Garden (Crimea, Ukraine) Triterpene glycosides were extracted with 80% 2-propanol. Glycosides were separated by column chromatography on the si lica gel with a chloroform-ethanol-water eluent and 12 individual pure compounds were obtained. Their complete structures were established on the basis of chemical methods (ammonolysis alkaline, acid and fermentative hydrolysis), thin-layer chromatography identification of degradation products and spectral data (different ^{1}H and ^{13}C-NMR spectroscopy 1D and 2D experiments - COSY, ROESY, HSQC and HMBC). Some of isolated glycosides (1-4) are monodesmoside and other are bisdesmoside glycosides of hederagenin (3β,23-dihydroxyolean-12-en-28-oic acid).The structures of isolated glycosides are given bellow. Glycosides 4, 8, 11 and 12 are new saponins.



	R_1	R_2
1	$Ara_p\alpha\rightarrow$	H
2	$Rha_p\alpha\rightarrow{}^{2}Ara_p\alpha\rightarrow$	H
3	$Xyl_p\beta\rightarrow{}^{3}Rha_p\alpha\rightarrow{}^{2}Ara_p\alpha\rightarrow$	H
4	$Glc_p\beta\rightarrow{}^{4}Xyl_p\beta\rightarrow 3Rha_p\alpha\rightarrow{}^{2}Ara_p\alpha\rightarrow$	H
5	$Ara_p\alpha\rightarrow$	$\leftarrow\beta Glc_p{}^{6}\leftarrow\beta Glc_p{}^{4}\leftarrow\alpha Rhap$
6	$Rha_p\alpha\rightarrow{}^{2}Ara_p\alpha\rightarrow$	$\leftarrow\beta Glc_p{}^{6}\leftarrow\beta Glc_p{}^{4}\leftarrow\alpha Rhap$
7	$Xyl_p\beta\rightarrow{}^{3}Rha_p\alpha\rightarrow{}^{2}Ara_p\alpha\rightarrow$	$\leftarrow\beta Glc_p{}^{6}\leftarrow\beta Glc_p{}^{4}\leftarrow\alpha Rhap$
8	$Glc_p\beta\rightarrow{}^{4}Xyl_p\beta\rightarrow{}^{3}Rha_p\alpha\rightarrow{}^{2}Ara_p\alpha\rightarrow$	$\leftarrow\beta Glc_p{}^{6}\leftarrow\beta Glc_p{}^{4}\leftarrow\alpha Rhap$
9	$Ara_p\alpha\rightarrow$	$\leftarrow\beta Glc_p{}^{6}\leftarrow(6\text{-}OAc\text{-}\beta Glcp)^{4}\leftarrow\alpha Rha_p$
10	$Rha_p\alpha\rightarrow{}^{2}Ara_p\alpha\rightarrow$	$\leftarrow\beta Glc_p{}^{6}\leftarrow(6\text{-}OAc\text{-}\beta Glcp)^{4}\leftarrow\alpha Rha_p$
11	$Xyl_p\beta\rightarrow{}^{3}Rha_p\alpha\rightarrow{}^{2}Ara_p\alpha\rightarrow$	$\leftarrow\beta Glc_p{}^{6}\leftarrow(6\text{-}OAc\text{-}\beta Glcp)^{4}\leftarrow\alpha Rha_p$
12	$Glc_p\beta\rightarrow{}^{4}Xyl_p\beta\rightarrow{}^{3}Rha_p\alpha\rightarrow{}^{2}Ara_p\alpha\rightarrow$	$\leftarrow\beta Glc_p{}^{6}\leftarrow(6\text{-}OAc\text{-}\beta Glcp)^{4}\leftarrow\alpha Rha_p$

[1] Shao C.-J., Kasai R., Ohtani K., Tanaka O., Kohda H. Chem. Pharm. Bull., 38 (1990), 1087-1089.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ТАУРОЗИДА Н2

Э.П. Панова*, В.С. Стригунов, В.И. Гришковец, Г.Н. Кацева, Н.В. Толкачева.

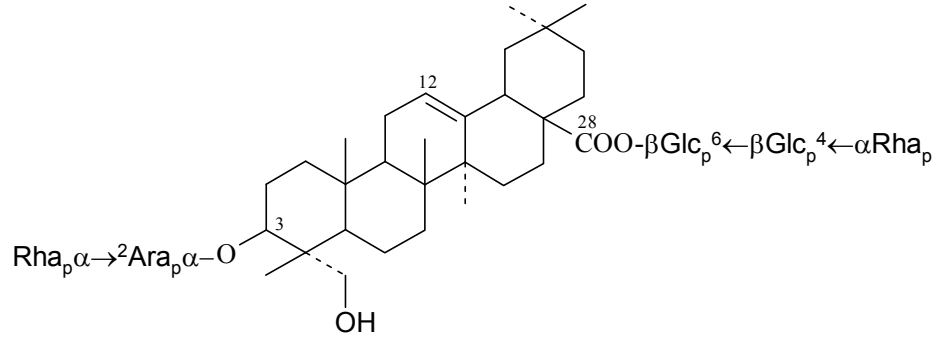
Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского

В настоящее время исследования в области получения, установления строения и изучения свойств биологически активных соединений имеют первостепенное значение. К таким соединениям относятся тритерпеновые гликозиды, применяемые в медицине.

Нами были изучены некоторые физико-химические свойства таурозида H_2, тритерпенового гликозида из крымского плюща Hedera taurica Carr. (семейство Araliaceae) [1]. Структура этого соединения была установлена как 3-O-α-L-рамнопиранозил-(1→2)-O-α-L-арабинопиранозил-28-O-α-L-рамнопиранозил-(1→4)-O-β-D-глюкопиранозил-(1→6)-O-β-D-глюкопиранозид хедерагенина. Были проведены исследования вязкости, электропроводности и критической концентрации мицеллообразования растворов таурозида H_2, а также его способности к образованию комплексов с ионами металлов. Вискозиметрические и кондуктометрические данные позволили определить критическую концентрацию мицеллообразования 0,01%.

Комплексообразующая способность таурозида H_2 была исследована с помощью метода изомолярных серий с использованием спектрофотометрического контроля (λmax 380 нм). Соотношение металл-гликозид было определено как 1:2 для ионов Cu^{2+}. Также было обнаружено, что присутствие ионов некоторых других металлов, таких как Cd^{2+}, Pb^{2+}, $^{Al3+}$ мешает образованию комплекса с ионами Cu^{2+}.

В настоящее время проводятся исследования комплексообразующей способности других тритерпеновых гликозидов из Hedera taurica Carr., Hedera canariensis Willd., Hedera colchica C. Koch., Kalopanax pictus (Thunb.) Nakai, Kalopanax septemlobus (Thunb.) Koidz., Tetrapanax payriferum C. Koch. и некоторых других видов аралиевых.



(1). Grishkovets V.I., Tolkacheva N.V., Shashkov A.S., Chirva V. Ya. Khim. Prir. Soedin.; 522-528 (1992).

STUDIES OF PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF TAUROSIDE H2

E.P. Panova*, V.S. Strigunov, V.I. Grishkovets, G.N. Katseva, N.V. Tolkacheva.

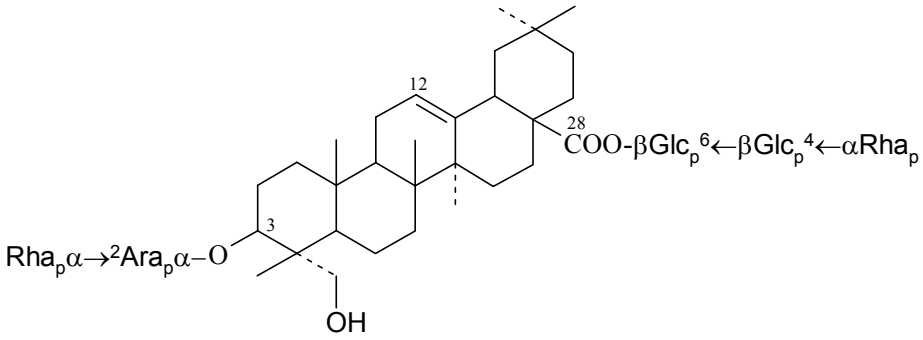
V.I. Vernadsky Taurida national university

At present time investigations on preparation and studying of biologically active compounds' properties has a great significance. Some of such compounds are triterpene glycosides, and they are used in medicine.

We have studied some physico-chemical properties of tauroside H_2, a triterpene glycoside from Crimean ivy Hedera taurica Carr. (Araliaceae family) [1]. It's structure is determined as 3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-O-α-L-arabinopyranosyl-28-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-O-β-D-glucopyranoside of hederagenin. Viscosity, conductivity, critical concentration of mycell formation (CCM) and metal ion-glycoside complex formation were studied. Viscosimetry and conductometry data allowed us to detect CCM value as 0.01%.

The complex formation ability of tauroside H_2 was investigated using isomolar series method with spectrophotometrical monitoring (λmax 380 nm). The metal-glycoside ratio was determined as 1:2 for Cu^{2+} ions. It was found that the presence of some other metal ions such as Cd^{2+}, Pb^{2+}, Al^{3+} prevents the Cu^{2+}-glycoside complex formation.

At present time investigations on complex-forming properties of some other glycosides of Hedera taurica Carr., Hedera canariensis Willd., Hedera colchica C. Koch., Kalopanax pictus (Thunb.) Nakai, Kalopanax septemlobus (Thunb.) Koidz., Tetrapanax payriferum C. Koch. and some other species from Araliaceae family are in progress.



(1). Grishkovets V.I., Tolkacheva N.V., Shashkov A.S., Chirva V. Ya. Khim. Prir. Soedin.; 522-528 (1992).

ПЕРСПЕКТИВНОСТЬ ТЫСЯЧЕЛИСТНИКА ОБЫКНОВЕННОГО КАК ИСТОЧНИКА ХАМАЗУЛЕНА – БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ МАТРИЦЫ

В.В.Племенков, Р.В.Палей

Казанский государственный медицинский университет
e-mail: plem-mu@mi.ru; pavel@tbit.ru

Известно, что хамазулен является носителем многих полезных биологических свойств и носителем активности некоторых лекарственных трав, в частности Ромашки лекарственной (Matricaria chamomilla L.), из которой он и выделяется для дальнейшего использования перегонкой с водяным паром в сумме с эфирным маслом, при этом содержание целевого азулена в последнем не превышает 5%. Фактическое отсутствие Ромашки лекарственной во флоре средней полосы России инициировало наши исследования и поиск альтернативных источников. Богатые сырьевые запасы тысячелистника обыкновенного (Achillea millefolium L.), выявление подвидов с высоким содержанием хамазулена в эфирном масле (более 25%), разработанная нами методика ферментативного обогащения растительного сырья проазуленовыми компонентами, дающая увеличение содержания на 30%, отличные агрокультурные характеристики тысячелистника обыкновенного, позволяют рассматривать его в качестве единственного источника биологически активной субстанции – хамазулена – в средней полосе России.

Полученный нами в достаточных количествах хамазулен, вследствие его уникальных как физико-химических, так и химических свойств, был подвергнут модификации с разнообразными сульфидирующими реагентами, с целью получения новых потенциальных БАС. Синтезирована серия различных сульфидов. Для некоторых сульфидов хамазулена установлена высокая антиоксидантная активность, сопоставимая с известными природными и синтетическими антиоксидантами; рост-стимулирующее действие на калусные культуры клеток пшеницы; низкая токсичность. Сочетание азуленовой компоненты с сульфидной функцией оказалось перспективным не только в плане биологической активности, но и в химическом отношении. На основе полученных сульфидов синтезированы сульфоксиды, сульфониевые соли, сульфониевые илиды азуленового ряда.

PROSPECTS OF ACHILLEA MILLEFOLIUM L.S.L. AS A SOURCE OF CHAMAZULENE, A BIOLOGICAL ACTIVE MATRIX

Vitaly V. Plemenkov, Ruslan V. Paley

Kazan State Medical University
e-mail: plem-mu@mi.ru; pavel@tbit.ru

It is known, that Chamazulene is the owner of many useful biological properties and activity of some medicinal herbs, in particular of Camomile (Matricaria chamomilla L.), from which it is obtained for further applications by means of hydrodistillation in a body of essential oil, thus the contents target azulene in last does not exceed 5 %.

The actual absence of Matricaria chamomilla L. in flora of an average strip of Russia initiated our researches and search of alternative sources. The rich raw stocks of a yarrow (Achillea millefolium l.s.l.), revealing of subspecies with the high contents of chamazulene in essential oil (more than 25 %), technique, developed by us, enzymatic enrichment of vegetative raw material by proazulenic components giving increase of the target compound contents on 30 %, excellent agrocultural characteristics of the yarrow, allow us to consider it as a unique source of biologically active substance - chamazulene - in an average strip of Russia.

Synthesized in enough amount chamazulene, due to its unique both physical-chemical, and chemical properties, was subjected to modification with different sulfur-containing reagents with the purpose of reception a new potential biological active substances. A series of various azulenic sulfides was synthesized. For some chamazulenic sulfides is established high antioxidant activity comparable with known natural and synthetic antioxidants, growth - stimulating action on cell- culture of wheat, low toxicity. The combination azulenic components with sulfidic function has appeared perspective not only by means of biological activity, but also in the chemical point of view. On the basis of corresponding sulfides can be synthesized sulfoxides, sulfonium salts, sulfonium ylides of azulenic type.

ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ МАСЛЯНОГО ЭКСТРАКТА КАРОТИНОИДОВ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ПОРАЖЕННОГО ВИРУСАМИ.

Постоенко В.А., Постоенко Е.М.,. Бойко А.Л.

Институт пчеловодства им. Прокоповича УААН, Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко
e-mail: postoenko@ukr.net

В связи с ухудшением экологической обстановки в Украине, особую актуальность приобретают вопросы влияния неблагоприятных факторов внешней среды на рост и развитие растений, а также возможного использования загрязненных продуктов растениеводства в народном хозяйстве. Как один из подходов решения данной проблемы, нами выполняется комплекс работ по разработке способов получения масляных препаратов каротиноидов из растительного сырья, загрязненного различными химическими соединениями, пораженного вирусами и т.д.

Масляные экстракты каротиноидов из растительного сырья являются ценными фармацевтическими и лечебно-профилактическими препаратами. Они нетоксичны, обладают витаминными, антиоксидантными, противовоспалительными свойствами, регулируют процессы обмена веществ, оказывают положительное влияние на различные патогенетические процессы, которые вызваны неблагоприятными экологическими факторами, от иммунодефицита до канцерогенеза. Однако, значительная часть сырья, загрязненного различными химическими соединениями, пораженного вирусами и т.д., не используется в перерабатывающей промышленности. При этом вопрос о технологической переработке загрязненного растительного сырья на лекарственные и лечебно-профилактические средства остается практически неизученным.

Ранее нами разработан и запатентован способ получения масляного экстракта каротиноидов из растительного сырья (как экологически чистого, так и загрязненного химическими соединениями) такого как морковь, тыква, облепиха и др.

В данной работе приводится, как пример, разработка оптимальных условий экстракции каротиноидов подсолнечным маслом из крапивы двудомной (Urtica dioica L.), пораженной вирусами. Две группы высушенных растений крапивы – из естественного биоценоза и из теплицы тестировали на наличие вирусных антигенов методом непрямого иммуноферментного анализа (ИФА), а затем анализировали содержание каротина в каждой группе растений. Результат ИФА показал наличие максимального содержания антигенов вируса табачной мозаики (ВТМ) и ?- вируса картофеля (?ВК), а содержание каротина в образцах из естественного биоценоза – 44мг/%, а - из теплицы – 48мг/%. При этом, максимальный выход каротиноидов в результате экстрагирования подсолнечным маслом по подобранным нами режимам составил от 91,99±4,80% до 96,06±4,70%.

По данным литературы, ряд физических факторов, таких как температура, высушивание, вибрация и др.инактивируют вирусы, поэтому мы можем предположить, что процесс технологической обработки крапивы, в том числе и высушивание вирусов является достаточным для их инактивации. Таким образом, предложенный нами способ позволяет получать масляный препарат каротиноидов из лекарственных растений, которые поражены вирусом, с конечным выходом каротиноидов до 96% и существенно расширяет сферу использования их в медицинской промышленности и народном хозяйстве.

THE TECHNOLOGY OF OBTAINING THE CAROTINOIDES OIL EXTRACT FROM VEGETABLE FEED INFECTED BY VIRUSES

Postoenko V.A., Postoyenko E.M., Boyko A.L.

Institute by Prokopovych, Kyiv Taras Shechenko National University
e-mail: postoenko@ukr.net

In view of aggravated ecological situation in Ukraine, the issues of environment unfavorable factors influence on plants growth and development as well as use of contaminated plant growing products in national economy are deemed more and more topical. As one of the approaches of this problem solution, at present we are developing the working complex for creating the methods of carotinoids oil preparations from vegetable feed contaminated by different chemical compounds, infected by viruses etc.

The carotinoids oil extracts from vegetable feed are valuable as pharmaceutical and medical-prophylactic preparations. They are non-toxic and have vitaminous, antioxidant, and antiphlogistic features, as well as regulate metabolism processes and positively influence upon various pathogenic processes, such as immunodeficiency and carcinogenesis, caused by environment unfavorable factors. However, the substantial portion of feed contaminated by different chemical compounds, infected by viruses etc., is not used in conversion industry. Meanwhile, the question of technological converting contaminated vegetable feed into medical and medical-prophylactic preparations remains practically unstudied.

The method of obtaining the carotinoids oil extract from vegetable feed such as carrot, pumpkin, sea-buckthorn etc., both ecologically clean and contaminated by chemical compounds, has been developed and patented by the same group of authors formerly.

As an example, this teaching presents the elaboration of the optimal conditions of carotinoids extraction by vegetable oil from Urtica dioica L. infected by viruses. Two groups of dried urticaria, from natural biocenosis and greenhouse, were tested in order to reveal the viruses' antigens by indirect immunoferment analysis method (IFA), and then the carotene content was analysed in each group of plants. The IFA analysis has exhibited the maximum content of tobacco mosaic virus (TMV) and Y–potato virus (YVP), and also the carotene content in urticaria from natural biocenosis has been shown as 44mg/%, and from greenhouse - 48mg/%. In addition, the vegetable oil extraction, under selected by us regimes, has resulted in carotinoids maximum output of from 91,99±4, 80 to 96,06±4,70%.

According to the literature, the several physical factors, such as temperature, drying, vibration and others, inactivate viruses, hence, we can suggest that a urticaria technological treating process including drying under the temperature can be sufficient for viruses inactivation.

Therefore, the suggested method allows to obtain carotinoids oil preparation from herbs infected by viruses, with the final carotinoids output up to 96%, and essentially extends the field of use thereof in medical industry and national economy.

ОБ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ПРИНЦИПАХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРЕСНОВОДНЫХ ИДРОБИОНТОВ В КАЧЕСТВЕ СЫРЬЯ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

А.А. Протасов

Институт гидробиологии НАН Украины
e-mail: protasov@biochem.kiev.ua

Получение новых биологически активных веществ является комплексной проблемой, касающейся не только биотехнологии, медицины, биохимии, но и других отраслей научно-практической деятельности. Один из аспектов проблемы – сырьевая база наработки биологически активных веществ из биологических объектов. В настоящее время многие растения и животные используются в качестве сырья, однако, недостаточное внимание уделяется пресноводным беспозвоночным и водорослям. Использование тех или иных организмов в качестве сырья предполагает их существенные запасы в виде восстанавливаемой продукции, либо в виде достаточно рентабельно культивируемого искусственного объекта. Явление гиперпродукции некоторых популяций в определенных условиях порождает иллюзию избыточного ресурса, однако, вряд ли целесообразно ориентироваться на такую сырьевую базу,

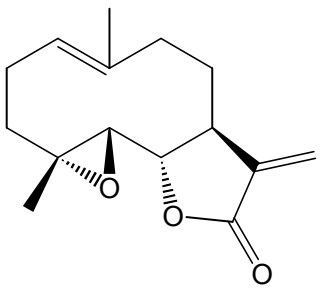
поскольку экосистемы обычно приходят в сбалансированное состояние и сырьевая база перестает быть сверхдоступной. Это можно продемонстрировать на примере «цветения» синезелеными водорослями равнинных водохранилищ. Однако существует определенные экологические условия, в которых биологические ресурсы могут быть возобновляемыми достаточно продолжительное время. В водоемах-охладителях тепловых и атомных электростанций в условиях повышенных температур интенсивно развиваются синезеленые нитчатые водоросли перифитона рода Lyngbya. Они обладают высокой продуктивностью и их масса может достигать 5–7 кг/м2. Исследования биохимического состава синезеленых водорослей (цианобактерий) показало их высокую пригодность для биотехнологического использования, однако, необходимо учитывать, что биомасса планктонных водорослей ниже, чем перифитонных. Кроме того, для получения фитомассы планктонных водорослей необходимо решать непростую проблему сгущения их и отделения от воды. В то время как изъятие перифитонных водорослей технически несложно. Из беспозвоночных в водоемах-охладителях, а также в крупных водохранилищах в массе развиваются моллюски рода Dreissena и в основном их роль оценивается как отрицательная, т.к. их обрастание вызывает существенные помехи в водоснабжении. Однако, продукция этих организмов может быть использована и для целей биотехнологии. Проблема обеспечения сырьем в этом случае может решаться за счет добычи моллюсков в естественных условиях, однако, более целесообразно использовать экологический эффект «сгущения жизни» на разделах фаз. Практически это предусматривает создание в благоприятных трофических и гидродинамических условиях так называемых искусственных рифов, которые могут также быть коллектором и других организмов. В настоящее время в мире ведется интенсивный поиск новых биологических объектов для получения из них биоактивных препаратов, и в этом плане следует обратить внимание не только на отмеченные выше организмы, но также и на ракообразных (гаммариды и корофииды), брюхоногих моллюсков (живородки, прудовики), которые могут рассматриваться как достаточный сырьевой ресурс, а также объект различного рода аквакультуры.

ПАРТЕНОЛИД ИЗ *TANACETUM VULGARE* L.

Б.Б.Рахимова, Д.С.Букенов, А.Т.Кулыясов, С.М.Адекенов

Институт фитохимии МОН Республики Казахстан
e-mail: arglabin@mail.krg.kz

Из этилацетатного экстракта Tanacetum vulgare L. (пижма обыкновенная), собранной в Карагандинском Ботаническом саде, методом хроматографирования на силикагеле было выделено бесцветное кристаллическое вещество с т.пл. 115-117 °С (петролейный эфир – этилацетат) и выходом 0.06% (на воздушно-сухое сырье), которое идентифицировали как сесквитерпеновый лактон партенолид[1] (1), обладающий широким спектром биологической активности [2,3,4.]



(1)

Список литературы

Bohlmann F., Zdero C. Phytochemistry, 1982, 21, 2543-2549.

Kwok B.H.B., Koh B., Ndubuisi M.I., Elofsson M., Crews C.M. Chemistry & Biology, 2001, 8, 759-766.

Пат. 2124486А Великобритания; РЖХим., 2О 180П (1985).

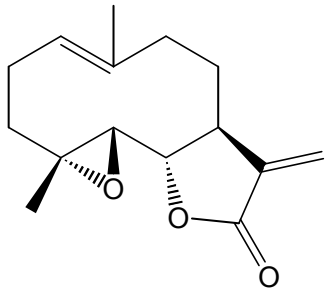
Newlett M.J., Begley M.J., Groenewegen W.A., Heptinstall S., Knight D.W., May J., Salan U., Toplis D. J. Chem. Soc., Perkin Trans., 1996, 1, 1979-1986.

PARTHENOLIDE FROM TANACETUM VULGARE L.

Rakhimova B.B., Bukenov D.S., Kulyjasov A.T., Adekenov S.M.

The Institute of Phytochemistry of MES of Kazakhstan Republic
e-mail: arglabin@mail.krg.kz

A colorless crystalline substance with m.p. 115-117o C (petroleum ether – EtOAc) and with yield 0.06% (at a air-dried raw materials) was isolated from ethylacetate extract of Tanacetum vulgare L. (collected in Karaganda Botanical Garden) by column chromatography on silica gel. This substance was identified as the sesquiterpene lactone parthenolide [1] (1), having many biological activities [2,3,4] .



(1)

REFERENCES

Bohlmann F., Zdero C. Phytochemistry, 1982, 21, 2543-2549.

Kwok B.H.B., Koh B., Ndubuisi M.I., Elofsson M., Crews C.M. Chemistry & Biology, 2001, 8, 759-766.

Pat. 2124486A Great Britain; RZhKhim., 2O 180П (1985).

Newlett M.J., Begley M.J., Groenewegen W.A., Heptinstall S., Knight D.W., May J., Salan U., Toplis D. J. Chem.

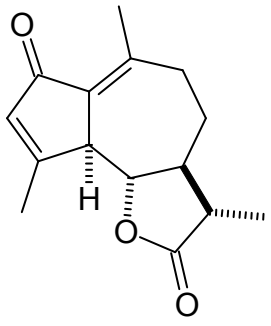
Soc., Perkin Trans., 1996, 1, 1979-1986.

НОВОЕ ТРИХЛОРПРОИЗВОДНОЕ СЕСКВИТЕРПЕНОВОГО ЛАКТОНА ЛЕУКОМИЗИНА

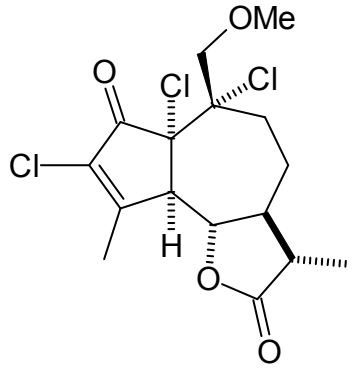
Б.Б.Рахимова, Н.А. Талжанов, А.Т.Кулыясов, С.М.Адекенов

Институт фитохимии МОН Республики Казахстан
E-mail: arglabin@mail.krg.kz

Одним из продуктов хлорирования леукомизина (1) (сесквитерпенового лактона, выделенного из спиртового экстракта Artemisia leucodes Schrenk[-1]) в метаноле при комнатной температуре является 1,3,10-трихлор-14-метокси-1,10-дигидролеукомизин (2) с т.пл. 226-228 °С (этилацетат). Структура (2) установлена по данным ИК-, ^{1}H и ^{13}C ЯМР-спектров.



(1)



(2)

Список литературы

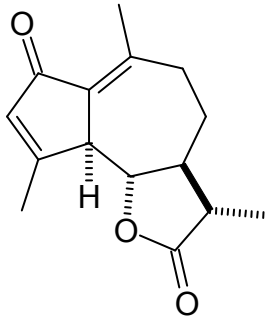
Рыбалко К.С. ЖОХ, 1963, 33, 2734-2739.

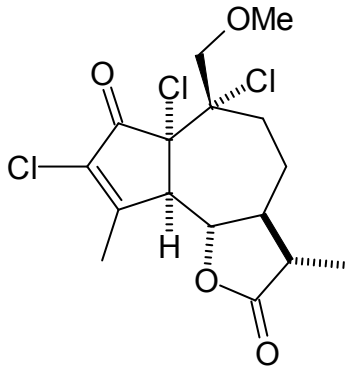
NEW TRICHLORODERIVATIVE OF SESQUITERPENE LACTONE LEUCOMISINE

Rakhimova B.B., Talzhanov N.A., Kulyjasov A.T., Adekenov S.M.

The Institute of Phytochemistry of MES of Kazakhstan Republic
E-mail: arglabin@mail.krg.kz

1,3,10-trichlore-14-methoxy-1,10-dihydroleucomisine (2) c m.p. 226-228o C (ethylacetate) was obtained by chlorination of leucomisine (1) (natural sesquiterpene lactone, isolated from ethanolic extract of Artemisia leucodes Schrenk.[1]) in methanole at room temperature. The structure of (2) determined by IR-, ^{1}H and ^{13}C NMR spectra.





(1) (2)

REFERENCE

Rybalko K.S. Zh. Obsh. Khimii, 1963, 33, 2734-2739.

КРИОПОРОШОК И СУБЛИМАЦИОННЫЙ ОТГОН ИЗ ПОДМОРА ПЧЕЛ: ТЕХНИЧЕСКИЕ И МЕДИЦИНСКИЕ АСПЕКТЫ.

Россихин В.В. , Осецкий А.И., Марковский А.Л., Бухмин А.В.

В Украине в течение зимы и весны на пасеках накапливаются значительные объемы подмора пчел, которые обычно сжигаются. Вместе с тем подмор пчел в народной медицине используется в виде жаренных телец пчел, распаренных телец, линимента и 10% спиртового экстракта [1,2].

Нами использовался криосублимированный порошок сублимационный отгон из подмора пчел для лечения 23 человек с аденомой простаты, 12 мужчин с явлениями аденомы простаты и церебрального атеросклероза, 16 - с хроническим простатитом и явлениями снижения половой функции. Порошок назначали после еды в дозе 2,5 грамма (чайная ложка), хорошо запивая водой в течение 3-4 месяцев. Жидкий сублимационный отгон из подмора пчел смешивался с жидкой фракцией отгоном семян крапивы и тыквы в соотношении 1: 7 и назначался по трети стакана внутрь после еды утром и на ночь. Во всех группах при использовании монотерапии порошком подмора получен положительный эффект, доказанный общеклиническими данными. Непереносимость порошка и жидкой сублимационной фракции отмечена у двоих пациентов. Установлено, что клиническая эффективность выше при криосублимации свежего подмора пчел.

Биологические активные вещества из подмора пчел по нашему мнению являются новой возможностью в лечении и профилактике заболеваний человека.

Литература

1. Мулявко Н.О. Тільце бджоли – чудові ліки./ Пасіка, N 9., 2000., с.32.

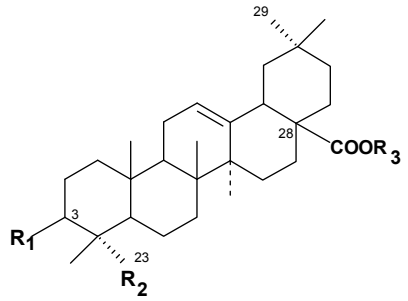
2. Россихин В.В., Кривошлыков Ф.И., . Майборода Н.И. Возможности апитерапии в лечении заболеваний простаты "Мочекаменная болезнь". Материалы научных трудов VII Международного Конгресса, ХМАПО, Харьков. , 1999, с. 359-361

ТРИТЕРПЕНОВЫЕ ГЛИКОЗИДЫ ИЗ СЕМЯН FATSIA JAPONICA

Е.А. Соболев[а], В.И. Гришковец[а], В.В. Качала[б], А.С. Шашков[б], В.Я. Чирва[а]

[а]) Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского
[б]) Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН
e-mail: sobolevevg@mail.ru;

Fatsia japonica Decne. et Planch. (Araliaceae) широко известна как декоративное растение. Ранее мы исследовали гликозидный состав листьев и перикарпия плодов этого растения. Данная работа посвящена изучению гликозидов из семян фатсии. Экстракция гликозидов из тщательно измельченного сырья проводилась 80%-ным изопропанолом, и полученная в результате сумма тритерпеновых гликозидов разделялась хроматографически на силикагеле с использованием в качестве элюента системы растворителей хлороформ-этанол-вода. При этом были выделены следующие тритерпеновые гликозиды: 3-O-β-D-глюкопиранозид хедерагенина (1), 3-O-β-D-софоразиды олеаноловой кислоты (2) и хедерагенина (3) и их 28-O-β-D-генциобиозиловые эфиры (4, 5), а так же новый тритерпеновый гликозид 3-O-β-D-софорозил-28-O-α-L-рамнопиранозил-(1→4)-O-β-D-глюкопиранозил-(1→6)-O-β-D-глюкопиранозиловый эфир хедерагенина (6). Все вышеперечисленные гликозиды кроме гликозида 6 ранее уже встречались в семенах различных видов рода Hedera, однако гликозидный состав семян фатсии японской более сложен и разнообразен. 3-O-α-L-Арабинопиранозид хедерагенина (7), 3-O-β-D-глюкопиранозил-(1→2)-O-α-L-арабинопиранозид хедерагенина (8), 3-O-β-D-галактопиранозил-(1→2)-O-α-L-арабинопиранозид хедерагенина (9) их 28-O-β-D-генциобиозиловые эфиры (10, 11, 12), 3-O-β-D-софорозид гипсогенина (13), 3-O-β-D-галактопиранозил-(1→2)-O-β-D-глюкопиранозид гипсогенина (14) и их 28-O-β-D-генциобиозиловые эфиры (15, 16), ранее не встречались в семенах плющей, а все гликозиды гипсогенина, выделенные нами из семян фатсии японской, являются новыми тритерпеновыми гликозидами. Структуры всех соединений были установлены с использованием химических методов и различных двумерных ЯМР-методик.



	R_1	R_2	R_3
1	$Glc_p\beta\rightarrow$	CH_2OH	$\leftarrow H$
2	$Glc_p\beta$-(1→2)-$Glcp\beta\rightarrow$	CH_3	$\leftarrow H$
3	$Glc_p\beta$-(1→2)-$Glcp\beta\rightarrow$	CH=OH	$\leftarrow H$
4	$Glc_p\beta$-(1→2)-$Glc_p\beta\rightarrow$	CH_3	$\leftarrow\beta Glc_p$-(6←1)-βGlc_p
5	$Glc_p\beta$-(1→2)-$Glcp\beta\rightarrow$	CH_2OH	$\leftarrow\beta Glc_p$-(6←1)-βGlc_p
6	$Glc_p\beta$-(1→2)-$Glcp\beta\rightarrow$	CH_2OH	$\leftarrow\beta Glc_p$-(6←1)-βGlc_p-(4←1)-αRha_p
7	$Ara_p\alpha\rightarrow$	CH_2OH	$\leftarrow H$
8	$Glc_p\beta$-(1→2)-$Arap\alpha\rightarrow$	CH_2OH	$\leftarrow H$
9	$Gal_p\beta$-(1→2)-$Arap\alpha\rightarrow$	CH_2OH	$\leftarrow H$
10	$Ara_p\alpha\rightarrow$	CH_2OH	$\leftarrow\beta Glc_p$-(6←1)-βGlc_p
11	$Glc_p\beta$-(1→2)-$Arap\alpha\rightarrow$	CH_2OH	$\leftarrow\beta Glc_p$-(6←1)-βGlc_p
12	$Gal_p\beta$-(1→2)-$Arap\alpha\rightarrow$	CH_2OH	$\leftarrow\beta Glc_p$-(6←1)-βGlc_p
13	$Glc_p\beta$-(1→2)-$Glcp\beta\rightarrow$	CHO	$\leftarrow H$
14	$Gal_p\beta$-(1→2)-$Arap\alpha\rightarrow$	CHO	$\leftarrow H$
15	$Glc_p\beta$-(1→2)-$Glcp\beta\rightarrow$	CHO	$\leftarrow\beta Glc_p$-(6←1)-βGlc_p
16	$Gal_p\beta$-(1→2)-$Arap\alpha\rightarrow$	CHO	$\leftarrow\beta Glc_p$-(6←1)-βGlc_p

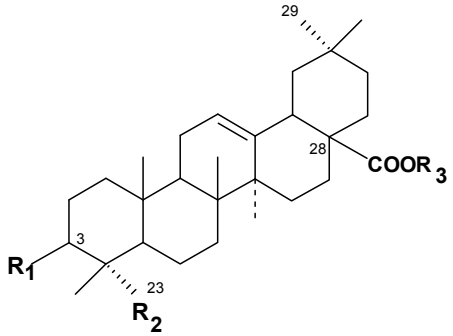
TRITERPENE GLYCOSIDES FROM FATSIA JAPONICA SEEDS

Evgeniy A. Sobolev[a], Vladimir I. Grishkovets[a], Vadim V. Kachala[b],
Alexander S. Shashkov[b], Vasiliy Ya. Chirva[a]

[a]*Department of Organic Chemistry, Taurida National University*
[b]*Department of NMR Spectroscopy, N.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry*

e-mail: sobolevevg@mail.ru

Fatsia japonica Decne. et Planch. (Araliaceae) is well-known ornamental plant. Earlier we have studied the triterpene glycosides from leaves and fruit pericarp of this plant. Now we have carried out an investigation of Fatsia japonica seeds. Triterpene glycosides were extracted from disintegrated seeds with 80% 2-propanol and separated by SiO2 column chromatography with chloroform-ethanol-water eluent. The following triterpene saponins were isolated: 3-O-β-D-glucopyranoside of hederagenin (1), 3-O-β-D-sophorosides oleanolic acid (2) and hederagenin (3), their 28-O-β-D-gentiobiosyl esters (4, 5) and the new 3-O-β-D-sophorosyl-28-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-O-β-D-glucopyranosyl ester of hederagenin (6). We detected all these glycosides in the seeds of different Hedera species. However the glycoside composition of Fatsia japonica seeds is more complicated and additionally containing 3-O-α-L-arabinopyranoside of hederagenin (7), 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→2)-O-α-L-arabinopyranoside of hederagenin (8), 3-O-β-D-galactopyranosyl-(1→2)-O-α-L-arabinopyranoside of hederagenin (9), their 28-O-β-D-getiobiosyl esters (10, 11, 12) and some glycosides of hypsogenin, whose structures were determined as hypsogenin-3-O-β-D-sophoroside (13), hypsogenin-3-O-β-D-galactopyranosyl-(1→2)-O-β-D-glucopyranoside (14) and their 28-O-β-D-gentiobiosyl esters (15, 16). The structures of all isolated saponins were determined on the basis of chemical and various NMR-methods. All isolated hypsogenine glycosides are new compounds.



	R_1	R_2	R_3
1	$Glc_p\beta\rightarrow$	CH_2OH	$\leftarrow H$
2	$Glc_p\beta$-(1→2)-Glcpβ→	CH_3	$\leftarrow H$
3	$Glc_p\beta$-(1→2)-Glcpβ→	CH_2OH	$\leftarrow H$
4	$Glc_p\beta$-(1→2)-Glcpβ→	CH_3	$\leftarrow\beta Glc_p$-(6←1)-βGlc_p
5	$Glc_p\beta$-(1→2)-Glcpβ→	CH_2OH	$\leftarrow\beta Glc_p$-(6←1)-βGlc_p
6	$Glc_p\beta$-(1→2)-Glcpβ→	CH_2OH	$\leftarrow\beta Glc_p$-(6←1)-βGlc_p-(4←1)-αRha_p
7	$Ara_p\alpha\rightarrow$	CH_2OH	$\leftarrow H$
8	$Glc_p\beta$-(1→2)-Arapα→	CH_2OH	$\leftarrow H$
9	$Gal_p\beta$-(1→2)-Arapα→	CH_2OH	$\leftarrow H$
10	$Ara_p\alpha\rightarrow$	CH_2OH	$\leftarrow\beta Glc_p$-(6←1)-βGlc_p
11	$Glc_p\beta$-(1→2)-Arapα→	CH_2OH	$\leftarrow\beta Glc_p$-(6←1)-βGlc_p
12	$Gal_p\beta$-(1→2)-Arapα→	CH_2OH	$\leftarrow\beta Glc_p$-(6←1)-βGlc_p
13	$Glc_p\beta$-(1→2)-Glcpβ→	CHO	$\leftarrow H$
14	$Gal_p\beta$-(1→2)-Arapα→	CHO	$\leftarrow H$
15	$Glc_p\beta$-(1→2)-Glcpβ→	CHO	$\leftarrow\beta Glc_p$-(6←1)-βGlc_p
16	$Gal_p\beta$-(1→2)-Arapα→	CHO	$\leftarrow\beta Glc_p$-(6←1)-βGlc_p

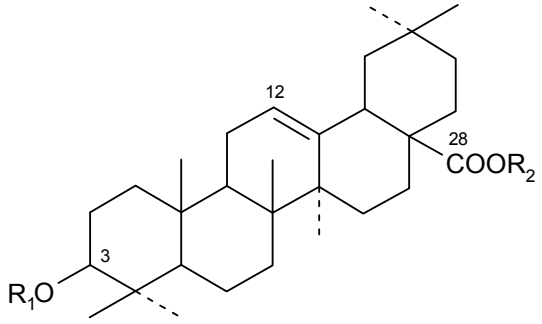
КИСЛЫЕ ТРИТЕРПЕНОВЫЕ ГЛИКОЗИДЫ ИЗ КОРЫ СТЕБЛЕЙ ТЕТРАПАНАКСА БУМАГОНОСНОГО

В.С. Стригунов[a]*, В.И. Гришковец[a], Н.Н. Арнаутов[b], А.С. Шашков[c], В.В. Качала[c], В.Я. Чирва[a]

[a]*Кафедра органической химии, Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского*
[b]*Ботанический институт РАН*
[c]*Отделение ЯМР-спектроскопии, Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского*

e-mail: chord@tnu.crimea.ua

Ранее из коры стеблей тетрапанакса бумагоносного Tetrapanax papyriferum (семейство аралиевых) мы выделили новые нейтральные бисдесмозидные гликозиды олеаноловой и эхиноцистовой кислот и установили их строение[1]. Недавно мы выделили несколько тритерпеновых гликозидов, содержащих остатки глюкуроновой кислоты. Эти соединения были выделены путем хроматографического разделения предварительно полученных фракций гликозидов, обработанных диазометаном. После деметилирования были получены 3-O-β-D-глюкуронопиранозид (1), 3-O-α-L-арабинофуранозил-(1→4)-O-β-D-глюкуронопиранозид (2), 3-O-β-D-галактопиранозил-(1→2)-□-D-глюкуронопиранозид (3) и 3-O-[β-D-галактопиранозил-(1→2)]-[α-L-арабинофуранозил-(1→4)]-O-β-D-глюкуронопиранозид (4) олеаноловой кислоты и их 28-O-α-L-рамнопиранозил-(1→4)-O-[6-O-ацетил-β-D-глюкопиранозил-(1→6)]-O-β-D-глюкопиранозиловые эфиры (5, 6, 7 и 8 соответственно). Их структуры были установлены на основе данных химических методов анализа и различных методов спектроскопии ЯМР (^{1}H, ^{13}C, COSY, ROESY, HMBC, HSQC). Некоторые из этих тритерпеновых гликозидов были обнаружены ранее в корнях тетрапанакса., однако гликозиды, содержащие остаток уксусной кислоты, являются новыми.



	R_1	R_2
1	β-D-GlcUA$_p$-	-H
2	β-L-Ara$_f$-→^{4}β-D-GlcUA$_p$-	-H
3	β-D-Gal$_p$→^{2}β-D-GlcUA$_p$-	-H
4	β-D-Gal$_p$→^{2}[α-L-Araf→4]- β-D-GlcUA$_p$-	-H
5	β-D-GlcUA$_p$-	-β-D-Glc$_p$^{6}←6-OAc-β-D-Glc$_p$^{4}←α-L-Rha$_p$
6	β-L-Ara$_f$-→^{4}β-D-GlcUAp-	-β-D-Glc$_p$^{6}←6-OAc-β-D-Glc$_p$^{4}←α-L-Rha$_p$
7	β-D-Gal$_p$→^{2}β-D-GlcUAp-	-β-D-Glc$_p$^{6}←6-OAc-β-D-Glc$_p$^{4}←α-L-Rha$_p$
8	β-D-Gal$_p$→^{2}[β-L-Araf→4]- β-D-GlcUAp-	-β-D-Glc$_p$^{6}←6-OAc-β-D-Glc$_p$^{4}←α-L-Rha$_p$

(1). Strigunov V.S., Grishkovets V.I., Shashkov A.S., Chirva V.Ya. New triterpene glycosides from the stems of Tetrapanax papyriferum / 20-th International Carbohydrate Symposium. - Germany, Hamburg, 2000. - Abstracts P. A-157.

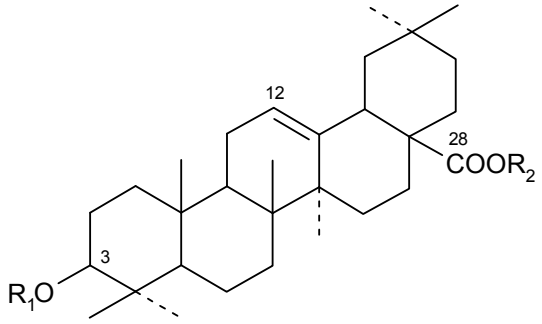
ACIDIC TRITERPENOID GLYCOSIDES FROM TETRAPANAX PAPYRIFERUM STEMS BARK

Vsevolod S. Strigunov[a]*, Vladimir I. Grishkovets[a], Nicolay A. Arnautov[b], Alexander S. Shashkov[c], Vadim V. Kachala[c], Vasiliy Ya. Chirva[a]

[a]*Department of Organic Chemistry, V.I. Vernadsky Taurida national*
[b]*Botanical Institute of Russian Academy of Science*
[c]*Department of NMR Spectroscopy, N.D. Zelinsky institute of organic chemistry*

e-mail: chord@tnu.crimea.ua

Ealier we have isolated and studied new neutral bisdesmoside triterpene glycosides of oleanolic and echinocystic acids from the Tetrapanax papyriferum stems bark [1]. Recently we isolated several acidic triterpene glycosides containing glucuronic acid residues. These saponins were obtained using chromatographical separation of preliminary prepared glycoside fractions, treated with diasomethane. The following acidic glycosides were obtained after demethylation: 3-O-β-D-glucuronopyranoside (1), 3-O-α-L-arabinofuranosyl-(1→4)-O-β-D-glucuronopyranoside (2), 3-O-β-D-galactopyranosyl-(1→2)- β-D-glucuronopyranoside (3) and 3-O-[β-D-galactopyranosyl-(1→2)]-[α-L-arabinofuranosyl-(1→4)]-O-β-D-glucuronopyranoside (4) of oleanolic acid and their 28-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-O-[6-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl-(1→6)]-O-β-D-glycopyranosil esters (5, 6, 7 and 8 respectively). Their structures were determined on the basis of chemical and different NMR spectroscopy methods (^{1}H, ^{13}C, COSY, ROESY, HMBC, HSQC) data. Some of these glycosides were found earlier in Tetrapanax papyriferum roots but all these acetyl group containing glycosides are novel.



	R_1	R_2
1	β-D-GlcUA$_p$-	-H
2	β-L-Ara$_f$-→4β-D-GlcUA$_p$-	-H
3	β-D-Gal$_p$→2β-D-GlcUA$_p$-	-H
4	β-D-Gal$_p$→2[α-L-Araf→4]- β-D-GlcUA$_p$-	-H
5	β-D-GlcUA$_p$-	-β-D-Glc$_p^6$←6-OAc-β-D-Glc$_p^4$←α-L-Rha$_p$
6	β-L-Ara$_f$-→4β-D-GlcUA$_p$-	-β-D-Glc$_p^6$←6-OAc-β-D-Glc$_p^4$←α-L-Rha$_p$
7	β-D-Gal$_p$→2β-D-GlcUA$_p$-	-β-D-Glc$_p^6$←6-OAc-β-D-Glc$_p^4$←α-L-Rha$_p$
8	β-D-Gal$_p$→2[α-L-Ara$_f$→4]- β-D-GlcUA$_p$-	-β-D-Glc$_p^6$←6-OAc-β-D-Glc$_p^4$←α-L-Rha$_p$

(1). Strigunov V.S., Grishkovets V.I., Shashkov A.S., Chirva V.Ya. New triterpene glycosides from the stems of Tetrapanax papyriferum / 20-th International Carbohydrate Symposium. - Germany, Hamburg, 2000. - Abstracts P. A-157.

СОСТАВ ЭФИРНОГО МАСЛА POPULUS *BALSAMIFERA L.* ФЛОРЫ КАЗАХСТАНА

Е.М.Сулейменов[a], А.Т.Кулыясов[a], Т. Озек[b], Б.Демирчи[b], С.М.Адекенов[a], К.Х.Ч. Башер[b]

[a]: *Институт фитохимии МОН Республики Казахстан*
[b]: *Исследовательский центр медицинских и ароматических растений и лекарств Анадолийского Университета (TBAM)*
e-mail: arglabin@mail.krg.kz

Эфирное масло почек тополя бальзамического привлекает внимание исследователей благодаря обнаруженной высокой антимикробной и антигрибковой активности[1,2].

В этой связи нами проведено исследование компонентного состава эфирного масла почек Populus balsamifera L. Почки тополя бальзамического собирали в Северо-Казахстанской области в марте-апреле 1998 года в период их пробуждения. Эфирное масло получали методом водной дистилляции на аппарате Клевенджера в течение 2-х часов. Выход эфирного масла составил 2.0% в пересчете на воздушно-сухое сырье.

Исследование проводили методом хромато-масс-спектрометрии на приборе Hewlett-Packard GCD. Компоненты идентифицировали, используя библиотеку Wiley GC/MS Library и библиотеку компонентов эфирных масел TBAM Library.

Обнаружен 71 компонент - 87.13% от всех обнаруженных. При этом, основными определены эпи-α-бизаболол – 14.0%, 2-фенилэтил-2-метилбутират - 12.5%, γ-куркумен – 10.0%, δ-кадинен - 6.0%, ar-куркумен – 6.0%, (E)-β-бергамотен - 4.3%, α-кадинен - 3.0%, γ-кадинен - 2.9%, β-куркумен - 1.9%, T-кадинол - 1.9%, сесквицинеол - 1.8, каламенен - 1.4, α-калакорен-I - 1.4% и α-иланген - 1.3%.

Литература
Leıfertova I., Lısa M. Folıa Pharm (Prague) 2, P.29-54 (1979)
Браславский В. Б., Куркин В. А., Жданов И. П. Раст. Ресурсы, вып. 2, том 27, С.77-81 (1991)

COMPOSITION OF POPULUS *BALSAMIFERA L.* ESSENTIAL OIL FROM KAZAKSTAN

Ye. M. Suleimenov[1], A. T. Kulyjasov[1], T. Ozek[2], B. Demirci[2], S. M. Adekenov[1], K.H.C. Basher[2]

[1]: *Institute of phytochemistry MES RK, 470032, Karaganda, Kazakstan*
[2]: *Anadolu University Medicinal and Aromatic Plant and Drug Research Centre (TBAM)*

Essential oil of Populus balsamifera L. buds attracts attention of scientists due to its high antimicrobial and antifungal activity[1,2].

In this connection we have investigated essential oil composition Populus balsamifera L. buds. The Populus balsamifera L. buds were collected in North-Kazakstan region in March-April of 1998. Essential oil was obtained by water distillation procedure for 2 h using Clevendger-type apparatus. Yield of essential oil is 2.0%.

Composition of essential oil was analyzed by the method of GC/MS using a Hewlett-Packard GCD system. Library search was carried out using Wiley GC/MS Library and TBAM Library of Essential oil constituents.

71 components were characterized, representing 87.13 % of the total oil. Epi-α-bisabolol – 14.0%, 2-phenilethyl-2-methylbutyrate- 12.5%, γ-curcumene – 10.0%, δ-cadinene - 6.0%, ar-curcumene – 6.0%, (E)-β-bergamotene - 4.3%, α-cadinene - 3.0%, γ-cadinene - 2.9%, β-curcumene - 1.9%, T-cadinol - 1.9%, sesquicineole - 1.8, calamenene - 1.4, α-calacorene-I - 1.4% and α-ylangene - 1.3%, have been characterized as major components.

Lıterature
Leıfertova I., Lısa M. Folıa Pharm (Prague) 2, P.29-54 (1979)
Braslavskii V.B., Kurkin V.A., Zhdanov I.P. Rast. Resursy, V. 27, P.77-81 (1991)

КОМПОНЕНТЫ ЭФИРНОГО МАСЛА NEPETA *PANNONICA L.* ФЛОРЫ КАЗАХСТАНА

Е.М.Сулейменов[a], А.Т.Кулыясов[a], Т. Озек[b], Б. Демирчи[b], С.М.Адекенов[a], К. Х. Ч. Башер[b]

[a]: *Институт фитохимии МОН Республики Казахстан*
[b]: *Исследовательский центр медицинских и ароматических растений и лекарств Анадолийского университета (TBAM)*
e-mail: arglabin@mail.krg.kz

Непетолактон – впервые обнаруженный в эфирном масле Nepeta cataria L. обладает высокой анальгетической активностью. [1,2]. Поэтому он привлекает интерес многих исследователей. Однако состав эфирного масла Nepeta pannonica L. до сих пор не изучен. В связи с этим мы исследовали состав его эфирного масла.

Надземная часть Nepeta pannonica L. была собрана в Аксайском ущелье Заилийского Алатау Алматинской области 12 августа 2000 года.

Эфирное масло получали методом водной дистилляции на аппарате Клевенджера в течение 2 часов. Выход эфирного масла составил 0.2%. Состав эфирного масла исследовали методом хромато-масс-спектрометрии на приборе Hewlett-Packard GCD. Компоненты идентифицировали, используя библиотеку Wiley GC/MS Library и библиотеку компонентов эфирного масла TBAM Library.

Идентифицировано 92 компонента, составляющих 95.6% от всех обнаруженных. 4aα,7α,7aβ-непетолактон - 41.5%, 1,8-цинеол - 12.2%, гермакрен D - 6.3%, кариофиллен оксид - 5.2%, 4aα,7α,7aα-непетолактон – 5.0%, β-кариофиллен - 3.9%, пулегон - 2.9%, β-бурбонен – 2.0%, α-терпинеол - 1.6%, 4aβ,7α,7aβ- непетолактон - 1.5% и δ-терпинеол - 1.0% охарактеризованы как основные компоненты.

Литература

Leung Y., Foster S.. Encyclopedia of common natural ingredients.New-York. John Wiley. 1980.

Aydin S., Demir T., Ozturk Yu., Baser K. H. C.. Analgetic Activity of Nepeta italica L. Phyt. Res. 13, 20-23 (1999)

CONSTITUENTS OF NEPETA *PANNONICA L.* ESSENTIAL OIL FROM KAZAKSTAN

Ye. M. Suleimenov[1], A. T. Kulyjasov, T. Ozek[2], B. Demirchi[2], S. M. Adekenov[1], K.H.C. Basher[2]

[1]: *Institute of Phytochemistry Ministry of Education and Science of Republic of Kazakhstan*
[2]: *Anadolu University Medicinal and Aromatic Plant and Drug Research Centre (TBAM)*

Nepetolactone, which was found first time in Nepeta cataria L. essential oil have high analgetic activity [1,2]. Therefore Nepeta family attracts big interest of scientists. But composition of the Nepeta pannonica L. essential oil is so far unknown. In this connection we have investigated its essential oil composition.

The aerial parts of Nepeta pannonica L. were collected in Zailiiskii Alatau Aksai canyon of Almaty region in 12 August 2000.

Essential oil was obtained by water distillation procedure for 2 h using Clevendger-type apparatus. Yield of essential oil is 0.2%. Composition of essential oil was analyzed by GC/MS using a Hewlett-Packard GCD system. Library search was carried out using Wiley GC/MS Library and TBAM Library of Essential oil constituents.

92 components were characterized, representing 95.6% of the total oil. 4aα,7α,7aβ-nepetalactone 41.5%, 1,8-cineole - 12.2%, germacrene D - 6.3%, caryophyllene oxide - 5.2%, 4aα,7α,7aα-nepetalactone – 5.0%,β-caryophyllene - 3.9% pulegone - 2.9%, β-bourbonene – 2.0%, α-terpineol - 1.6%, 4aβ,7α,7aβ-nepetalactone - 1.5%, δ-terpineol - 1.0%, have been characterized as major components.

Lıterature

Leung Y., Foster S.. Encyclopedia of common natural ingredients.New-York. John Wiley. 1980.

Aydin S., Demir T., Ozturk Yu., Baser K. H. C.. Analgetic Activity of Nepeta italica L. Phyt. Res. 13, 20-23 (1999)

КОМПОНЕНТЫ ЛИПОФИЛЬНЫХ ФРАКЦИЙ ARTEMISIA ANNUA L.

Е.М.Сулейменов[a], А.Т.Кулыясов[a], Т. Озек[b], Б. Демирчи[b], С.М.Адекенов[a], К. Х. Ч. Башер[b]

[a]: *Институт фитохимии МОН Республики Казахстан*
[b]: *Исследовательский центр медицинских и ароматических растений и лекарств Анадолийского Университета (TBAM)*
E-mail: arglabin@mail.krg.kz

Сесквитерпеновый □-лактон кадинанового типа артемизинин –основное действующее вещество при лечении малярии и других паразитарных заболеваний1. С целью комплексного использования сырья мы провели хромато-масс-спектрометрический анализ 3-х липофильных фракций полыни однолетней, полученных методом колоночной хроматографии при выделении артемизинина, производство которого налажено на базе Института Фитохимии.

Фракции исследовали методом хромато-масс-спектрометрии на приборе Hewlett-Packard GCD. Компоненты идентифицировали, используя библиотеку Wiley GC/MS Library и библиотеку компонентов эфирного масла TBAM Library. Основные компоненты фракций в сравнении с составом эфирного масла2 представлены в таблице.

Таблица. Состав фракций и эфирного масла Artemisia annua L.

Компонент	Содержание компонентов фракций			%Содержание компонентов эфирного масла
	% 1	% 2	% 3	
β-Пинен	-	-	-	7.8
Артемизиа кетон	-	5.1	1.8	1.9
Камфора	-	16.3	8.6	10.9
β-Кариофиллен	4.3	1.5	-	8.1
Trans-Пинокарвеол	-	1.7	16.8	2.6
β-Селинен	50.2	8.5	-	23.4
Кариофиллен оксид	6.0	8.2	1.0	3.6
Фитол	5.8	3.2	44.3	0.2

Таким образом, разделение методом колоночной хроматографии, позволяет получить наряду с целевым продуктом производства артемизинином, такие терпеноиды как фитол, β-селинен и артемизиа кетон которые можно использовать для последующей химической модификации3,4.

Литература

Сулейменов Е.М., Шамьянов И.Д., Кулыясов А.Т., Адекенов С.М. Выделение артемизинина и артеаннуина В из Artemisia annua L. Сб.”Мат. Межд. Научн. конф. ботаников-ресурсоведов”. Алматы.2000.С.169-170.

Suleimenov Ye. M., Atazhanova G.A., Ozek T., Demirci B., Adekenov S. M., Basher K.H.C. 4th Int. Symp. Chem. Nat. Compounds, 6-8 June, 2001, Isparta, Turkey, p.65.

Сулейменов Е.М., Атажанова Г.А., Кулыясов А.Т., Дембицкий А.Д., Ралдугин В.А., Адекенов С.М Новые пиразольные производные артемизиа кетона и пулегона Сб.”1-ая Всеросс. конф. химии гетероциклов памяти А.Н.Коста”. Суздаль. 2000.С.368

Лузина О.А., Сулейменов Е.М., Адекенов С.М.,. Атажанова Г.А, Салахутдинов Н.Ф., Бархаш В. А. Фотохимическая перегруппировка артемизиакетона. ЖОрХ. 2001.-Т.37, вып. 5-с.776-777.

LIPOPHILIC FRACTIONS COMPONENTS OF ARTEMISIA ANNUA L.

Ye. M. Suleimenov[1]*, T. Ozek[2], B. Demirchi[2], S. M. Adekenov[1], K.H.C. Basher[2]

[1]: *Institute of Phytochemistry Ministry of Education and Science of Republic of Kazakhstan*
[2]: *Anadolu University Medicinal and Aromatic Plant and Drug Research Centre (TBAM)*
e-mail: arglabin@mail.krg.kz

The artemisinine is a cadinane type β-lactone and basic active substance in treatment of malaria and other parasitical diseases1. With the purpose of complex utilization of raw material we analyzed 3 lipophilic fractions

of Artemisia annua L., obtained by column chromatography during artemisinine isolation in production in Institute of Phytochemistry.

Composition of fractions was analyzed by the method of GC/MS using a Hewlett-Packard GCD system. Library search was carried out using Wiley GC/MS Library and TBAM Library of Essential oil constituents. The main components of fractions in comparison with essential oil composition2 shown in the Table.

Table. Artemisia annua L. fractions and essential oil composition

Component	Fractions area			% Essential oil area
	% 1	% 2	% 3	
β-Pinene	-	-	-	7.8
Artemisia ketone	-	5.1	1.8	1.9
Camphor	-	16.3	8.6	10.9
β-Caryophyllene	4.3	1.5	-	8.1
trans-Pinocarveole	-	1.7	16.8	2.6
β-Selinene	50.2	8.5	-	23.4
Caryophyllene oxide	6.0	8.2	1.0	3.6
Phytol	5.8	3.2	44.3	0.2

Thus using column chromatography method is convenient way for obtaining along with main product artemisinine another terpenoids such as phytol, β-selinene and artemisia ketone, which is possible to use in further chemical modifications3,4.

Lıterature

Suleimenov Ye. M., Shamyanov I.D., Kulyjasov A.T., Adekenov S. M. Artemisinine and arteannuin B isolation from Artemisia annua L. In."Mat. Mezhd. Nauchn. Konf. Botanikov-resursovedov ". Almaty.2000.P.169-170.

Suleimenov Ye. M., Atazhanova G.A., Ozek T., Demirci B., Adekenov S. M., Basher K.H.C. 4th Int. Symp. Chem. Nat. Compounds, 6-8 June, 2001, Isparta, Turkey, p.65.

Suleimenov Ye. M., Atazhanova G.A., Kulyjasov A.T., Dembitskii A.D., Raldugin V.A., Adekenov S. M. New pyrazoline derivatives of artemisia ketone and pulegone. In."1-aya Vseross. konf. khimii heterocyclov pamjati A.N.Kosta. ". Suzdal. 2000. P.368

Luzina O.A., Suleimenov Ye. M., Adekenov S. M., Atazhanova G.A., Salahutdinov N.F., Barhash V.A. Photochemical rearrangement of artemisia ketone. Zhurnal organ. khimii. 2001.-V.37, -P.776-777.

СОСТАВ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ ARTEMISIA ABSINTHIUM L. И A. KASAKORUM (KRASCH.) PAVLOV ФЛОРЫ КАЗАХСТАНА

Е.М.Сулейменов[a], А.Т.Кулыясов[a], Т. Озек[b], Б. Демирчи[b], С.М.Адекенов[a], К. Х. Ч. Башер[b]

[a]: *Институт фитохимии МОН Республики Казахстан*

[b]: *Исследовательский центр медицинских и ароматических растений и лекарств Анадолийского Университета (TBAM)*

e-mail: arglabin@mail.krg.kz

В продолжение химического изучения флоры Казахстана мы проанализировали состав эфирных масел полыней Artemisia absinthium L. и A. kasakorum (Krasch.) Pavlov.

Изучение состава эфирного масла эндемичного вида A. kasakorum (Krasch.) Pavlov. проведено впервые.

Надземную часть A. absinthium L. собирали в Аксайском ущелье Заилийского Алатау Алматинской области в августе 1999 года, а надземную часть A. kasakorum (Krasch.) Pavlov - в окрестностях поселка Догалан Семипалатинской области в августе 1994 года.

Эфирные масла полыней получали методом водной дистилляции на аппарате Клевенджера в течение 2 часов. Выход эфирных масел составил 0.53% для A. absinthium L. и 0.12% для A. kasakorum (Krasch.) Pavlov. Состав эфирного масла исследовали методом хромато-масс-спектрометрии на приборе Hewlett-Packard GCD. Компоненты идентифицировали, используя библиотеку Wiley GC/MS Library и библиотеку компонентов эфирного масла TBAM Library.

В составе эфирного масла A. absinthium идентифицировано 97 компонентов, составляющих 91.4% от всех обнаруженных. Сабинил ацетат - 32.8%, мирцен - 18.6%, цис-хризантенил ацетат - 7.7%, сабинен -

4.0%, линалоол - 2.1%, транс-сабинол - 2.0% и β-кариофиллен - 1.9% охарактеризованы как основные компоненты.

В составе эфирного масла A. kasakorum идентифицировано 53 компонента, составляющих 67.5% от всех обнаруженных. Сабинил ацетат - 12.9%, транс-сабинол - 4.6%, 1,8-цинеол - 4.3%, камфора - 3.7%, п-цимен -3.4%, β-туйон - 3.0%, 2,6,10,14-тетраметилпентадекан - 3.0%, β-туйон - 2.7%, терпинен-4-ол - 2.5%, куминовый альдегид - 2.4%, гексадекановая кислота - 2.3%, эйкозан - 1.8% и шпатуленол - 1.7% охарактеризованы как основные компоненты.

ARTEMISIA ABSINTHIUM L. AND A. KASAKORUM (KRASCH.) PAVLOV ESSENTIAL OIL CONSTITUENTS FROM KAZAKSTAN

Ye. M. Suleimenov[1], A. T. Kulyjasov, T. Ozek[2], B. Demirchi[2], S. M. Adekenov[1], K.H.C. Basher[2]

[1]: Institute of Phytochemistry Ministry of Education and Science of Republic of Kazakhstan
[2]: Anadolu University Medicinal and Aromatic Plant and Drug Research Centre (TBAM)

In continuation of chemical study of Kazakstan flora we analyzed essential oil composition of Artemisia absinthium L. and A. kasakorum (Krasch.) Pavlov.

The essential oil composition of endemic type A. kasakorum (Krasch.) Pavlov. was investigated first time.

The aerial parts of A. absinthium L. were collected in Zailiiskii Alatau Aksai canyon of Almaty region in August 1999 and the aerial parts of A. kasakorum (Krasch.) Pavlov – in Dogalan village of Semipalatinsk region in August 1994.

Essential oil of wormwoods was obtained by water distillation procedure for 2 h using Clevendger-type apparatus. Yield of essential oil is 0.53% for A. absinthium L. and 0.12% for A. kasakorum (Krasch.) Pavlov. Composition of essential oil was analyzed by the method of GC/MS using a Hewlett-Packard GCD system. Library search was carried out using Wiley GC/MS Library and TBAM Library of Essential oil constituents.

97 components were characterized in the essential oil of A. absinthium, representing 91.4% of the total oil. Sabinyl acetate - 32.8%, myrcene - 18.6%, cis-chrysantenyl acetate - 7.7%, sabinene - 4.0%, linalool - 2.1%, trans-sabinol - 2.0% and β-caryophillene - 1.9% have been characterized as major components.

53 components were characterized in the A. kasakorum essential oil, representing 67.5% of the total oil. Sabinyl acetate - 12.9%, trans-sabinol - 4.6%, 1,8-cineole - 4.3%, camphor - 3.7%, p-cymene -3.4%, β-tujone - 3.0%, 2,6,10,14-tetramethylpentadecane - 3.0%, β-tujone - 2.7%, terpinen-4-ol - 2.5%, cumin aldehyde - 2.4%, hexadecanoic acid - 2.3%, eicosan - 1.8% and spatulenol - 1.7% have been characterized as major components.

КОМПОНЕНТЫ ЭФИРНОГО МАСЛА ZIZIPHORA BUNGEANA JUS. ФЛОРЫ КАЗАХСТАНА

Е.М.Сулейменов[a], А.Т.Кулыясов[a], Т. Озек[b], Б. Демирчи[b], С.М.Адекенов[a], К. Х. Ч. Башер[b]

[a]: Институт фитохимии МОН Республики Казахстан
[b]: Исследовательский центр медицинских и ароматических растений и лекарств Анадолийского Университета (TBAM)
e-mail: arglabin@mail.krg.kz

Известно, что экстракты на основе Ziziphora bungeana Jus. обладают различными видами биологической активности [1,2]. В связи с этим мы исследовали эфирного масла зизифоры.

Надземная часть Ziziphora bungeana Jus. была собрана в Тарбагатае в 1994 году. Эфирное масло получали методом водной дистилляции на аппарате Клевенджера в течение 2 часов. Выход составил 0.66%. Состав масла исследовали методом хромато-масс-спектрометрии на приборе Hewlett-Packard. Компоненты идентифицировали, используя библиотеку Wiley и библиотеку TBAM Library. Идентифицированно 85 компонентов, составляющих 92.5% от всех обнаруженных. Пулегон – монотерпеновый кетон – основной компонент эфирного масла и его содержание составляет 56.3%. Кроме того основными компонентами являются – изоментон - 7.7%, ментон - 6.2%, пиперитон - 2.3%, trans-изопулегон - 1.7%, тимол - 1.4%, изоментол – 1.4% и β-пинен - 1.0%.

Пулегон и его изомеры используются как оптически активные синтоны в полном синтезе природных соединений и биологически-активных веществ [3]. Таким образом Ziziphora bungeana Jus. может служить возобновляемым источником данного монотерпена.

Literature

Dzhumagalıeva F. D. Effect of Zızıphora bungeana preparatıons upon blood coagulatıon. Vestn Akad Nauk Kaz SSR, 19, 3, 60 (1963)

Dzhumagalıeva F.D., Kul'zhanov Z. K., Effect of Zızıphora bungeana extract on heart vessels. Akad Nauk Kaz SSR, 11, 15-19 (1968)

Suleimenov Ye. M., Majed Khan A., Atazhanova G.A., Choudhary M. I, Khasenov B. K, Turdybekov K. M., Kulyjasov A. T., Dembitsky A. D, Adekenov S. M. Synthesis and crystal structure of pyrasoline derivative of pulegone. Heterocycles, 2000.Vol. 53, No.12.pp. 2001-6.

CONSTITUENTS OF ZIZIPHORA BUNGEANA JUS. ESSENTIAL OIL FROM KAZAKSTAN

Ye. M. Suleimenov[1], A. T. Kulyjasov[1], T. Ozek[2], B. Demirci[2], S. M. Adekenov[1], K.H.C. Basher[2]

[1]: *Institute of phytochemistry MES RK*
[2]: *Anadolu University Medicinal and Aromatic Plant and Drug Research Centre (TBAM)*
e-mail: arglabin@mail.krg.kz

It is known, that extracts of Ziziphora bungeana Jus. have different types of biological activities [1,2]. In this connection we have investigated its essential oil composition.

The aerial parts of Ziziphora bungeana Jus. were collected in Tarbagatai in 1994. Essential oil was obtained by water distillation procedure for 2 h using Clevendger-type apparatus. Yield of essential oil is 0.66%. Composition of essential oil was analyzed by GC/MS using a Hewlett-Packard GCD system. Library search was carried out using Wiley GC/MS Library and TBAM Library of Essential oil constituents.

85 components were characterized, representing 92.5% of the total oil. Pulegone, a monoterpene ketone is the main component of essential oil of the Ziziphora bungeana Jus., and its content in the essential oil is 56.3%. Also isomenthone - 7.7%, menthone - 6.2%, piperitenone - 2.3%, trans-isopulegone - 1.7%, thymol - 1.4%, isomenthol – 1.4%, β-pinene - 1.0% have been characterized as major components.

Pulegone and its isomers had been utilized as chiral building blocks for total synthesis of natural compounds an new bioactive compounds [3]. Thus Ziziphora bungeana Jus. can serve as renewable source of pulegone.

Literature

Dzhumagalıeva F. D. Effect of Zızıphora bungeana preparatıons upon blood coagulatıon. Vestn Akad Nauk Kaz SSR, 19, 3, 60 (1963)

Dzhumagalıeva F.D., Kul'zhanov Z. K., Effect of Zızıphora bungeana extract on heart vessels. Akad Nauk Kaz SSR, 11, 15-19 (1968)

Suleimenov Ye. M., Majed Khan A., Atazhanova G.A., Choudhary M. I, Khasenov B. K, Turdybekov K. M., Kulyjasov A. T., Dembitsky A. D, Adekenov S. M. Synthesis and crystal structure of pyrasoline derivative of pulegone. Heterocycles, 2000.Vol. 53, No.12. pp.2001-6

ПЕРСПЕКТИВИ ЗАСТОСУВАННЯ НОВИХ КОМПЛЕКСІВ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН ІЗ ТВАРИННИХ ТКАНИН ДУБОВОГО ШОВКОПРЯДА

В.О.Трокоз, Т.Б.Аретинська

Національний аграрний університет
e-mail: tassar@ukrpost.net

Широке розповсюдження різноманітних захворювань людини й тварин та стійкий дефіцит лікувально-профілактичних препаратів вітчизняного виробництва диктують необхідність пошуку нових джерел одержання біологічно активних речовин та їх вивчення. В умовах України об’єктом для такої роботи є тваринні тканини дубового шовкопряда. Встановлено, що лялечки дубового шовкопряда мають цінний біохімічний склад, який дозволяє одержувати з них високоактивні сполуки. Вміст жирних кислот у молодих лялечках становить 61,2 %. Великий запас глікогену, що досягає перед завиванням 20 % сухої речовини, поступово зменшується протягом лялечкового періоду і до кінця його стає дуже малим. Загальний вміст білків у лялечках становить 70 %. З них виділено 8 % аргініну, 4 - лізину, 8 - гістидину, 7 % тирозину. Зареєстровано порівняно високий вміст вітамінів A, B, D, E. Складний механізм метаморфозу та досить оригінальний склад лялечок шовкопряда дозволили висунути припущення

про можливість раціонального використання їх з метою виготовлення лікувально-профілактичних препаратів, косметичних засобів, кормових добавок тощо.

Згідно із запатентованим нами методом із біомаси лялечок дубового шовкопряда було одержано жирові продукти рідкої консистенції, які утворюють дрібнодисперсні емульсії під впливом ультразвуку, та водорозчинний комплекс біологічно активних речовин. Визначено параметри гострої токсичності. Виявилося, що досліджувані продукти відносяться до класу низькотоксичних речовин (LD50 коливається від 0,65 г/кг до 60 г/кг при внутрічеревному уведенні). Встановлено високий рівень протипухлинної активності в умовах in vitro та in vivo. Так, виявлена наявність протипухлинної активності в умовах in vitro у восьми зразків із дванадцяти (штами пухлин: саркома-37, карцинома Ерліха, лейкоз НК/ЛИ) та в умовах in vivo – у шести продуктів із дванадцяти. Гальмування росту пухлини при використанні асцитної форми карциноми Ерліха в умовах in vivo для окремих зразків досягало 91 %. Виявлено високий рівень бактерицидної (стафілококи, мікрококи, ешеріхія та ін.) та фунгіцидної активності, а також позитивний вплив зразків біологічно активних комплексів на функціональний стан формених елементів крові (еритроцити, лейкоцити), протизапальна дія та антиалергенні властивості біологічно активних продуктів із лялечок дубового шовкопряда. Одержані комплекси речовин ефективно захищають організм від дії летальних і снотворних доз алкоголю, послаблюють і скорочують абстинентний синдром у морфінзалежних тварин і тому придатні для лікування наркоманії та алкоголізму. Гідрофільні екстракти із лялечок шовкопряда зменшують гіпоксичне навантаження на організм, а також проявляють протекторну дію при шлункових виразках. Вони здатні покращувати загальний стан та продуктивність тварин, проявляють позитивну активність при розладах травлення у телят та поросят, мають високий рівень антитоксичної активності. Це досягається завдяки оригінальному складові вивченого екстракту, куди входить 720 мг/л цукрів, 9940 мг/л азоту, 400 мг/л фосфору, 505 мг/л натрію, 275 мг/л калію, 4770 мг/л білку та 2984,4 мг/л незамінних і замінних амінокислот.

Отже, тканини лялечки дубового шовкопряда є важливим джерелом одержання біологічно активних речовин, які з успіхом можуть застосовуватися в медицині, косметології та тваринництві.

СЕКЦИЯ:

«БИОТЕХНОЛОГИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ»

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ ЛАКТАТОКСИДАЗЫ АЭРОКОККОВ

Вольчук С.И., Шарун О.В., Никулина О.А., Бицкий В.В.
e-mail: kremengena@mail.ru , kremen@dsma.dp.ua

Для решения вопроса о природе окисления лактата аэрококками были проведены эксперименты с целыми клетками, лизатами клеток, в присутствии и отсутствии НАД, в стационарных и встряхиваемых реакционных системах. Реакция окисления лактата проводилась при 37°С. Условия аэрации при окислении лактата достигались путем встряхивания пробирок в шутель-аппарате. Анализ полученных результатов позволил сделать вывод, что все изученные штаммы аэрококков имеют активную аэробную НАД- независимую лактатдегидрогеназу /лактатоксидазу «ЛО»/.

Биомасса аэрококков накапливалась на обагащенной среде следующего состава: на 1 л водопроводной воды веществ в граммах:

Никотиновая кислота 0,05
Пантотенат кальция 1,0
Аденин ....…….... 0,1
Казеин /свободный от витаминов/….. 1,0
Инозит ... .….....1,0
Глюкоза 10,0
Марганец глицерофосфат ..…….... 0,4
Натрий хлорид .. ..…….....15,0
Солевой состав ....…….... 5-я часть; /200 мл/
Твин-80 .. ..….....0,5 мл
Питательный агар 30,0

Суточная культура аэрококков смывалась 0,01М фосфатным буфером / рй 7,4 /. Суспензия промывалась дважды в том же буфере при центрифугировании в течение 30 мин при 3000 об/мин. Лиэат в зависимости от целей исследований получали двумя методами. Клетки аэрококков лизировали с помощью лизоцима, добавляемого в концентрации 5 -7 мг на 10 мл суспензии при 37°С в течение 30 мин, или лизис проводили о помощью ультразвуковой обработки клеток на холоду. Лизат освобождался от осадка с помощью центрифугирования при 8 000 об/мин 30 мин на холоду. К супернатанту добавлялся сульфат аммония до 50% насыщения. Выпадающий осадок отделялся центрифугированием при тех же условиях и растворялся в 0,01М фосфатном буфере /рН 7,4/. Производилось вторичное переосаждение осадка сульфатом аммония и его растворение в фосфатном буфере. Раствор ферментного комплекса /ФК / диализовался в течение 20 часов против дистиллированной воды.

Реакция окисления молочной кислоты ферментным комплексом аэрококков оказалась высокоспецифичной. Начиная с концентрации молочной кислоты 4,25 мкМ и ниже в системе накапливается эквимолярное количество пировиноградной кислоты. При повышенных концентрациях лактата, выше 4,25 мкМ, количество накапливаемого пирувата ниже количества окисляемого лактата. Этот факт, по-видимому, связан с неэнзиматическим разрушением пирувата водород пероксидом / А.Уайт и др., I98I/.

Зависимость накопления пирувата в системе окисления лактата ферментным комплексом аэрококков от концентраций лактата удовлетворительно описывается уравнением:

$y = K*x$

где К1 = 0,48 при концентрации лактата выше 4,25 мкМ, и
К2 = 1,03 при концентрации лактата ниже 4,25 мкМ.

КЛОНИРОВАНИЕ И НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ СИНТЕЗА ScFv-ФРАГМЕНТА ИММУНОГЛОБУЛИНА МЫШИ К α2 - ИНТЕРФЕРОНУ ЧЕЛОВЕКА В РАЗНЫХ ЭКСПРЕССИОННЫХ СИСТЕМАХ E. COLI

Гилчук П., Дерябина Е., Окунев О.

Институт Молекулярной биологии и генетики НАН Украины
e-mail onix@imbg.org.ua

Применение антител на данном этапе развития биотехнологии в молекулярно-биологических исследованиях, иммунотерапии, клинической диагностике, создании аффинных сорбентов и биосенсорных систем для высокопродуктивного скрининга обуславливает все большую потребность в

наличии моноклональных, высокоочищеных препаратов иммуноглобулинов. Использование RPAS-технологии (Recombinant Phage Antibody system, Pharmacia) совмещает два подхода - молекулярно-биологический и иммунологический, что позволяет клонировать паратоп мышиных IgG - ScFv (single-chain Fv fragment), экспресссировать его в клетках E. coli в растворимой или экспонированой на фаговом капсиде форме, а также проводить детекцию и очистку. Возможность прямого клонирования с применением различных векторных систем и хозяйских штаммов, а также проведение инженеринга белка путем структурных модификаций ScFv-гена делает перспективным использование RPAS-технологии разработчиками в области генной инженерии, драг-дизайна, а также молекулярно-биологических исследований.

RPAS-технология была использована нами для клонирования ДНК ScFv-фрагмента иммуноглобулина мыши к α2 -интерферону человека в фагмидный вектор. В целях получения белка с задаными аффинными характеристиками были предложены несколько подходов для обогащения библиотеки кДНК селезенки мыши путем иммуноспецифической сорбции фага на иммобилизированном антигене. Реинфекция фаговыми частицами клеток экспрессионного штамма E. coli обеспечивала синтез растворимых антител в культуральную среду, однако, вследствие токсического эффекта, обусловленного экспрессией белка, наблюдался значительный лизис культур, полученные клоны были генетически нестабильны, что проявлялось в снижении, а затем и полной потере экспрессионной активности. Клонирование гена ScFv без лидерного пептида под Т7-промотор и использование системы "pET-24a - BLDE3" позволило стабилизировать культуру в пассажах, снизить клеточный лизис и значительно повысить уровень экспрессии за счет синтеза целевого белка в тельца-включения. Некоторые разработанные подходы солюбилизации и стабилизации белка, а также применение метода металл-хелатирующей хроматографии для последующих этапов очистки и рефолдинга целевого продукта позволяют прямо определять антиген-связывающую активность в ELISA и электрофоретическими методами.

CLONING AND SOME PECULIARITIES OF THE SYNTHESIS OF THE MOUSE IMMUNOGLOBULIN ScFv-FRAGMENT AGAINST HUMAN α2-INTERFERON IN DIFFERENT E.COLI EXPRESSING SYSTEMS

P.Gilchuk, E.Deryabina, O.Okunev.

Institute of Molecular biology and genetics NAS of Ukraine
e-mail onix@imbg.org.ua

Antibody utilization at contemporary stage of biotechnology development in molecular biology investigations, immunotherapy, clinical diagnostics, creation of affinity sorbents and biosensor systems for high productive screening causes the increasing requirement of monoclonal highly purified immunolobulins preparations existence. RPAS—technology (Recombinant Phage Antibody system, Pharmacia) using combines two approaches: of molecular biology and immunological. These permit cloning of mouse IgG - ScFv (single-chain Fv fragment) paratope, its expression in E.coli in soluble form or exposed of phage capsid, detection and purification. The possibility of direct cloning with different vector systems and host strains, as well as conducting of protein engineering through structural ScFv gene modifications, makes the use of RPAS-technology perspective for those working in genetic engineering, drug-design and for the investigations in molecular biology.

We used RPAS-technology for cloning of mouse immunoglobulin ScFv-fragment DNA against human α2-interferon into phagemid vector. To obtain the protein with the assigned affinity characteristics, some approaches of enrichment of mouse spleen cDNA library by immunospecific phage sorbtion on immobilized antigen were suggested. Reinfection of expressing E.coli strain with phage particles led to the synthesis of soluble antibodies into culture medium, but due to toxic effect caused by such expression, significant culture lysis was observed; clones obtained were genetically unstable that was manifested in decreasing and then in full loss of expression activity. Cloning of ScFv-gene without leader sequence under T7-promotor and use of “pET-24a-Bl DE3” system let to stabilize culture in passages, decrease cell lysis and significantly increase the level of expression due to the synthesis of target protein in inclusion bodies. Some developed approaches of protein solubilization and stabilization, as well as use of metal-affinity chromatography for following stages of purification and refolding of target product, permit to determine directly the antigen-binding activity in ELISA and by the methods of electrophoresis.

СИНТЕЗ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПЛАТИНОСОДЕРЖАЩИХ ПОЛИАНИОНОВ ДНК В БИОТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ВИРУСНЫХ АНТИГЕНОВ

В.Н.Гирин, И.В.Дзюблик, Е.П.Трохименко

Кафедра вирусологии Киевской медицинской академии последипломного образования МЗ Украины
E-mail: kaf_vir@KMAPO.kyiv.ua

Производство биологически активных вирусных препаратов предусматривает широкое использование клеточных культур. Современные биотехнологические подходы диктуют необходимость разработки таких методов культивирования клеток, которые обеспечивали бы создание оптимальных условий для их роста, активного биосинтеза вирусных макромолекул, повышение выхода вирусов без увеличения объемов клеточного субстрата. В связи с этим особое значение приобретает поиск новых способов синхронизации клеток в определенной, наиболее продуктивной фазе клеточного цикла, что значительно увеличит выход биомассы вирусов и их антигенов. В качестве индуктора синхронизации клеточных культур наше внимание привлекло координационное соединение двухвалентной платины (цис-дихлородиамминплатина(II) (ДДП). Это высокотоксичное соединение с выраженной антипролиферативной активностью по отношению к интенсивно делящимся опухолевым клеткам, механизм действия которого заключается в необратимом блокировании репликации клеточной ДНК. Ранее ДДП и его аналоги никогда не использовались в биотехнологии для синхронизации клеточных культур и получения вирусов или вирусных антигенов.

Цель работы состояла в синтезе менее токсичных аналогов ДДП и исследовании возможности их использования в биотехнологии при получении вирусных антигенов.

В работе использовали цис-дихлородиамминплатину(II) и ДНК с молекулярной массой свыше 106 Д, выделенную из различных тканей животных и человека по разработанному нами способу (А.с. СССР №1081171). Соединения ДДП с ДНК получали согласно (А.с. СССР №.1403408), их физико-химические свойства изучали методами УФ-, ИК- спектрофотометрии и вискозиметрии. Биологические свойства синтезированных соединений исследовали в культурах клеток и на лабораторных животных. Их влияние на клеточный цикл изучали в культурах клеток НЕР-2, L-41, СПЭВ и VERO. В этих же клетках, культивируемых в присутствии полученных соединений, изучали репродукцию некоторых РНК-геномных вирусов: полиомиелита 2 типа (штамм Себин), вируса везикулярного стоматита (ВВС, штамм Индиана),, ротавируса свиней (штамм К) и вируса Коксаки В6.

Было показано, что в результате взаимодействия ДДП с ДНК в водно-солевом растворе образовывались новые соединения – платиносодержащие полианионы ДНК (ЕП №0374267 А1), которые были в 30 раз менее токсичными, чем ДДП. Их физико-химические и биологические свойства существенно отличались от таковых у исходных компонентов. Был определены концентрации платиносодержащих полианионов ДНК,, обеспечивающие синхронизацию более 90 % клеток субстратных клеточных культур в G1-фазе клеточного цикла, наиболее оптимальной для репродукции в них указанных выше вирусов (Патент №2088661, Россия; Патент №24026, Украина). Культивирование актуальных РНК-геномных вирусов в таких синхронизированных клеточных системах повышало их выход в 100-10000 раз без наращивания объемов клеточного субстрата. Полученные результаты могут быть использованы в биотехнологии для повышения продуктивности производства вирусов, вирусных антигенов, различных диагностических и вакцинных препаратов.

Ссылки на авторские свидетельства и патенты, обладателями которых являются авторы

1. А.с. СССР № Ас.1081171Способ выделения дезоксирибонуклеиновой кислоты /Трохименко Е.П., Кейсевич Л.В., Пеньковская Н.П., Лозинский М.О., Середа А.Г.(Приор.31.05.82, утверждено 9.06.83, опубл.23.03.84.,Бюл №.11).

2. А.с.СССР №1403408Способ исследования антибластического действия цис-ихлородиамминплатины /Шалимов С.А., Трохименко Е.П., Кейсевич Л.В., Волченскова И.И., Майданевич Н.Н., Бударин Л.И. (Приор.15.11.85, утверждено 29.04.88 "Т" (для служебного пользования).

3. Евротейский патент ЕР 0374267 А1 Производные платины(П) с полианионом дезоксирибонуклеиновой кислоты, способ их получения и лекарственный препарат противоопухолевого действия на их основе /Волченскова И.И., Майданевич Н.Н., Бударин Л.И., Кейсевич Л.В., Трохименко Е.П., Шалимов С.А. (Международная заявка PCT WO 89/11861, от 14.12.89).

4.Патент №2088661, Россия Способ синхронизации клеток в G1-фазе клеточного цикла /Дзюблик И.В., Трохименко Е.П., Кейсевич Л.В. (Бюлл. ИСМ, 1997.-№24.-С.20).

5.Патент №24026, Україна Спосіб синхронізації клітин у G1-фазі клітинного циклу / Дзюблик І.В., Трохименко О.П., Кейсевич Л.В. (МПК6, С12N 5/02; С12N5/00 -Бюл.Промислова власність України.-1998.-№4.-31.08.98).

SYNTHESIS AND USAGE OF PLATINUM CONTAINING DNA POLYANIONS IN BIOTECHNOLOGY OF VIRUS ANTIGENES OBTAINING

V.N.Girin, I.V.Dzyublic, E.P.Trokhimenko

Faculty of virology of Kiev medical academy of postgraduate education MH of Ukraine
E-mail: kaf_vir@KMAPO.kyiv.ua

Manufacture of biologically active substances, such as viruses, virus antigenes, antiviral vaccines etc. provides obligatory use of cell cultures. The modern biotechnological approaches determine necessity of development of such cell cultivation methods, which might ensure creation of optimal conditions for cell growth, active biosynthesis of virus macromolecules, increase of viruses output without increase of cell substratum volumes. In this connection a special significance takes on search of new ways for the synchronizing of cells in a certain, most productive for propagation phase of cell cycle, that considerably will increase an output of viruses and their antigenes. The coordination divalent of platinum compound (cis-diamminedichloroplatinum)(II) (DDP) has attracted our attention as an inductor of cell culture synchronization. It is utterly toxic drug with expressed antiproliferative activity regarding to intensively dividing cancer cells, the mechanism of which action consists in irreversible blocking of cell DNA replication. DDP and its analogues were never earlier used in biotechnology for synchronization of cell cultures or for reception of viruses and virus antigenes.

The purpose of work consists in synthesis of less toxic analogues of DDP and research of an opportunity of their use in biotechnology at reception of virus antigenes.

Cis-diamminedichloroplatinum(II) and DNA (molecular weight more than 106 D) allocated from various fabrics of animals and man on the way, developed by us (Pat. USSR № 1081171) were used in the work. The compounds of DDP with DNA were received according to (Patent USSR №1403408). The physics-chemical properties of them were studied by UV-, IR- spectrometry, viscosimetry methods. The biological properties of the synthesized compounds were investigated in cultures and on laboratory animals. The influence ща сщьзщгтві on cell cycle was studied in cell cultures HEP-2, L-41, СПЕВ and VERO. In the same cells, cultivated at the presence of the received compounds, there was studied reproduction of some RNA-genom viruses: poliovirus 2 such as (Sebin strain), vesicular stomatatis virus (VSV, Indiana strain), rotavirus of svine (K strain) and virus Koxaky B6.

There was shown, that in result of interaction DDP with DNA in a water-salt solution were formed new compounds – platinum containing polyanions of DNA (EP №0374267 A1) which were 30 times less toxic than DDP. Their physics-chemical and biological properties essentially differ from those at initial components. There were determined concentrations of platinum containing polyanions of DNA providing synchronization of more than 90 % of cells in substrate cell cultures in a G1-phase of cell cycle, which is most optimal for reproduction of the mentioned above viruses in them (Patent №2088661, Russia; the patent №24026, Ukraine). Cultivation of urgent RNA-genom viruses in such synchronized cell systems raised their output 100-10000 times without escalating volumes of cell substratum. The received results can be used in biotechnology for increase of efficiency of manufacture of viruses and virus antigenes.

ПОИСК И СОЗДАНИЕ ИММУНОПОТЕНЦИИРУЮЩИХ КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ РОТАВИРУСНЫХ АНТИГЕНОВ

В.Н.Гирин, И.В.Дзюблик, Е.П.Трохименко, Е.В.Ковалюк, Е.М.Билоткач

Кафедра вирусологии Киевской медицинской академии последипломного образования МЗ Украины
E-mail: kaf_vir@KMAPO.kyiv.ua

Создание высокоэффективных средств борьбы с важнейшими инфекционными заболеваниями человека и животных продолжает оставаться одной из ключевых проблем современной микробиологии, вирусологии, иммунологии. Одним из перспективных направлений на этом пути является создание вакцинных и иммунодиагностичеаких препаратов с использованием иммунопотенциирующих компонентов. Комплексирование протективных антигенов с иммунопотенциирующим компонентом способно обеспечить качественный скачек их иммуногенности, более полное раскрытие их антигенных детерминант и улучшение процессов взаимодействия с рецепторами к антигенам на поверхности иммунокомпетентных клеток.

Цель работы состояла в поиске перспективных иммунопотенциирующих компонентов среди платиносодержащих полианионов ДНК для создания безопасной ротавирусной вакцины с повышеной иммуногенностью.

Среди ряда платиносодержащих полианионов ДНК, в которых биолиганд был представлен ДНК, полученной из различных тканей млекопитающих и человека, нами был выбран препарат, в состав которого входила ДНК из селезенки теленка. Им оказался поли{гексакис[хлороаминоаквaплатина(II)]}μ -дезоксирибонуклеат с химической формулой $[PtCl(NH_3)(H_20)]_6C_{39}H_{49}O_{32}H_{15}P_{41}$, который после соответствующей модификации использовался в качестве иммунопотенциирующего компонента. Его применяли в виде стерильного цитратно-солевого раствора с содержанием основного вещества от 5,2 до 6,4 г/дм3 и содержанием платины от 2,0 - до 2,2 г/дм^3. В работе использовали ротавирус обезьян штамм SA-11 с инфекционной активностью $10^{5,0}$ $ТЦД_{50}$/мл, который культивировали в перевиваемых культурах клеток СПЭВ или Vero по разработанному нами методу (А.с. СССР №1760761).

Полученный мультимерный комплекс иммунопотенциирующего компонента и ротавирусных антигенов был предложен в качестве экспериментальной инактивированной вакцины для иммунизации животных против ротавирусного гастроэнтерита (Патент № 2095083, Россия; Патент №24024, Украина). Основные иммунобиологические свойства вакцины были исследованы на лабораторных (мыши, кролики) и сельскохозяйственных (свиньи, крупный рогатый скот) животных. Установлено, что титры специфических антител в сыворотке крови после введения вакцины на 2,5-3,0 $\log_2$ превышал аналогичные показатели в контрольных группах животных. Антитела молозива и молока двукратно вакцинированных супоросных свиноматок на 87,5 % защищали новорожденных поросят при их экспериментальном заражении полевым штаммом ротавируса в дозе 1000 ЛД50. Достоверно повышались показатели неспецифической резистентности - бактерицидная и лизоцимнаая активности сыворотки крови вакцинированных животных. Динамика содержания Т- и В-лимфоцитов в их крови указывали на формировании полноценного иммунного ответа с активацией его Т- клеточного звена.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования модифицированных платиносодержащих полианионов ДНК из селезенки теленка в качестве иммунопотенциирующих компонентов для ротавирусных антигенов в составе ротавирусных вакцин.

Ссылки на авторские свидетельства и патенты, обладателями которых являются авторы

1. А.с. СССР №1760761. Способ культивирования ротавируса обезьян /Гирин В.Н., Дзюблик И.В., Трохименко Е.П., Кейсевич Л.В., Шалимов С.А., Волченскова И.И., Майданевич Н.Н.(приор.29.08.89, утв.25.10.91., гриф "П" (патентование)

"П"

.2.Патент №2095083, Россия Вакцина ротавирусная инактивированная для иммунизации животных/ Дзюблик И.В., Трохименко Е.П., Гирин В.Н., Шалимов С.А., Кейсевич Л.В. (опубл. Бюлл.ИСМ, 1997.-№31, ч.2.-С.271)

.3. Патент №24024, Україна Вакцина ротавірусна інактивована для імунізації тварин/ Дзюблик І.В., Трохименко О.П., Гирін В.М., Шалімов С.О., Кейсевич Л.В., . (МПК6, А61К 39/15- Бюл.Промислова власність України.-1998.-№4.-31.08.98)

SEARCH AND CREATION OF IMMUNOPOTENTIATING COMPONENTS FOR ROTAVIRUS ANTIGENES

V.N.Girin, I.V.Dzyublic, E.P.Trokhimenko

Virology department of Kyiv Medical Academy of Postgraduate Education named after P.L.Shupik
E-mail: kaf_vir@KMAPO.kyiv.ua

The creation of highly effective means of struggle with major infectious diseases of the man and animals continues to remain one of key problems of modern microbiology, virology, immunology. One of perspective directions on this way is the creation of vaccine and immunodiagnostic preparations with use immunopotentiating of components. Integration of protective antigenes with immunopotentiating component is capable to ensure great qualitative advance of their immunogenicity, more complete disclosing of their antigenic determinants and improvement of processes of interaction with receptors to antigenes on a surface of immunorespective cells.

The purpose of work consist in search of perspective immunopotentiating components among platinumcontaining polyanions of DNA for creation of safe rotavirus vaccine with advanced immunogenicity.

Among a number of platinumcontaining polyanions of DNA, in which bioligand was submitted by DNA, received from various fabrics of mammals and man, we chose a preparation, into which structure entered DNA from селезенки теленка. It has appeared poly{hexakys [chloroammineaquaplatina(II)]}-μ-deoxyrybonukleat with the chemical formula $[PtCl\ (NH_3)\ (H_20)]_6C_{39}H_{49}O_{32}H_{15}P_{41}$, which was used as an immunopotentiating component after the appropriate updating. It was applied as a sterile natrium-citrate solution with the contents of the basic substance from 5,2 up to 6,4 g/dm^3 and contents of platinum from 2,0 - up to 2,2 g/dm^3. In work there was used rotavirus of the monkeys strain SA-11 with infectious activity $10^{5,0}$ $TCID_{50}$/ml, which was cultivated in cell cultures СПЭВ or Vero on the method, developed by us (Patent. USSR №1760761).

The received multimeric complex of immunopotentiating component and antiviral antigenes was offered as an experimental inactivated vaccine for immunisation of animals against rotavirus gastroenteritis (Patent № 2095083, Russia; the patent №24024, Ukraine). Basic immunobiologic properties of the vaccine were investigated on laboratory animals (mouse, rabbits) and liverstocks (pig, large horned cattle). It is established, that specific antibodies titre in whey of blood after introduction of a vaccine exceeded similar parameters in control groups of animals on 2,5-3,0 $\log_2$. The antibodies of colostrum and milk of twice vaccinated pregnant swines protected newborn pigs on 87,5 % at their experimental infection with field strain of rotavirus in a doze 1000 LD_{50}. Parameters of nonspecific resistance - bactericidal and lysozyme activity of whey of blood of vaccinated animals authentically raised. Dynamics of the contents T- and B-lymphocytes in blood of vaccinated animals indicated on formation of the high-grade immune response with activation of it's T-cell link.

The received results testify about availability of use of modified platinumcontaining DNA polyanions from calf liene as immunopotentiating of components for rotavirus antigenes in structure of rotavorus vaccines.

БИОТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ ГЛЮКОЗООКСИДАЗЫ

Гудкова Л.В., Синявская О.И., Латышко Н.В., Гудкова О.А

Институт биохимии им А.В.Палладина, Институт микробиологии и вирусологии им.Д.К.Заболотного
e-mail: chernish@paladin.biochem.kiev.ua

Фундаментальные научные исследования, проведенные в Институте биохимии и Институте микробиологии и вирусологии НАН Украины создали теоретическую базу для успешного решения проблемы глюкозооксидазы в Украине.

Установлено, что отечественный промышленный штамм гриба Penicillium vitale 1312/140 - продуцент ферментов глюкозооксидазы и каталазы, за долгие годы не утратил своих морфолого-культуральних, биохимических и высоких биосинтетических свойств, однако показано, что в условиях его культивирования идет интенсивный процесс расщепления с преобладанием неактивных вариантов. Поэтому методом многоступенчатой селекции был выделен новый активный по глюкозооксидазе и стойкий к расщеплению вариант штамма, который был назван Penicillium vitale КС-86.

Проведена паспортизация штамма и исследования на патогенность и на токсичность нового варианта. Установлено, что новый штамм принадлежит к группе авирулентных, малотоксичных и малотоксигенных микроорганизмов. Получено свидетельство о депонировании нового штамма.

Разработаны: 1)оптимальные условия двухстадийного глубинного культивирования нового штамма Penicillium vitale КС-86; 2)метод отделения культуральной жидкости от мицеллия с одновременным удалением сопутствующих балластных белков, который позволяет сохранить 100 % глюкозооксидазы в культуральной жидкости; 3)метод химической очистки глюкозооксидазы, который обеспечивает высокий выход фермента.

Физико-химические исследования свойств глюкозооксидазы позволили охарактеризовать препарат: активность - 100-300 Е/мг; удельная активность - 250-350 Е/мг белка; оптимальные условия действия препарата - pH 5,6-5,9 при температуре30-400С; хорошо растворим в воде - до 30 мг в 1мл. Разработан регламент, проект ТУ на выпуск препарата и оформлен на него паспорт. Ферментный препарат глюкозооксидазы был представлен на выставке в Экспоцентре Украины в павильоне "Наука".

Наявность отечественного продуцента и эффективность разработанной биотехнологии, которая полность сориентирована на сырьевую базу Украины, позволяет организовать производство препаратов в необходимых масштабах и удовлетворить острую потребность медицины и сельского хозяйства в этих ферментных препаратах, которые являются конкурентноспособными на мировом рынке.

ПОЛУЧЕНИЕ И СВОЙСТВА РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА Е2 ВИРУСА КЛАССИЧЕСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ

Дерябина Е.Г., Дерябин О.Н., Титок Т.Г., Окунев О.В., Кордюм В.А.

Институт ветеринарной медицины УААН, Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины

e-mail: deryabin@i.kiev.ua.

Получение рекомбинантных белков в бактериальных клетках и их применение в диагностических и вакцинных препаратах широко используется в современной медицине и ветеринарии. Особенно многообещающим направлением в данной области является создание маркированной вакцины и диагностической системы, способной выявить маркер. При использовании пары маркированная рекомбинантная вакцина – диагностикум на основе рекомбинантного белка – появляется реальная возможность не только выявления специфических антител, но и дифференциация поствакцинального и постинфекционного иммунитетов. Особо актуально данное направление для инфекций, против которых проводится широкомасштабная вакцинация. В ветеринарной медицине имеется ряд таких инфекций сельскохозяйственных животных, в том числе – классическая чума свиней (КЧС), являющаяся высококонтагиозным заболеванием и наносящим значительный экономический ущерб странам с развитым свиноводством. Естественно восприимчивыми животными, кроме домашних свиней, являются дикие кабаны, в связи с чем вирус - возбудитель КЧС постоянно циркулирует в природе. В Украине проводится плановая вакцинация домашних свиней против КЧС, поэтому при возникновении очага заболевания невозможно выявить всех инфицированных животных определением специфических антител.

Наиболее иммуногенным белком вируса КЧС является структурный белок Е2, состоящий из двух субъединиц, на каждой из которых находится по 2 мажорных эпитопа – А и D, В и С. При получении рекомбинантых белков на каждую из субъединиц один можно использовать в вакцинном препарате, а второй - в диагностическом.

Целью настоящей работы было получение в E.coli рекомбинантного продукта, соответствующего субъединице белка Е2, несущей эпитопы А и D, вируса КЧС. В качестве матрицы в ОТ-ПЦР использовали РНК вируса КЧС, штамма Ши-Мынь; синтезированный фрагмент был клонирован в плазмиду pET24a(+) и экспрессирован в клетках Bl21 DE3 в присутствии 1мМ ИПТГ. Полученный белок имел ожидаемый размер 34 кД, образовывался в нерастворимой форме, и после его частичной очистки и солюбилизации были изучены некоторые антигенные свойства рекомбинантного продукта.

Синтезированный рекомбинаноный белок взаимодействовал в ИФА с контрольными положительными на вирус КЧС сыворотками свиней, в то время как отрицательные свиные сыворотки не проявляли сродство к данному антигену. Исследование сывороток мышей, иммунизированных рекомбинантным белком, в иммунопероксидазном тесте с вирус-вакциной ЛК-М вируса КЧС показало узнавание мышиными антителами культурального вируса; в некоторых случаях были выявлены вируснейтрализующие антитела, синтезируемые в невысоких титрах.

Полученные данные свидетельствуют о возможности и перспективности разработки ИФА – диагностикума КЧС на основе полученного рекомбинантного белка.

OBTAINING OF CLASSICAL SWINE FEVER VIRUS E2 RECOMBINANT PROTEIN AND SOME OF ITS PROPERTIES.

Deryabina O., Deryabin O., Tytok T., Okunev O., Kordyum V.

Institute of Veterinary Medicine UAAS, Institute of Molecular Biology and Genetics NAS of Ukraine
e-mail: deryabin@i.kiev.ua

Obtaining of recombinant proteins in bacterial cells and their application in diagnostics and vaccines are widely used in modern medicine and veterinary medicine. The creation of marked vaccine and test system capable to discover the mark is especially promising. Using the pair marked recombinant vaccine-test system on the base of recombinant protein – gives real opportunity not only for revealing of specific antibodies, but also for differentiation of post-vaccination and post-infection immunity. This approach is very important particularly for the infections against which the wide range immunization is performed. In veterinary medicine there are several such infections of farming animals, including classical swine fever (CSF) – highly contagious disease causing

considerable economic damage to countries with developed pig farming. Wild boars are naturally susceptible animals, except domestic pigs, so, virus – the causing agent of CSF, constantly circulates in nature. In Ukraine the planned vaccination of domestic swines against CSF is carried out, that's why if center of infection appears, it is impossible to reveal all the infected animals through determination of specific antibodies.

The most immunogenic protein of CSF virus is the structural protein E2, which consists of two subunits, each carrying 2 major epitopes – A and D , B and C. While obtaining the recombinant proteins on each of subunits, it is possible to use one protein in vaccine preparation, and other in diagnostics.

The aim of this work was to receive the recombinant protein, corresponding to the subunit of CSF virus E2 protein, which carries epitopes A and D in E.coli. As matrix, CSF RNA (Strain Shi-Min) was employed in RT-PCR. The fragment synthesized was cloned into

pET 24 a (+) plasmid and expressed in Bl21 DE 3 cells in the presence of 1 mM IPTG. The protein obtained had the size 34 kD, was synthesized in insoluble form. After its partial purification and solubilization, some antigenic properties of the recombinant product were studied.

The recombinant protein received reacted in ELISA with control positive for CSF swine sera, while negative swine sera had no affinity to this antigen. Sera of mice immunized with the recombinant protein examination showed the recognition of cultural virus LK-M (vaccine strain of CSFV) by mice antibodies, as was manifested in immunoperoxidase assay. In some cases virus neutralizing antibodies were found, their titers were low.

Data obtained show the possibility and availability of ELISA test system development on the basis of the recombinant protein received.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ СООТНОШЕНИЙ МОЧЕВИНЫ И НИТРАТОВ В КУЛЬТУРАЛЬНОЙ СРЕДЕ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ SPIRULINA PLATENSIS И СОДЕРЖАНИЕ В БИОМАССЕ БЕЛКА И ПИГМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОГО КОМПЛЕКСА.

И.В. Дробецкая

Институт биологии южных морей НАН Украины
shulman@ibss.iun.net

Spirulina platensis является известным объектом промышленного культивирования. Содержание таких биологически ценных веществ, как белок и фотосинтетические пигменты (хлорофилл а, фикоцианин, каротиноиды) определяется концентрацией и химической формой азота в питательной среде. В традиционно используемой среде Заррука, источником азота (N^{+5}) служит нитрат натрия (2,5г/л). Задачей данной работы стала оценка возможности использования в качестве источника азота органической формы (N^{-3}) (в виде мочевины) в сочетании с нитратами.

Водоросли выращивали накопительным методом в 1-литровых конических колбах на модифицированной среде Заррука при естественном световом режиме (с периодическим перемешиванием). Интенсивность освещения колебалась от 5 - 10 кЛк в пасмурные дни до 25 - 35 кЛк в солнечные; температура среды - от 20 до 30^0С. Начальная плотность культуры составляла 0,23 г АСБ/л. Спирулину выращивали на смеси мочевины и нитратов в следующих соотношениях (в расчете на N мг/л): а) 10 мг N^{-3} + 490 мг N^{+5}; б) 30 мг N^{-3} + 470 мг N^{+5}; в) 60 мг N^{-3} + 440 мг N^{+5}; г) 100 мг N^{-3} + 400 мг N^{+5}; д) 300 мг N^{-3} + 200 мг N^{+5}. Контролем служила стандартная среда Заррука: е) 500 мг N^{+5}/л.

Высокие концентрации карбамида (300мг N-3/л) в варианте (д) отрицательно сказывались на состоянии культуры вплоть до ее гибели. Токсическое действие оказывал аммиак, накапливающийся в среде в процессе утилизации водорослями мочевины. В остальных вариантах со смешанными формами азота темпы роста культур были выше, чем в контрольном, что свидетельствует о положительном эффекте добавок мочевины. В первые дни эксперимента наивысшими ростовыми показателями отличались варианты (а) и (б), хотя в дальнейшем по мере роста культур и изменения соотношения биогенов этот эффект нивелировался. В вариантах (в) и (г) начальное ингибирование культуры более высокими концентрациями мочевины сменялось по мере "выедания" карбамида стимулирующим эффектом. Так, за период 2-5 сутки опыта средняя продуктивность спирулины в вариантах (а), (б), (в), (г) и (е) составляла соответственно 0,263, 0,288, 0,294, 0,306 и 0,204 г АСБ/л·сутки. К концу 11-суточного эксперимента продуктивности практически сравнялись. Тем не менее, в случаях (в) и (г) плотность биомассы при выходе на стационарную фазу была выше, чем в других вариантах (2,37 г АСБ/л по сравнению с 2,10 г АСБ/л в контроле). Самые высокие показатели содержания белка, хлорофилла а, фикоцианина и каротиноидов отмечены в варианте (г) (соответственно, 72,5%, 1,51%, 9,71% и 2860 мкг/г (в пересчете на АСБ) по сравнению с 69,4%, 1,38%, 8,52% и 2660 мкг/г в контроле).

Таким образом, замена до 20% нитратного азота в среде Заррука на органический азот мочевины оказывает стимулирующий эффект при выращивании спирулины в условиях накопительной культуры.

THE INFLUENCE OF DIFFERENT UREA AND NITRATES RATIOS IN CULTIVATION MEDIUM ON SPIRULINA PLATENSIS PRODUCTIVITY AND PROTEIN AND ANTIOXIDANT COMPLEX PIGMENTS CONTENTS.

I.V. Drobetskaya

Institute of Biology of the Southern Seas
e-mail: shulman@ibss.iuf.net

Spirulina platensis is a popular object of industrial cultivation. The content of such biologically valuable substances as protein and photosynthetic pigments (chlorophyll a, phycocyanin and carotenoids) is due to concentration and chemical form of nitrogen in nutrient medium. Sodium nitrate as a nitrogen (N^{+5}) source in traditional Zarrouk medium is used. The aim of the present study is to estimate the possibility of using of organic nitrogen (N^{-3}) (in the form of urea) in combination with nitrates for Spirulina platensis cultivation.

Algae were grown by batch method in conical 1-liter flasks with modified Zarrouk medium under the natural light conditions (with periodic mixing). Illumination intensity varied from 5-10 kLx during dull days to 25-35 kLx during sunny days, medium temperature changed from 20 to 30^0C. Initial culture density was 0.23 g of absolutely dry biomass (ADB) per l l. Spirulina was grown on the mixture of urea and nitrates in following ratios (in terms of N mg/l): a) 10 mg N^{-3} + 490 mg N^{+5}; b) 30 mg N^{-3} + 470 mg N^{+5}; c) 60 mg N^{-3} + 440 mg N^{+5}; d) 100 mg N^{-3} + 400 mg N^{+5}; e) 300 mg N^{-3} + 200 mg N^{+5}. Standard Zarrouk medium variant was used as a control: f) 500 mg N^{+5}/л.

High urea concentration (300 mg N^{-3}/l) in variant (e) affected culture state negatively even causing algae death. In fact, ammonia accumulated during algae urea utilization produced toxic impact. In other variants with mixed nitrogen forms culture growth rate was higher than that in control, that is the evidence of positive effect of urea addition. At first (a) and (b) variants were characterized by the highest growth indices, but later this effect became less pronounced with biogen ratios changing during culture growth. In variants (c) and (d) initial inhibition by higher urea concentrations was converted to stimulation according to algae carbamide consumption and medium urea content decrease. So for the period from 2 to 5 experimental days average productivity in variants (a), (b), (c), (d), and (f) amounted to 0.263, 0.288, 0.294, 0.306 and 0.204 g ADB/l·day, correspondingly. There were equal productivities up to the end of 11-day experiment. However, in variants (c) and (d) biomass density at culture stationary phase was higher than in others (2.37 g ADB/l as against 2.10 g ADB/l in control). Highest values of protein, chlorophyll a, phycocyanin and carotenoids content were reported in variant (d) (correspondingly, 72.5%, 1.51%, 9.71% and 2860 μg/g (calculated for ADB) in comparison with 69.4%, 1.38%, 8.52% and 2660 μg/g in control)

Therefore, the replacement of 20% nitrate nitrogen by urea organic nitrogen in Zarrouk medium has stimulative effect on S.platensis growth and protein and pigments content at batch cultivation.

ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ И ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ, СПЕЦИФИЧЕСКИХ К НЕКОТОРЫМ ВИРУСАМ.

Дяченко Н.С., Курищук К.В.*, Рядская Л.С.*, Писарева С.П.**, Нетреба Н.И.**, Толкач С.Н.**, Нестерова Н.В.**, Михайлова Э.Г., Загородняя С.Д., Баранова Г.В.

*Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины, * - КПВБП "Биофарма", ** - Ин-т педиатрии, акушерства и гинекологии АМН Украины*
e-mail: dyachenko@serv.imv.kiev.ua

Специфические иммуноглобулины перспективны для этиотропной терапии инфекций, которые вызываются вирусами из семейства Herpesviridae. Авторским коллективом разработана технология получения специфического антицитомегаловирусного иммуноглобулина для серотерапии цитомегаловирусной инфекции. Проведены успешные клинические испытания этого препарата для лечения ЦМВ-инфекции у женщин с отягченным акушерским анамнезом и детей младшего возраста (1, 2).

Иммуноглобулин антицитомегаловирусный человека получил сертификат о государ-ственной регистрации МЗ Украины и производится КПВБП "Биофарма". Этот препарат включен в "Национальный перечень основных (жизненно необходимых) лекарственных средств и изделий медицинского назначения", который составлен в соответствии с Постановлением Кабинета Министров Украины от 16 ноября 2001 года № 1482.

В настоящее время авторы разрабатывают специфические иммуноглобулины против других вирусов из семейства Herpesviridae и некоторых микроорганизмов. Будет обсуждена необходимость и целесообразность интенсифицирования развития этой области иммунной биотехнологии в Украине.

Исследования имели финансовую поддержку Министерства просвещения и науки Украины, грант № 2/671-97.

Ссылки.

1. Писарєва С.П., Дяченко Н.С., Нетреба Н.І., ОттВ.Д., Лозицький В.П. та інш. Спосіб лікування цитомегаловірусної інфекції у жінок та дітей. Патент України № 10472, опублік. Бюл. № 5, 15.06.2001.

2. Толкач С.М., Писарєва С.П., Дяченко Н.С., Нетреба Н.І., Курищук К.В. Нові аспекти лікування цитомегаловірусної інфекції у вагітних жінок. Збірник наукових праць Асоціації акушерів-гінекологів України, київ, "Фенікс", 2001, С.608-610.

RECEIPTION TECHNOLOGY AND EXPERIENCE OF APPLICATION OF IMMUNOGLOBULINES SPECIFIC TO SOME VIRUSES.

Dyachenko N.S., Kurischuk K.V.*, Ryadskaja L.S.*, Pisareva S.P.**, Netreba N.I.**, Tolkach S.N.**, Nesterova N.V.**, Michaylova E.G., Zagorodnaya S.D., Baranova G.V.,

*Institute of microbiol. and. virol. NASU., * - PBP "Biopharma", **- Inst. pediatry, gynecology, obstetries Acad. Med.Sci of Ukraine*
e-mail: dyachenko@serv.imv.kiev.ua

Specific immunoglobulines are perspective for etiotropic therapy of infections, which are caused by viruses from family Herpesviridae. The author's collective develops technology of receiption of specific anticytomegalovirus immunoglobulins for serotherapy of cytomegalovirus infection. The successful clinical tests of this preparation for treatment of CMV-infection of the women with obstetrical complications and children of younger age (1, 2) are carried out.

The immunoglobulin anticytomegalovirus humanum has receifed the certificate on State registration of Ministry of Health of the Ukraine and it produced by Kiev Plant for Bacterial preparation "Biopharma" now. This preparation is included in "The National List of the basis (vitally necessary) drugs and products of medical purpose", which is made according to the Decision of the Galinet of the Ministry of Ukraine from November 16,2001, N 1482.

Authors develop the specific immunoglobulins against other viruses from family Herpesviridae and some microorganisms now. The necessity end expediently of development of this area immunobiotechnology in Ukraine will be discussed.

The researches had financial support of the Ministry of education and science of Ukraine, grant N 2/671-97.

1. Pisareva S., Dyachenko N., Netreba N., Ott V., Lositsky V. et al. The means of treatment of cytomegalovirus in bection in womens and children. The parent Ukraine, N 10472, Publ.Bull. N 5, 15.06.2001.

2. Tolkach S.M., Pisareva S., Dyachenko N., Netreba N., Kurischuk K. The news aspects of treatment of CMV-infection in the pregnants womwns. Proc.Assoc. obstebr. and gyncol. Ukraine, Fenix,2001, P. 608-610.

АНАЛИЗ БИОЛОГИЧЕСКИ-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОРСКИХ СВЕТЯЩИХСЯ БАКТЕРИЙ

Кацев А. М.

Крымский медицинский университет им С. И. Георгиевского
E-mail: labor@post.csmu.strace.net

Для анализа биологически-активных веществ (БАВ) предлагается использовать биоиндикацию светящимися морскими бактериями, выделенными из Черного и Азовского морей. Биолюминесценция фотобактерий является интегральным показателем их метаболизма. Многие физические, химические и биологические факторы, влияющие на клеточное дыхание, синтез белков, липидов, нуклеиновых кислот, состояние клеточной мембраны, изменяют интенсивность бактериального свечения.

Фотобактерии, выделенные из Азовского моря в 2001 г (при температуре воды до 36^0 С и были отнесены к видам Ph. leoignathi и мезофильным видам Vibrio), хорошо росли и люминесцировали при температурах 35 – 39^0 С и были использованы для биоиндикации в физиологических условиях. Другая группа фотобактерий, выделенных в основном из Черного моря (психрофильные виды Vibrio и Ph. phosphoreum) обладали температурным оптимумом 15 – 25^0 С и использовались для биотестирования при комнатных температурах.

В результате исследования действия большого числа БАВ (токсические вещества, лекарственные препараты, физиологических среды) на биолюминесценцию светящихся бактерий, выделено несколько типов реакций: 1) быстрое ингибирование биолюминесценции (t<30 мин), связанное с острой токсичностью БАВ, выраженным антибактериальным эффектом и т.п. 2) ингибирование роста светящихся бактерий, связанное с проявлением хронической токсичности. 3) активирование биолюминесценции в результате взаимодействия токсического вещества с нетоксическим веществом (физиологические среды, макромолекулы, клетки и т.п.) или собственным активирующим действием БАВ.

Сделан вывод о применимости светящихся бактерий для прямого анализа БАВ, обладающих способностью непосредственно изменять характеристики биолюминесценции или роста фотобактерий. Для анализа БАВ, не влияющих на фотобактерии может быть использован непрямой метод, основанный на реакциях, сопровождающихся изменением общей токсичности реагентов и продуктов реакции (например, связывание лекарственных препаратов сывороточным альбумином или комплексообразование ионов тяжелых металлов с биомолекулами).

THE ANALYSIS OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES WITH LUMINOUS BACTERIA USAGE

Katsev A. M.

Crimean Medical University
e-mail: labor@post.csmu.strace.net

For the analysis of biological - active substances (BAS) is offered to use bioindication by luminous marine bacteria isolated from the Black and Azov seas. Bacterial luminescence is an integrated parameter of their metabolic activity. Many physical, chemical and biological factors affecting on cell respiration, synthesis of proteins, lipids and nucleic acids rate, condition of cell membrane, alter the bioluminescent intensity.

The photobacteria selected from the Azov sea in 2001 y (at water temperature up to 36^0C , they were identified as Ph. leoignathi and mesophilic Vibrio species), well grew and were luminescent at temperatures 35 - 39^0C, they were used for bioindication in physiological conditions. Other group of photobacteria isolated from the Black sea (psychrophilic Vibrio species and Ph. phosphoreum) had 15 - 25^0C temperature optimum and they were used for biotesting at room temperatures.

As a result of the study of large number BAS (toxic substances, drugs etc.) action on bacterial bioluminescence level, several types of reactions were selected: 1) fast bioluminescence inhibition (t < 30 mines), connected with acute toxicity or antibacterial effect of BAS 2) the inhibition of luminous bacteria growth rate, connected with chronic toxicity display. 3) bioluminescence activation as a result of interaction between toxic and nontoxic substances (physiological environments, macromolecules, cells etc.) or own activated action.

The conclusion about applicability of luminous bacteria for direct analysis BAS, having ability directly alter bioluminescence level or growth rate had been done. For the analysis BAS, not influencing on photobacterium may be used indirect method based on reactions, between toxic substances and nontoxic, led to changes of a general toxicity reagents or reaction products (for example, binding between drugs and serum albumin or ions of heavy metals with biomolecules complex formation etc.).

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА АЭРОКОККОВ

Кременчуцкий Г.Н., Черняев С.А., Юргель Л.Г., Кулишенко С.Г.

Днепропетровская государственная медицинская академия
e-mail: kremengena@mail.ru , kremen@dsma.dp.ua

Биологическая активность аэрококков обеспечивается за счет функционирования ряда ферментов и продукции биологически активных метаболитов,идентифицированных в наших исследованиях. Вопрос об исследовании механизмов биологического действия аэрококков возник при создании из них лечебно-профилактического препарата для наружного и перорального применения – А-бактерина. Отсутствие точного представления о конкретных антагонистических факторах, механизмах, ведущих к их продукции, регуляторах и ингибиторах является одним из слабых звеньев теории и практики применения бактериальных препаратов. Это в полной мере касалось бактериального препарата из аэрококков, не имеющего зарубежных аналогов. Было известно, что аэрококки продуцируют водород пероксид в неизвестной биохимической реакции

(М.Л.Горбунова, 1970) и продуцируют гликолипопротеид " виридоцин", антагонистическое действие которого нейтрализуется каталазой, додецилсульфатом натрия и прогреванием при 60 С в течение 30 мин.(J.M.Ballester et al.,1977,1980). Авторы не обнаружили у выделенных препаратов " виридоцина" какой-либо ферментативной активности, хотя факт нейтрализации антагонистического действия каталазой прямо указывает на его оксидазные свойства.

Антагонистическое действие А-бактерина на тест-бактерии в сравнении с антагонистическим действием водород пероксида химического происхождения было исследовано в микрокамерах с использованием фазово-контрастной микроскопии. Результаты исследований показали некоторую идентичность действия аэрококков и химического водород пероксида на тест-культуры, заключающуюся в лизисе клеток палочковидных бактерий с биполярной грануляцией, образованием гигантских клеток в результате нарушения деления клеток. Эти измнения не носили специфический характер. Вместе с тем концентрация водород пероксида, продуцируемого аэрококками, была значительно ниже эквивалентной по действию концентрации химического водород пероксида, что свидетельствовало о наличии еще каких-то дополнительных антагонистических механизмов.

Применение тест-культур с нарушениями системы репарации повреждений ДНК позволяет идентифицировать генотоксические агенты биологического и химического происхождения и, в частности, водород пероксид, вызывающий однонитевые разрывы в ДНК микроорганизмов (И.И.Самойленко с соавт.,1983). В наших исследованиях была выявлена повышенная чувствительность тест-культур E.coli AB 2463 A13 и B. subtilis GSY 1618 rec.F, изогенных рекомбинационно-дефектных мутантов и к действию А-бактерина и к действию химического водород пероксида в сравнении с дикими типами тех же культур.

Продукция водород пероксида является стабильным признаком производственного штамма аэрококков, из которого готовится А-бактерин. Идентификация механизма, обеспечивающего продукцию водород пероксида стала возможной после разработки индикаторной питательной среды определенного биохимического состава. Среда реагировала на окисление бактериями определенных субстратов, а также на восстановление окисленных веществ. Для достижения индикаторной реакции среда содержала йодистый калий, растворимый крахмал и селенистокислый натрий. При окислении субстратов колонии аэрококков приобретают темнофиолетовую окраску, а при восстановлении - красную.

Были испытаны разные субстраты окисления в целях идентификации природы оксидазной активности аэрококков.Оказалось, что только молочная кислота, вводимая в систему клеток аэрококка на индикаторной среде, инициировала оксидазную реакцию, выражавшуюся в появлении темно-фиолетовой окраски вокруг колоний. Исследование лактатоксидазной активности ферментных комплексов, выделяемых из лизатов аэрококков, показало их НАД-независимость и зависимость окисления лактата от его концентрации и концентрации белка ферментного комплекса.Была установлена антиоксидантная роль пировиноградной кислоты, образующейся при окислении молочной кислоты.

Кременчуцкий Г.Н., Кременчуцкий С.Г. А-бактерин для наружного и внутреннего применения. Патент№2000085097. Опубл. 15.08.2001, Бюл.№7.

КЛЕТОЧНЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ. СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ В УКРАИНЕ

В.А.Кунах

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины
e-mail: kunakh@imbg.org.ua

Клеточные технологии основаны на выращивании изолированных клеток, тканей и органов в условиях in vitro на искусственных питательных средах. Сегодня они используются для получения алкалоидов, гликозидов, нафтохиноновых и других соединений, ценных для медицины, пищевой и парфюмерно-косметической промышленности в тех случаях, когда нет достаточной сырьевой базы, а химический синтез веществ является нерентабельным. Преимуществами таких технологий, альтернативных по отношению к классическим растениеводческим, являются: 1) возможность получения клеточных культур от любых видов растений - редких, исчезающих, эндемиков и т.д.; 2) получение культур, превышающих по уровню накопления вторичных метаболитов и скорости роста природные растения в десятки и сотни раз; 3) получение экологически чистой биомассы с заданными параметрами и в необходимых объемах независимо от климатических, погодных и др. условий; 4) возможность автоматизации и механизации получения растительной биомассы по принципам микробиологической промышленности.

В Украине отработаны такие технологии на уровне лабораторных и, частично, промышленных регламентов. Основаны они на использовании клеточных штаммов, полученных премущественно в нашей лаборатории. Среди них каллусные и суспензионные штаммы раувольфии змеиной, накапливающие до 2% от сухой биомассы противоаритмического алкалоида аймалина; арнебии красящей, накапливающие до 5% нафтохинона шиконина; мака прицветникового, накапливаюшие кодеин, сангвинарин и др. соединения; а также штаммы от известных растений-адаптогенов - женьшеня, родиолы розовой, элеутерококка, полисциаса папоротниколистного, унгернии Виктора и др. Клеточная биомасса растений-адаптогенов является источником веществ, обладающих, в частности, антимутагенным, гено- и радиопротекторным, иммуномодулирующим и др. типами действия, по разному выраженных для разных штаммов. Перечисленные штаммы апробированы в промышленных условиях, их биомасса нарабатывалась в промышленных масштабах.

Широкое внедрение в промышленность Украины клеточных биотехнологий сдерживается по следующим причинам: 1)существующие методы и оборудование для выращивания клеточных культур и переработки биомассы в конечную продукцию устарели, а новые инженерно-конструкторские разработки не ведутся; 2) надлежащие испытания потребительских качеств некоторых видов конечной продукции не завершены в связи с отсутствием финансирования.

CELL BIOTECHNOLOGY FOR OBTAINING OF THE ACTIVE COMPOUNDS OF PLANT ORIGIN. STATE AND PROSPECTS FOR ADVANCEMENT IN UKRAINE

V.A.Kunakh

Institute of Molecular Biology and Genetics of NAS of Ukraine, Kyiv
e-mail: kunakh@imbg.org.ua

Cell technologies are based on the maintenance of the isolated cells, tissues and organs in conditions in vitro on the artificial nutrient media. Currently, these are used to produce alkaloids, glycosides, naphthoquinones and other compounds, valuable for medicine, food and perfume-cosmetic industries in cases, when there is no sufficient raw material basis, while a chemical synthesis of substances proves to be non-profitable. As an advantages of such technologies alternative to the classical plant-growing ones may be: 1) possibility to derive cell cultures from any plant species – rare, disappearing, endemic etc.; 2) generation of cultures exceeding intact plants by the level of secondary metabolites accumulation and growth rate tens and hundreds times as much; 3) production of the environmentally friendly biomass showing specified parameters and desired volumes independently on the climatic, weather and other conditions; 4) possibility to mechanize plant biomass production according to the principles of microbiological industry.

In Ukraine such technologies were adjusted at the laboratory and in part at the industrial regulations level. They were based on the use of the cell strains, obtained preferentially in our laboratory. These include callus and

suspension Rauwolfia serpentina strains; those of Arnebia euchroma, accumulating up to 5% of naphthoquinone shikonin; those of Papaver bracteatum, accumulating codeine, sangvinarine and other compounds; as well as strains from recognized plants-adaptogens, Panax ginseng, Rhodiola rosea, Eleutherococcus senticosus, Polyscias filicifolia, Ungernia victoris etc. Cell biomass of plants-adaptogens may serve as a source of the substances exhibiting antimutagenic, gene- and radio-protective, immune-modulating and other types of effect, differently expressed by various strains. The listed strains were probated in industrial conditions, their biomass was produced on the industrial scale.

Wide commercialization in Ukraine of the cell biotechnology is counteracted by the next causes: 1) the existing methods and equipment designed to maintain cell cultures and process the biomass into the final product seem to be outdated, while new engineering-design developments haven't been run; 2) proper trials for consumer qualities of some final product types were not completed because of lack of financing.

ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ СРЕДСТВ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ НА ОСНОВЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ МИКРОБНОГО СИНТЕЗА

Лиховидов В.Е., Галкина Н.Н., Исангалин Ф.Ш.

Государственный научный центр прикладной микробиологии Минздрава Российской Федерации
e-mail: shafirin@mail.ru; likhovidov@mail.ru

Многие штаммы микроорганизмов продуцируют биологически активные вещества (БАВ) различной химической природы и специфики действия, в том числе и с пестицидными свойствами. В связи с этим в Государственном научном центре прикладной микробиологии активно ведутся работы по созданию биопрепаратов, у которых действующим началом являются БАВ микробного происхождения.

На основе штамма бактерии Bacillus subtilis ИПМ-215 разработан препарат Бактофит (патент RU №2019966). Препарат обладает антибиотическими и антагонистическими свойствами в отношении широкого круга фитопатогенов. Препарат разрешен в России для использования в качестве биофунгицида (номер государственной регистрации 02-0578-0087-1/ф/). Антибиотические свойства Бактофита обусловлены наличием в нем антибиотика, отнесенного к группе непредельных макроциклолактонов (производным урацила). Для усиления бактерицидных свойств разработаны препараты на основе различных комбинаций Бактофита и кормовых антибиотиков: бациллихина (патент RU №2079215) и кормогризина (патент RU №2093031).

На основе штамма актиномицета Streptomyces avermitilis АС-1301 разработан препарат Авертроп с инсектоакаринематицидными свойствами. Действующим началом препарата являются низкомолекулярные водонерастворимые токсины - авермектины группы А и В.

Технология производства Авертропа (опытно-промышленный регламент ОПР 0001927-15-41-95) предусматривает получение препарата в двух товарных формах (паста и концентрат эмульсии) с разным содержанием действующего вещества (от 0,1% до 1,0%). В настоящее время препарат проходит государственные испытания в России на плодово-ягодных и овощных культурах против комплекса сосущих вредителей.

В результате широкого скрининга актиномицетных штаммов отобрано около десяти представителей рода Streptomyces с комплексной пестицидной активностью. Действующим началом выделенных штаммов являются БАВ полиеновой и аминогликозидной природы. Проводятся токсикологические исследования перспективных штаммов, их депонирование и патентование. Некоторые выделенные нами штаммы актиномицетов и БАВ обладают фармакологическими свойствами, что открывает возможность их использования в медицинской биотехнологии.

PROSPECTS OF DEVELOPMENT OF PLANT DISEASE CONTROL PREPARATIONS ON THE BASE OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES PRODUCED BY MICROORGANISMS

Likhovidov V.E., Galkina N.N., Isangalin F.Sh.

State Research Center for Applied Microbiology of Ministry for Health
e-mail: shafirin@mail.ru; likhovidov@mail.ru

Many species of microorganisms are known to produce biologically active substances (BAS) of various chemical composition and possessing specific properties, including pesticide activity. In this connection, large

amount of efforts of the scientists from State Research Center for Applied Microbiology (SRCAM) are directed on the development of biopreparations on the base of BAS produced by different microorganisms.

Thus, biopesticide Bactofit (patent RU ¹2019966) has been designed on the base of Bacillus subtilis IPM-215. The preparation possesses antibiotic and antagonistic properties with respect to a wide range of phytopathogens. Bactofit has been approved to be used as biofungicide in Russia (number of State registration 02-0578-0087-1/f/). The preparation has an antibiotic of the group of unsaturated macrocyclolactones (uracil derivatives) in its composition, due to which Bactofit exhibits antibiotic activity. On the base of various combinations of Bactofit and such fodder antibiotics as bacilliquin (patent RU ¹2079215) and kormogrizin (patent RU ¹2093031) a number of preparations with higher antibiotic activity were developed.

Streptomyces avermitilis AC-1301 was used as the base for preparation Avertrop. The preparation possesses both insecticide, acaricide and nematocide activity. Water insoluble low molecular toxins, avermectins of groups A and B, are the active agents of Avertrop.

Technology for Avertrop production (pilot-industrial regulations 0001927-15-41-95) provides two commodity forms of the preparation, paste and concentrated emulsion with different contents of the active agents (from 0,1 % up to 1,0 %). At present, State acceptance test of Avertrop is in progress. The preparation is being tested against suctorial pests of fruit and berry plants and vegetables.

Wide screening of actinomycetes strains has been performed. As a result, almost 10 representatives of genus Streptomyces were selected. All of them possess an integrated pesticide activity. BAS of polyene and aminoglucoside nature serve active agents of the strains isolated. Toxicological testing of the most prospective strains as well as their deposition and patenting are in progress. It should be also noted, that some of the actinomycetes strains isolated in SRCAM exhibit pharmaceutical properties, that makes them useful for medical biotechnology.

ИНТЕРФЕРОН-ИНДУЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ИММОБИЛИЗОВАННОЙ ДРОЖЖЕВОЙ РНК В КОМПЛЕКСЕ С ТИЛОРОНОМ

Манджос А.П., Пенчук Ю.Н., Карпов А.В.[1]

Украинский государственный университет пищевых технологий, [1] Институт микробиологии и вирусологии им.Д.К.Заболотного НАН Украины
e-mail: karpov_av@hotmail.com

В настоящее время для решения многих биотехнологических задач используется прием иммобилизации биополимеров на различные поверхности. Ранее было показано, что молекулярные комплексы, образующиеся при взаимодействии дрожжевой РНК с тилороном (МК), способны индуцировать синтез α/β-интерферонов (α/β-ИФН) в условиях in vivo и in vitro. С целью повышения стабильности РНК в составе МК, а также для оценки возмодности его многократного использования, как индуктора, в промышленных условиях получения препаратов человеческого лейкоцитарного ИФН, нуклеиновый компонент МК ковалентно пришивали к поверхности гранул модифицированного декстрана – "Сферона-300", после чего проводили комплексообразование с тилороном.

Иммобилизованный МК обладает интерфероногенными свойствами, аналогичными исходному препарату, о чем судили по результатам изучения динамики накопления ИФН в культуральной жидкости в системе лейкоцитов крови человека. Вместе с тем продемонстрирована возможность многократного использования иммобилизованного МК в качестве индуктора. Полученные данные позволяют сделать вывод о перспективности применения указанной технологии для производства препаратов ИФН I типа.

INTERFERON-INDUCING EFFECT OF IMMOBILIZED YEAST RNA FORMING A COMPLEX WITH TILORONE

Mandzhos A.P., Penchuk Yu. N., Karpov A.V.[1]

Ukrainian state university of food technologies' [1] D. Zabolotny Institute of microbiology & virology Natl. Acad. Sci.Ukraine
e-mail: karpov_av@hotmail.com

A lot of biotechnology problems are now solved using polymers immobilized on different surfaces. We have earlier shown molecular complexes (MC) formed by yeast RNA and tilorone are able to induce the synthesis of α/β-interferons (α/β-IFNs) in in vivo and in vitro conditions. To increase the stability of RNA

included into the MC as well as to evaluate the possibility of its multiple use as an IFN inducer for large-scale IFN production of human leucocytal IFN, the nucleic component has been covalently bound to the surface of a modified dextran – "Sferon-300" before RNA-tiloron MC formation.

According to the data of the IFN accumulation in cultural fluids of human leucocytes, the immobilized MC is found to possess IFN-inducing properties similar to the original preparation. Simultaneously the authors have shown the possibility of multiple use of immobilized MC as an IFN inducer. Our data permit to conclude such technological approach to be useful for large-scale production of IFNs type I.

ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКОГО АНТИГЕНА ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ НА АНТИТЕЛА К ВИРУСУ ЭПШТЕЙНА-БАРР И КРИТЕРИИ ЕЁ КАЧЕСТВА.

Нестерова Н.В.[1], Дяченко Н.С. [1], Загородняя С.Д. [1], Баранова Г.В. [1], Рыбалко С.Л. [2], Василенко Л.Г. [2]

[1] - *Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К.Заболтного НАН Украины*,
[2] - *Институт эпидемиологии и инфекционных болезней АМН Украины.*
e-mail: dyachenko@serv.imv.kiev.ua

Обоснование и цель работы. Совершенствование этиологической диагностики заболеваний, вызываемых вирусом Эпштейна-Барр, важны и актуальны для отечественной медицины в связи с широким распространением этих заболеваний и отсутствием качественных отечественых тест-систем. Целью нашей работы было создать отечественную тест-систему на выявление антител к вирусу Эпштейна-Барр (ВЭБ) и разработать технологию получения специфических компонентов, охарактеризовать показатели чувствительности, специфичности и воспроизводимости результатов.

Материалы и методы. Культура клеток В95-8 является В-лимфоцитами перифирической крови обезьян-мармазеток, которые трансформированны ВЭБ и постоянно продуцируют вирус. Иммуноферментный анализ проводили в непрямом варианте [1]. Постановку иммуноблотинга осуществляли по стандартной методике.

Результаты. Была разработана технология приготовления специфического антигена для иммуноферментной тест-системы «ИФА-АтВЭБ-стрип». В качестве антигена использовали лизаты лимфобластоидных клеток В95-8, которые содержали полный спектр белков вируса Эпштейна-Барр, а именно: EBNA, EA, VCA [2]. С целью определения специфичности антигена проводили его электрофоретическое разделение в полиакриламидном геле с последующей идентификацией специфическими сыворотками методом иммуноблотинга. Обнаружено образование комплекса антиген-антитело при взаимодействии контрольной положительной сыворотки из тест-системы «Platelia EBV EBNA IgG» («Sanofi diagnostics Pasteur», Франция) с одним из полипептидов препарата специфического антигена и при взаимодействии с сыворотками больных с клинически выраженным инфекционным мононуклеозом. Неспецифический антиген из моноцитарной массы пуповинной крови, который не содержит белков ВЭБ, не образовывал комплекс антиген-антитело.

Для определения чувствительности и специфичности разработанной тест-системы сравнивали воспроизводимость положительных и отрицательных результатов исследований отобраных панелей соответственно положительных и отрицательных сывороток в этой тест-системе и 2-х зарубежных известных тест-системах («Platelia EBV EBNA IgG» «Sanofi diagnostics Pasteur», Франция и «SIA™ Epstein-Barr EBNA IgG» « Sigma diagnostics», США). Установлено, что чувствительность тест-системы составила 96%, а специфичность - 100%.

Заключение. Создана отечественная иммуноферментная тест-система для опре-деления антител (IgG и IgM) к вирусу Эпштейна-Барр, которая имеет высокие показатели чувствительности и специфичности. Разработана технология получения специфических компонентов иммуноферментной тест-системы, в том числе специфического атигена.

Литература.

1. Иммуноферментный анализ: Пер.с англ./Под редакцией Т.Т.Нго, Г.Ленхоффа.- М.: Мир, 1988. - 445 стр.

2.Н.С.Дяченко, Н.В.Нестерова, С.Д.Загородняя, Г.В.Баранова, С.Л.Рыбалко, Л.Г.Василенко, Н.В.Иванская. «Тест-система на выявление антител против вируса Эпштейна-Барр «ИФА-АтВЭБ-стрип»». / Патент Украины №40966 А от 15.08.2001г.

OBTAINING OF SPECIFIC ANTIGEN TO ANTIBODIES TO EPSTEIN-BARR VIRUS FOR ELISA-BASED TEST SYSTEM, AND CRITERIA OF ITS QUALITY.

Nesterova N.V.[1], Dyachenko N.S[1], Zagorodnyaya S.D[1], Baranova G.V.[1], Rybalko S.L.[2], Vasilenko L.G.[2]

[1]- *D.K.Zabolotny' Institute of Microbiology and Virology of NASU*
[2]- *Institute of epidemiology and infectious diseases of AMSU*
e-mail: dyachenko@serv.imv.kiev.ua

Basing and purpose of the work. Improvement of etiologic diagnostics of diseases caused by Epstein-Barr virus (EBV) is pretty important and actual for our medicine due to wide distribution of these diseases and lack of high quality native test systems. The purpose of our work was to create own test system for revealing of antibodies to EBV and to develop a technology for obtaining of specific components, to characterize rates of its sensitivity, specificity and results reproducibility.

Materials and methods. B95-8 cell culture represents B-lymphocytes of peripheral blood of marmozet monkeys (Callithrix sp.) that were transformed with EBV and produce virus permanently. Indirect type of ELISA was chosen [1]. Immunoblotting was conducted by standard methodic.

Results. Technology for obtaining of specific antigen to antibodies to Epstein-Barr virus for ELISA-based test system «ELISA-AtEBV-strip» was developed. Lysates of B95-8 lymphoblastoid cells containing full spectra of EBV proteins (EBNA, EA, VCA) [2] were used as an antigen. In order to determine antigen specificity, PAGE with following immunoblotting were conducted using specific antiserums for its identification. Creation of antigen-antibody complex was revealed during interaction of control positive serum («Platelia EBV EBNA IgG» test system, «Sanofi diagnostics Pasteur», France) with one of the polypeptides of specific antigen preparation, and during interaction with serums of diseased humans having pronounced infectious mononucleosis. Non-specific antigen from monocyte mass of umbilical blood that did not contain EBV proteins was not able to create antigen-antibody complex.

To determine sensitivity and specificity of the developed test system, positive and negative results reproducibility of selected panels of positive and negative serums, correspondingly, were compared with two foreign test system («Platelia EBV EBNA IgG», «Sanofi diagnostics Pasteur», France, and «SIA^{TM} Epstein-Barr EBNA IgG», «Sigma Diagnostics», USA). It was shown that sensitivity of the test system constituted 96%, and specificity – 100%.

Conclusion. We have developed a native ELISA-based test system for detection of antibodies (IgG and IgM) to EBV that shows high rates of sensitivity and specificity. Technology for obtaining of specific components for ELISA-based test system including specific antigen was developed.

Literature.

1. *ELISA / ed. Ngo T.T., Lenhoff G. –M., Mir. -1988. –pp.445.*
2. *Dyachenko N.S., Nesterova N.V., Zagorodnyaya S.D., Baranova G.V., Rybalko S.L., Vasilenko L.G., Ivanskaya N.V. Test system for detection of antibodies to EBV «ELISA-AtEBV-strip» / Patent of Ukraine N 40966 A from 08.15.2001.*

МЕТОД ПЕРЕВОДА БЕЛКА В ВОДОРАСТВОРИМУЮ ФОРМУ

Полищук И. Н., Дубей И. Я.

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины
e-mail: dubey@imbg.org.ua

Белки, которые образуются при биотехнологическом получении генно-инженерных продуктов в E.coli, можно разделить по их состоянию в клетке на такие группы:

1. белки, которые после их синтеза выводятся из клетки за счет лидерного пептида, и поэтому в клетке их концентрация находится в динамическом равновесии между синтезом и экспортом;
2. белки, которые по своей природе гидрофобны и нерастворимы как в клетке, так и вне её, и поэтому находятся в клетке в виде так называемых "тел включения";
3. белки, которые не выводятся из клетки, но остаются хорошо растворимыми при любом, даже очень высоком уровне их биосинтеза, и поэтому как в клетках так и при их разрушении будут находиться в растворенном виде;
4. белки, по своей природе растворимые, но при суперсинтезе переходящие в клетке в водо-нерастворимые конгломераты - тела включения.

С последним состоянием белков при промышленном биосинтезе сталкиваются чаще всего. Это объясняется тем, что терапевтические белки и пептиды, применяемые в медицине, как правило, растворимы по природе, но при биосинтезе их в E.coli находятся в водо-нерастворимом состоянии. Перевод целевого продукта из тел включения в водо-растворимое состояние с сохранением биологической активности белка является одной из центральных проблем биотехнологии.

Человеческий гормон роста представляет собой типичный пример белков, растворимых по своей природе, но при высоком уровне биосинтеза в клетках E.coli переходящих в нерастворимые формы. Хотя в литературе имеется много работ по извлечению гормона роста из тел включения, удобные технологические решения не приводятся.

Нашей задачей являлось перевести белок гормона роста человека в растворимую форму из тел включения. Обычно, согласно литературным данным, растворение таких белков проводится в присутствии гуанидин-хлорида. Однако затем возникают трудности по дальнейшей очистке растворенного таким образом препарата. В основу разработанной нами методики положено растворение белка в концентрированном растворе мочевины, которая является более мягким реагентом, чем гуанидин-хлорид.

Для последующей очистки белка от мочевины обычно используют диализ, однако этот процесс не технологичен. Кроме того, наша проверка показала, что при диализе белок гормона роста легко вторично переходил в водонерастворимую форму, из которой растворять его оказалось ещё труднее, чем из тел включения. Поэтому следующим этапом работы являлась разработка условий сорбции белка на соответствующий сорбент непосредственно из концентрированной мочевины. Нам удалось найти подходящий сорбент для связывания белка. В процессе последующих процедур осуществлялось удаление мочевины промывкой и элюирование растворимой в водно-солевых растворах формы гормона роста.

METHOD FOR PROTEIN TRANSFORMATION INTO WATER-SOLUBLE FORM

Polishchuk I. N., Dubey I.Y.

Institute of Molecular Biology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
e-mail: dubey@imbg.org.ua

Proteins formed during biotechnological preparation of genetic engineering products in E.coli can be separated into following groups by their state into the cell:

1. proteins exported from the cell by leader peptide after their synthesis, for which dynamic equilibrium of their intracellular concentration between synthesis and export is observed;
2. proteins of hydrophobic nature insoluble both inside and outside the cell and thus forming so called “inclusion bodies” within the cell;
3. proteins that are not excreted from the cell, but keep good solubility even at very high level of their biosynthesis, so they are soluble inside the cells as well as after cell destruction;
4. proteins of soluble nature forming water-insoluble cellular conglomerates, inclusion bodies, upon their supersynthesis.

The latter state of proteins is most often found at industrial biosynthesis, since therapeutic proteins and peptides used in medicine are usually soluble, however their biosynthesis in E.coli results in water-insoluble forms. Solubilization of the target products from inclusion bodies, while maintaining the biological activity of proteins, is one of the central problems of biotechnology

Human growth hormone is a typical example of proteins of soluble nature that transform into insoluble forms upon high level biosynthesis in E.coli. There are numerous papers in the literature on the isolation of growth hormone from inclusion bodies, but convenient technological solutions are not presented.

Our work was aimed at the transformation of the human growth hormone from the inclusion bodies into soluble form. According to published data, solubilization of this kind of proteins is usually performed in the presence of guanidine hydrochloride. However, problems of further purification of the dissolved material appear in this case. Our method is based on the protein solubilization in the concentrated solution of urea that is more mild reagent than guanidine hydrochloride. Dialysis is often used for the subsequent removal of urea, but this process is not technologically suitable. Moreover, we have found that during the dialysis growth hormone protein easily formed insoluble material again that turned out to be more difficult to dissolve that inclusion bodies. Therefore the next step of the work was the development of the conditions for the absorption of the protein on the corresponding sorbent directly from the concentrated urea solution. We have found appropriate sorbent for the protein. At the subsequent steps urea was removed by washing and growth hormone form soluble in aqueous salt solutions has been eluted.

ПРОДУКЦИЯ АЭРОКОККАМИ АНТАГОНИСТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ МЕТАБОЛИТОВ И ИХ СВОЙСТВА

Рыженко С.А., Кременчуцкий С.Г., Черняев С.А., Артемов В.А.
e-mail: kremengena@mail.ru , kremen@dsma.dp.ua

В процессе работа с культурами аэрококков, выращенными на жидких и плотных питательных средах, было установлено, что в культуральных жидкостях, в супернатантах при их смывах с твердых питательных сред накапливается экзопродукт, высаливающийся при 70% насыщении сред содержания сульфатом аммония в виде хлопьевидной массы. Хлопьевидная масса частично осаждается, частично всплывает, образуя на поверхности раствора пленку.

Собранная центрифугированием хлопьевидная масса аэрококкового происхождения /АЭК/ растворяется в фосфатном буфере /pH 7,4 .- 8,0 / и обладает выраженной антагонистической активностью в отношении многих видов микроорганизмов. Особенно интересным и, по-видимому, перспективным в плане дальнейшего использования является способность АЭК подавлять рост грамотрицательных патогенных и условно-патогенных бактерий, в частности, протеев, шигелл, сальмонелл и др. Необходимо отметить почти полное отс

утствие антагонистического действия АЭК «n vitro» в отношении синегнойных палочек.

Определенный интерес вызывало решение вопроса о химическом составе АЭК. Предварительные исследования показали, что АЭК содержит молочную кислоту, так как даёт выраженную оксидазную реакцию в индикаторном геле при окислении аэрококковой лактатоксидазой. В дальнейшем содержание молочной кислоты в АЭК было подтверждено с помощью энзиматического метода – «лактат-теста» с НАД- зависимой лактатдегидрогеназой.

При облучении растворов АЭК ультрафиолетовым светом облучателя для определения витаминов была отмечена синяя флуоресценция, характерная для соединений метилглиоксаля с аминокислотами. Дистилляция растворов АЭК позволила выделить в чистом виде метилглиоксаль и хроматографически доказать его идентичность химическому образцу.

С помощью калий йод - крахмального титрометрического метода в АЭК было обнаружено содержание пероксидного эквивалента, соответствующего 0,8 - 1,0 мг/мл H_2O_2. Наличие в АЭК гликополисахаридов было показано по определению глюкозаминов, а белков - с помощью биуретового метода и красителя Кумасси. Оказалось, что кипячение и выпаривание растворов АЭК не влияло на их антагонистические свойства, а при диализе вещество с антагонистическими свойствами проникало через целлофановую полупроницаемую мембрану, что свидетельствовало о его низкомолекулярном составе.

Высокое содержание АЭК было обнаружено в образцах лечебно-профилактического препарата "А-бактерина". В растворах АЭК определяется диеновый конъюгат с тиобарбитуровой кислотой, показатель присутствия малонового диальдегида.

Анализ полученных данных свидетельствует, что аэрококковый экзогенный комплекс, высаливаемый с помощью сульфата аммония, имеет сложный многокомпонентный состав, включающий гликопротеиды, пептиды, аминокислоты, метилглиоксаль, молочную кислоту и малоновый диальдегид, или другое аналогичное соединение, могущее давать диеновый конъюгат с тиобарбитуровой кислотой.

Аминокислотный состав АЭК определялся на автоматическом анализаторе аминокислот ААА-881 /Микротехника, Прага/. В результате проведенных исследований выявлено, что аэрококки продуцируют антибиотическое вещество широкого спектра действия, низкомолекулярное, термостабильное, являющееся пептидом.

ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ КИСЛОГО ФАКТОРА РОСТА ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА (ИЗОФОРМА 134 А.К.) В КЛЕТКАХ ESCHERICHIA COLI С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФАГА ЛЯМБДА.

Славченко И.Ю., Борейко Е.В., Гавриш Т.Г., Кордюм В.А.

ПНИК «Биотехнолог»

Кислый фактор роста фибробластов (aFGF) относится к семейству ростовых факторов, которым характерно высокое сродство к гепарину. aFGF продуцируется клетками мезодермального и нейродермального происхождения и обладает широким спектром биологического действия, являясь модулятором клеточной пролиферации, дифференциации, подвижности и ангиогенеза. aFGF не содержит

дисульфидных связей и не гликозилирован. Описано три изоформы aFGF состоящие из 134, 140 и 155 аминокислот (а.к.) образующиеся из одного мРНК транскрипта и различающиеся дополнительными а.к. на N конце белка. Механизм действия aFGF еще недостаточно изучен и для проведения исследований он необходим в значительных количествах. Поскольку рекомбинантный aFGF рассматривается как потенциальное лекарственное средство для лечения сосудистых заболеваний, желательно располагать всеми встречающимися in vivo изоформами, так как каждая из них в отдельности, и все они в совокупности могут выполнять разные физиологические функции.

Целью данной работы является разработка технологии синтеза aFGF, содержащего 134 а.к. (aFGF-134) в клетках E.coli с использованием фага лямбда и очистки полученного белка.

Для этого химически синтезирован ген aFGF-134, на основе опубликованной в печати аминокислотной последовательности. Экспрессия этого гена осуществлена в клетках E.coli BL 21 DE3 в составе плазмиды pET-a134 под контролем промотора фага Т7. После индукции ИПТГ синтеза РНК полимеразы фага Т7 и, следовательно, aFGF-134 клетки продуцента инфицировали фагом лямбда. Это обеспечивало накопление целевого продукта в растворимом виде непосредственно в культуральной среде. В результате оптимизации состава питательной среды, условий культивирования продуцента и фаговой инфекции достигнут выход целевого продукта, превышающий 150 мг/л. Высокое сродство aFGF к гепарину позволило в результате одностадийной очистки аффинной хроматографией на гепарин-сефарозе получить целевой продукт чистотой не менее 99 %. Проверка биологической активности очищенного aFGF-134 в тестах на куриных эмбрионах и фибробластах линии BALB/3T3 A31 показала, что полученный нами фактор роста фибробластов стимулирует ангиогенез, а также пролиферацию фибробластов. Полученный препарат испытывается на животных с целью подготовки доклинических испытаний.

THE PROCESS OF HUMAN ACIDIC FIBROBLAST GROWTH FACTOR (ISOFORM 134 A.A.) PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI CELLS USING PHAGE LAMBDA .

Slavchenko I.Yu, Gavrysh T.G., Boreyko E.V., Kordyum V.A.

PSRC "Biotechnolog"
biotech@naverex.kiev.ua

Acidic fibroblast growth factor (aFGF) belong to the family of growth factors, which have a very high affinity for heparin. aFGF is produced by cells of mesodermal and neuroectodermal origin and has the wide spectrum of biological activities. This growth factor is modulator of cell prolifiration, differentiation, migration and angiogenesis. aFGF does not contain disulfide bonds and is not glycosylated. Variants aFGF with a length of 134, 140 and 155 amino acids (a.a.) have been described. These aFGF isoforms are formed from one mRNA transcript and differ only in their additional a.a. in the protein N-terminal region. The mechanism of aFGF action is still not clearly defined and for researches it is necessary in enough. Because the recombinant aFGF is considered as the potential medicine for treatment of vascular diseases it is desirable to have all encountered isoforms in vivo. It is meaningful as these isoforms individually and in complex may generate different physiological function.

The aim of this work is elaboration of aFGF with a length of 134 a.a (aFGF-134) synthesis process in E.coli cells using phage lambda and purification of target protein.

The gene of aFGF-134 was obtained by oligonucleotide synthesis on basis of published aminoacid sequences. The expression of this gene inserted in the pET-a134 plasmid under the control of the T7 promoter is carried out in E.coli BL 21 DE3 cells. The cells of producer were infected by phage lambda after IPTG induction of the synthesis of RNA polymerase T7 phage and therefore aFGF-134. This process results in lysis of the producer strain cells, and synthesized aFGF-134 is released into the cell medium, where it accumulates in a soluble form. As a result of optimization of a growth medium composition, of a cultivation conditions and phage infection it was achieved a yield of target product 150 mg/l. Because of aFGF displays the strong affinity for heparin the isolate target protein is purified not less than 99 % by one-step procedure using heparin-Sefarose affinity chromatography. The biological activity tests of purified aFGF-134 showed that obtained fibroblast growth factor promotes angiogenesis in the chick embryo chorioallantoic membrane, as well as stimulates proliferation of Balb/3T3 A31 fibroblasts. The obtained factor is tested on animals for the preparation of preclinical studies.

БИОСИНТЕЗ ГРАНУЛОЦИТАРНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА ЧЕЛОВЕКА В КЛЕТКАХ ESCHERICHIA COLI

Славченко И.Ю., Черных С.И., Бахмач Е.В., Кордюм В.А.

ПНИК «Биотехнолог»
e-mail: biotech@naverex.kiev.ua

Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор человека (G-CSF) – гликопротеин с молекулярной массой около 19 кД, продуцируемый макрофагами при индукции бактериальными эндотоксинами, а также фибробластами и эндотелиальными клетками - при индукции интерлейкином 1 и фактором некроза опухоли. G-CSF является важным фактором гемопоэза, регулирующим образование функционально активных нейтрофилов и их выход в кровь из костного мозга. Существует две формы зрелого G-CSF, образующиеся в результате альтернативного сплайсинга первичного транскрипта, содержащие 177 и 174 аминокислотных остатка. Короткая форма G-CSF имеет делецию трех аминокислот в положении 36-38 и проявляет более высокую биологическую активность. Поэтому рекомбинантный аналог именно этой формы G-CSF используется в качестве активного ингредиента в препарате Нейпоген (Хоффманн-Ля Рош, Швейцария) широко применяемого за рубежом для лечения нейтропении. Очень высокая цена этого препарата сделала его практически недоступным для медицинского использования в Украине. В этой связи нами предпринята попытка разработки технологии получения отечественного лекарственного препарата G-CSF.

В данной работе мы сообщаем о результатах первых этапов создания препарата G-CSF, а именно химико-ферментативном синтезе искусственного гена G-CSF (174 а.к) и его успешной экспрессии в клетках E.coli.

Дизайн гена, кодирующий G-CSF (174 а.к) разработан на основе известной первичной структуры целевого белка с учетом спектра изоакцепторных тРНК в клетках E.coli. При этом синтетический ген, нуклеотидная последовательность которого существенно отличается от природной, кодирует белок G-CSF (174 а.к), аминокислотная последовательность которого полностью идентична природной. Эффективная экспрессия этого гена в составе плазмиды pET-G-CSF/2 была достигнута нами под контролем высокоэффективного промотора Ø 10, узнаваемого РНК-полимеразой фага Т7. В качестве реципиента этой плазмиды использовали штамм BL21 (DE3), содержащий в составе своей хромосомы ген-РНК-полимеразы фага Т7 под контролем индуцибельного lacUV5 промотора E.coli. При оптимальных условиях культивирования продуцента выход рекомбинантного G-CSF (174 а.к), составил более 16 % от суммарных белков клетки. Электрофоретический анализ растворимой и нерастворимой фракций белков показал, что G-CSF (174 а.к) накапливается в бактериальных клетках в нерастворимой форме, что является характерным свойством данного белка при высоком уровне гетерологичной экспресии в клетках E.coli.

BIOSYNTHESIS OF HUMAN GRANULOCYTE COLONY STIMULATING FACTOR IN ESCHERICHIA COLI CELLS

Slavchenko I.Yu., Chernykh S.I., Bakhmach E.V., Kordyum V.A

PSRC "Biotechnolog"
biotech@naverex.kiev.ua

Human granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) is 19 kDa glycoprotein, which produced by macrophages during bacterial endotoxin induction, by fibroblasts and endothelial cells during interleukin 1 and tumor necrosis factor induction. G-CSF is important hemopoiesis factor, which regulates the formation of functional active neutrophiles and their migration into blood from bone marrow. There are two forms of mature G-CSF with 177 and 174 amino acids, which are forming during alternative splicing of primary transcript. The short form has 3 amino acids deletion in 36-38 position and displays more high biological activity. That is why namely this recombinant analog of G-CSF is used as an active ingredient in medicine Neupogen (Hoffmann-La Roche, Switzerland), which is widely used abroad for neutropenia treatment. The using of this drug in Ukraine is practically inaccessible because it has very high price. Therefore we undertook the attempt to elaborate the technology of obtaining G-CSF for production this medicine in Ukraine. In this paper we report the results of the first steps of G-CSF drug creation namely chemical-enzymatic synthesis of an artificial G-CSF gene (174 a.a.) and its successful expression in E.coli cells.

The gene design encoding G-CSF (174 a.a.) was worked out on the basis of known primary structure of target gene taking into account the isoacceptor tRNAs spectrum and its nucleotide sequence is differ essentially from the natural one. But this artificial gene encodes protein G-CSF (174 a.a.) with amino acid sequence fully identical to the natural one. The effective expression of this gene as a part of plasmid pET-G-CSF/2 was achieved under control of high effective Ø10 promoter which is recognized by T7 RNA polymerase. The E.coli BL21(DE3) containing T7 RNA polymerase gene in the chromosome under inducible lac-UV5 promoter E.coli was used as a recipient of this plasmid. At the optimal condition of producer cultivation the yield of recombinant G-CSF (174 a.a.) was more 16% of total cell protein. Electrophoresis analysis of soluble and insoluble protein fractions showed that G-CSF (174 a.a.) was accumulated in bacterial cells in a insoluble form, what is typical property of this protein at high level heterologous expression in E.coli cells.

ПРОТИВОВИРУСНЫЕ ВЕЩСТВА НАСТОЯЩЕЕ И БУДУЩЕЕ

Спивак Н.Я., Тимошок Н.А., Карпов А.В. Зоценко В.Н., Михайленко О.Н.

Инситут микробиологии и вирусологии НАНУ
e-mail: reva@imv.kiev.ua

В настоящее время для профилактики и лечения вирусных инфекций разработаны лекарственные препараты, которые условно можно разделить на группы: химиотерапевтические средства, интерфероны, индукторы интерферона и иммуномодуляторы.

К группе химиотерапевтических средств относятся аномальные нуклеозиды (ацикловир, ганцикловир, рабовирин, фамцикловир, вазарабин, цитарабин и др.). Которые являются активными ингибиторами ДНК- геномных вирусов. Активные ингибиторы РНК-геномных вирусов получены среди производных каркасных соединений (адамантан та норборнан и др.). Наиболее универсальными противоруснымим средствами являются интерфероны. Разработаны препараты природных и рекомбинантных ІФН I и II типов (Спленофероны, Вирексы, Лейкинферон, Лаферон и др.), которые широко используються в практической медицине и ветеринарии для профилактики и лечения вирусных и бактериальных, а также некоторых онкологических заболеваний.

Перспективными в медицине и ветеринарии могут быть индукторы ИФН, которые способны привести в действие собственную интерферонпродуцирующую систему организма. Целенаправленый скрининг среди большого количества высоко и низкомолекулярных соединений, как природного происхождения так и синтетического (природные и синтетические двуспиральные РНК, поликатионы, лектини, полисахариды, флюореоны, акридаионы, фенилимидотиазолы,аналоги госсиполу и др.), виявил несколько препаратов с высоким химиотерапевтическим индексом, что позволило рассматривать их как перспективные для применения в лечебной практике. На их основе разработаны Амиксин (класс флуореонов), Циклоферон (класс акридаионов), Полудан и Полигуацил, Кагоцел, Рагосин, Саврац, Флараксин, Фитомакс и Фитор. Практичнески многие индукторы ИФН способны к иммуномодуляции, поскольку сам процесс индукции ИФН является отдельным проявлением явления имунокорекции организма. В тоже время не все иммуномодуляторы способны индуцировать ИФН. К иммуномодулирующим препаратам следует отнести сложные полимерные субстанции бактерий и грибов - липиды, полисахариды (глюкан, лектинан, мурамилдипептид, пирогенал, продигиозан и др.). Препаратами будущего должы быть антивирусные средства обладающими интерфероногенными свойсвами.

ФЕРМЕНТЫ АЭРОКОККОВ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЕ БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ АЭРОКОККОВ

Черняев С.А., Кременчуцкий С.Г., Кошевая И.П., Мединская О.Н.

Днепропетровская государственная медицинская академия
e-mail: kremengena@mail.ru , kremen@dsma.dp.ua

Идентификация фракций ферментного комплекса, ответственных за окисление молочной кислоты была проведена с помощью диск-электрофореза в полиакриламидном геле. При просматривании электрофореграмм в ультрафиолетовом свете было выявлено два флавинсодержащих диска: верхний и нижний. Элюаты из этих зон окисляли D- и L-изомеры молочной кислоты. Также, при электрофорезе ферментного комплекса была выявлена фракция супероксиддисмутазы, обладающая антиоксидантной

активностью. Вопрос о механизме продукции молочной кислоты культурами аэрококками был решен при идентификации одного из метаболитов обмена - метилглиоксаля и определения глиоксалазной активности лизатов клеток. Известно, что метилглиоксаль является аутоингибитором (N.Krymkiewicz et al.,1971; W.B.Freedberg et al.,1971) и может оказывать антагонистическое действие (R.Cooper, 1984) .

Сопоставление лактатоксидазной и антагонистической активностей аэрококков позволило установить, что антагонистическая активность только частично зависит от лактатоксидазной активности и уровня продукции водород пероксида.

Анализ возможных токсических продуктов, образующихся в процессе окисления наличие супероксидного радикала. Супероксиддисмутаза аэрококков была описана F.S.Archibald et al. (1981), но данных о продукции супероксида аэрококками в литературе не было. Вначале продукция супероксида была идентифицирована в суточном штрихе роста аэрококков по изменению окраски индикатора - нитротетразолия синего, добавляемого совместно с молочной кислотой. Затем продукция супероксидного радикала была выявлена в реакции окисления молочной кислоты ферментным комплексом аэрококков и подтверждена ингибицией реакции восстановления тетразолия синего при добавлении в реакционную систему супероксиддисмутазы из эритроцитов или лизата деинококков, богатого этим ферментом. В результате анализа полученных данных составлена схема окислительного метаболизма аэрококков.

Процесс образования водород пероксида у аэрококков имеет двойной характер:

а) в результате прямого двухэлектронного восстановления кислорода, б) через дисмутацию супероксида. Взаимодействие водород пероксида с пировиноградной кислотой ведет к их декомпозиции с образованием ацетата и выделением углекислоты. Образование пировиноградной кислоты в процессе окисления лактата ввиду частичного ответвления потока электронов на образование супероксида служит для аэрококков одним из механизмов защиты от эндогенной атаки водород пероксида. На процесс окисления лактата ферментным комплексом, поглощение кислорода и антагонистическую активность оказывают влияние аминокислоты. Антагонистическую активность аэрококков усиливают: треонин, глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота, валин, глутатион восстановленный и цистеин. Это явление обусловлено реакцией водород пероксида с промежуточными углеродсодержащими продуктами обмена аминокислот: глиоксалем, гликольальдегидом, гистидином и др. с образованием токсических продуктов(G.Weitzel et al.,1961). В культуральной жидкости аэрококков был выявлен низкомолекулярный пептид с широким спектром антагонистической активности, обладающий кислотоустойчивостью и термостабильностью. Была исследована активность ключевых ферментов метаболизма глутатиона аэрококков (глутатион-пероксидазы, гаммаглутамил-транспептидазы и глутатион -S-трансферазы). Активность глутамил-транспептидазы (мкмоль р-нитроанилина /100 мг. белка) в мембранносвязанной фракции нативного препарата составила: 7,25 + О,36 ед. уд. активности Выявление глутатионпероксидазной активности А-бактерина позволяет предположить антиоксидантную активность препарата, а активности глутатион-S-трансферазы - антитоксическую функцию при пероральном применении.

ЗАЩИТНЫЕ СВОЙСТВА ЭКЗОГЕННЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ МИКРООРГАНИЗМОВ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

И.Н Юркова [1], В.Р. Эстрела-Льопис [2]

[1]Таврический национальный университет им.В.И.Вернадского
[2]Институт биоколлоидной химии им.Ф.Д.Овчаренко НАН Украины

Внеклеточные биополимеры микроорганизмов представляют собой совокупность биологически активных веществ, среди которых особое место занимают полисахариды. Известно, что эти бактериальные биополимеры проявляют противомикробную, вирусоцидную, антикоагулянтную, противоопухолевую активность, что свидетельствует о широких возможностях их применения в медицине и ветеринарии в качестве биологически активных веществ.

Экзогенные полисахариды (ЭПС) выполняют барьерную функцию между клеткой и окружающей средой, участвуя в сорбции и десорбции, ионном обмене, защите клетки от экстремальных воздействий внешней среды. На примере микроводоросли Chlorella vulgaris, пекарских дрожжей и бактерий Bacillus cereus исследована роль ЭПС в одном из аспектов взаимодействия клетки и окружающей среды – взаимодействии с ионными и коллоидными металлами. Показано, что как в гетерокоагуляции, так и в биосорбции реакцией микроорганизма на изменение состава дисперсионной среды является усиление продукции внеклеточных полисахаридов.

В гетерокоагуляции влияние ЭПС связано с их избирательной адсорбцией на минеральных частицах, что приводит к изменению поверхностного заряда частиц и, соответственно, ионно-электростатического отталкивания частиц и клеток.

В биосорбции влияние ЭПС связано с образованием комплексов Me^{II+}-ЭПС, адсорбционный потенциал и подвижность которых отличается от таковых свободных ионов металлов. Методом Рамановской спектроскопии показано, что все исследованные ионы металлов, взаимодействуя с функциональными группами ЭПС, образуют координационные комплексные соединения. Наибольшее влияние ЭПС в биосорбции наблюдается в области низких концентраций металлов, где происходит максимальное выделение ЭПС.

На основе представлений о роли ЭПС в процессах гетерокоагуляции и биосорбции предложен способ получения и рецептура биологически активных пищевых добавок на основе микроорганизмов (синезеленая микроводоросль спирулина, пивные дрожжи) с металлами-микроэлементами. Разработанный способ являются универсальным, поскольку позволяет обогащать биомассу различных микроорганизмов любыми металлами-микроэлементами, в том числе, нетрадиционными ультрамикроэлементами (серебро, золото и др.).

PROTECTIVE PROPERTIES OF EXTRACELLULAR MICROORGANISMS POLISACCHARIDES AND THEIR POSSIBLE APPLICATION

I.N.Yurkova [1], V.R.Estrela-Llopis [2]

[1] *Tavrida National University named after V.I.Vernadsky, Simferopol*
[2] *F.D.Ovcharenko Institute of Biocolloid Chemistry, National Academy of Siences of Ukraine, Kiev*

Extracellular microorganisms biopolymers are a set of biologically active substances uhere polisaccharides play a special role. These bacteria biopolymers are kvown to reveal antimicrobic, virusoidal, anticoagulant, antitumour activity which justifies their uride application in medicine and veterinary as biologically active substances.

Extracellular polisaccharides (EPS) function as a barrier between a cell and its environment, participating in sorption and desorption, ionic exchange, cell protection against extreme environmental influence. Using Chlorella vulgaris microalgae, yeasts and Bacillus cereus bacteria the EPS role was studied in one aspect of cell interaction with environment – interaction with metals in ionic and colloidal forms. It is shown both in heterocoagulation and biosorption the microorganism reaction for a change in a dispersal medium is an increase to produce extracellular polisaccharides.

In heterocoagulation the influence of EPS is connected with their selective adsorption jn mineral particles causing the change of surface pauticle chargts and therefore ionic-electrostatic repulsion of particles and cells.

In biosorption the EPS influence is connected with the Me^{II+}- EPS complex formation,which adsorptive potential and mobility differs from such free metals ions. Using Raman spectroscopy metod it is shown that all metal ions studied from coordinative complex compounds interecting with functional EPS groups. The largest EPS influence in biosorption is observed in the domain with low metal concentration where maximal EPS production occurs.

On the basis of the knowlegde on EPS role in the processes of heterocoagulation and biosorption a means of obtaining and recipe of biologically active food agents with microorganisms (Spirulina blue-green microalgae and yeast) with some metal-microelements is proposed. The means developed is universal since it allows to enrich a biomass of various microorganisms with any metal-microelements, amoung them untraditional ultramicroelements (silver, gold, etc.).

СЕКЦИЯ:

«МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ»

ПЕРВИЧНАЯ ОЦЕНКА ТАУРОЗИДА I КАК АДЪЮВАНТА ДЛЯ ДНК ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИЧ

И.Б.Андроновская[1], Ю.Л.Криворутченко[1], В.И.Гришковец[2], В.Я.Чирва[2], Й.Хинкула[3], Б.Вахрен[3]

[1]*Крымский Медицинский Университет*
[2]*Таврический Национальный Университет*
[3]*Каролинский Институт*
e-mail: ykia@birol.cris.net

Предпосылки: Иммуногенность генетических анти ВИЧ вакцин можно повысить с помощью иммунологических адъювантов. Недавно у сапонина Таурозида I (TI) из Hedera taurica carr. были выявлены адъювантные свойства. В данной работе была изучена способность TI стимулировать иммунный ответ к продукту ДНК плазмиды, кодирующей регуляторный Nef белок ВИЧ-1. Оценивалась возможность активации ВИЧ в культурах клеток Jurkat-tat и лимфоцитов периферической крови (ЛПК) под действием TI.

Методы: Мышам BALB/c в/м дважды через 4 недели вводили 30 мкг/мышь плазмиды без TI (контроли) или с TI (25мкг/мышь). Антительный ответ оценивали с помощью ИФА. Секрецию ИЛ-4 и ИЛ-2 изучали на клетках селезенок мышей, стимулированных синтетическими пептидами, содержащими иммуногенные эпитопы Nef. В клетки Jurkat-tat или ЛПК вносили ВИЧ-1 и: i) TI однократно (в день 0); ii) TI повторно в дни 0, 3 и 7. Для оценки результатов использовали коэффициент репродукции ВИЧ-1 (КР). Его рассчитывали как отношение концентрации ВИЧ p24 (нг/мл) к количеству жизнеспособных клеток. КР в контролях (ВИЧ добавляли к клеткам без сапонина) принимали за 100%.

Результаты: При иммунизации с TI регистрировали более выраженный гуморальный ответ.

Продукция IgG и ИЛ-2 имела место у 50% мышей, а в контролях у 33% животных. Nef-специфическая секреция клетками селезенки ИЛ-4 наблюдалась у 42% мышей, получавших TI, и у 39% животных из контрольной группы. Данные по влиянию TI на высвобождение p24 зараженными клетками (КР, %,*P<0,05) представлены в таблице.

Клетки		Jurkat-tat				ЛПК			
Введение сапонина		Однократное		Повторное		Однократное		Повторное	
Доза сапонина мкгxml−1		100	5	100	5	100	5	100	5
КР (%) по дням	3 день	77	155*	90	94	96	106	109	128
	11 день	127	94	81	107	151*	85	69	34*

Выводы: Таурозид I обладает адъювантными свойствами при введении с ДНК плазмидой, кодирующей Nef белок ВИЧ-1. Сапонин может умеренно усиливать экспрессию ВИЧ при однократном введении. Эффект можно отменить повторным введением TI.

PRELIMINARY EVALUATION OF TAUROSID I AS ADJUVANT FOR DNA ANTI HIV VACCINE

I. Andronovskaja[1], Y.Krivorutchenko[1], V.Grishkovets[2], V.Chirva[2], J.Hinkula[3], B.Wahren[3]

[1]*Crimean Medical University, Simferopol, Ukraine;*
[2]*Taurican National University, Simferopol, Ukraine;*
[3] *Karolinska Institute, Stockholm, Sweden.*
e-mail: ykia@birol.cris.net

Background: The immunogenicity of genetic anti HIV vaccines may be enhanced by immunologic adjuvants. The adjuvant properties of saponin Taurosid I (TI) from Hedera taurica carr. have been described recently. In this study adjuvant abilities of TI were studied with plasmid DNA encoding Nef regulatory protein of HIV-1. The possibility of HIV activation in Jurkat-tat cells and human peripheral blood lymphocytes (PBL) by TI has been investigated as well.

Methods: 30 μg/mouse of the plasmid was administrated to BALB/c mice i/m twice with 4 weeks interval without TI (controls) and with TI (25μg/mouse). Serological response was measured by ELISA. IL-4 and IL-2 secretion was studied in spleen cells of mice stimulated with synthetic peptides containing immunogenic Nef epitopes. Jurkat-tat and PBL cells were exposed to HIV-1 and the saponin with: i) single TI addition (day 0); ii) with the repeated additions of TI on days 0, 3 and 7. The coefficient of HIV-1 reproduction (CR) was used to compare the effects of taurosids. CR was calculated as a ratio between HIV p24 concentration (ng/ml) divided

by the amount of viable cells. CR in the controls (HIV was added to cells without saponin) was considered as 100%.

Results: More pronounced humoral response was seen after immunization with TI. IgG and IL-2 secretion were seen in 50% of mice as compared with 33% in controls. Nef-specific IL-4 secretion was seen with spleen cells from the group with TI in 42% and from the control group in 39% of mice. Effects of TI on p24 release by infected cells (CR, %,*P<0,05) are shown in a table.

Cells		Jurkat-tat				PBL			
Saponins addition		Single		Repeated		Single		Repeated	
Dose of saponin μgxml−1		100	5	100	5	100	5	100	5
CR (%), days postinfection	3 day	77	155*	90	94	96	106	109	128
	11 day	127	94	81	107	151*	85	69	34*

Conclusions: Taurosid I possessed adjuvant properties when was used with plasmid DNA encoding Nef protein of HIV-1. This saponin can moderately upregulate HIV expression when used in the single addition regimen. The effect can be avoided by repeated addition of TI.

СОЧЕТАННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ВИБРОАКУСТИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ И АКТОВЕГИНА - ЭФФЕКТИВНАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПРОСТАТЫ

О.Г. Базаринский, В.Л. Ярославский

Харьковская медицинская академия последипломного образования

Общеизвестно, что в качестве фактора, специфически воздействующего на восстановление нарушенного кровотока в конечностях, и особенно венозного и лимфатического оттока, в последние годы начали применять виброакустическое воздействие (ВАВ). Простатопротекторным действием обладает небольшое число препаратов животного и растительного происхождения - вобензим, биоглобин, простатилен, раверон, актовегин (А.). Естественно, что сочетание обеих возможностей обещает положительно повлиять на исход лечения ряда патологических состояний предстательной железы.

В этой связи мы использовали аппарат "Витафон", который генерирует ИКИ в пределах 30-40 мВт, и ВАВ в пределах 20-30 кГц (НПФ МИКРОЭМП, Санкт-Петербург). Нами обследовано 27 мужчина, страдающий хроническим простатитом (ХПр.) (17 чел.) и простатодинией (Пд.) (10 чел). Лечение проводилось амбулаторно, ежедневно, на курс 7-10 процедур ВАВ + А.

Сравнительная оценка результатов, полученных в 2 контрольных группах (9 мужчин с ХПр. и 7 - с Пд. , получавших только ВАВ), показала, что сочетанное влияние ВАВ+А. ускоряло выздоровление на 3-4 дня. Болевые ощущения уменьшались после 1-2 процедур, а исчезали к 6-7-й процедуре. Анализ крови, простатического сока, результаты ультразвукового сканирования подтверждали данные о более быстрой обратной эволюции указанных заболеваний.

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ АНОМЕРНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ МУРАМИЛДИПЕПТИДА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГРИППЕ У МЫШЕЙ

Бакова А.А., Андроновская И.Б., Малыгина В.Ю., Пертель С.С.*, Криворутченко Ю.Л.
*Крымский Государственный Медицинский Университет им.С.И. Георгиевского, *Таврический Национальный Университет им. В.И. Вернадского*
e-mail: ykia@bird.cris.net; labor@csmu.strac.net

Идентификация мурамилдипептида (МДП) как минимальной иммуномодулирующей структуры клеточной стенки Mykobakterium bovis, входящей в состав полного адъюванта Фрейнда, положило начало всестороннему изучению роли естественного пептидогликана в функционировании организма человека и животных. С целью повышения биологической активности и устранения отрицательного побочного действия МДП были созданы и анализировались его синтетические производные с модификациями в различных участках молекулы. Важным аспектом изучения биологических эффектов пептидогликана является оценка его иммуномодулирующих свойств in vitro.

Нами изучено защитное действие 7 аномерных производных МДП при экспериментальной гриппозной инфекции у мышей. Использовали α и β стериоизомеры метил- и бутилгликозидов МДП, отличающиеся конфигурацией аномерного центра. На их основе получены липофильные соединения α и

β-бутил-мурамилтетрапептид-дезоксихолилы, в молекуле которых остаток изоглутамина пептидного фрагмента был амидирован метиловым эфиром N-(дезоксихолил)-L- лизина. β-бутил-МДП-димер получали диацилированием β-бутилгликозидом мурамилдипептида мостикового тетрапептида по α-аминогруппам лизиновых остатков.

Препараты вводили мышам линии BALB/c внутрибрюшинно в дозе 10 и 50 мкг, по терапевтической либо профилактической схеме. В работе использовали вирус гриппа A/WSN/1/33 H1N1, полученный из коллекции Института вирусологии им. Д. И. Ивановского (Москва), адаптированный к репродукции в легких мышей. Основным критерием наличия защитного действия у производных МДП считали повышение выживаемости мышей в опытной группе по сравнению с контролем. Учитывали также время начала гибели животных и среднюю продолжительность их жизни. У выживших после инфицирования вирусом гриппа мышей изучали титры антигриппозных сывороточных антител.

Из 7 исследованных аномерных производных МДП протективным действием при летальном гриппе у мышей обладал только β-метил-МДП, использованный в качестве профилактического средства. Применение этого производного повышало выживаемость животных в 2 раза, среднюю продолжительность жизни на 3,83+0,01 суток Ни один из изучаемых препаратов не обладал терапевтическим эффектом при экспериментальном гриппе у мышей. Некоторые производные оказывали токсическое действие,

STUDY OF THE ANOMERIC MDP DERIVATIVES ACTION IN AN INFLUENZA INFECTED MICE

Bakova A. A., Andronovskaja I. B, Maligina V. Y. Pertel S. S., Krivorutchenko Y. L.
Crimean Medical University, Taurican National University
e-mail: ykia@bird.cris.net; labor@csmu.strac.net

The identification of MDP as a minimal immunomodulating module of the Mykobakterium bovis cell wall included it in complete Freund`s adjuvant, was the beginning of all-round study of natural peptidoglycan role in human or animal physiology. With the purpose of biological activity increase and elimination of negative actions of MDP, several MDP derivatives were created and analyzed. The estimation of MDP`s immunomodulation poperties in vitro was studied as an important aspect of their biological effects.

Protective properties of the 7 MDP derivatives were studied on the lethal mice model of influenza virus infection. In this case α and β stereoisomers of methyl- and bythil- glycosids were used.

The substances were administrated to BALB/c mice in a doze of 10 and 50 μg at therapeutical or prophylactic circuit. The influenza virus A/WSN/1/33 H1N1 type, received from the D. I. Ivanovskij Virusology Institute (Moscow) and adapted to mice was used in this study. The increase of a range of mice viability in experimental group was considered to be a basic criterion of MDP derivatives protective actions. Also the time of animal death beginning and average duration of their life were took into account. The level of antiviral antibodies was studied in the group of survived mice as well

Among 7 investigated MDP derivatives only β-methyl MDP had protective effect as a preventive mean in lethal model of influenza mice infection. The application of this derivative increased mice viability in 2 times and average life duration on 3,83±0,01 days. Any of investigated substances had no therapeutical effect in the experimental mice infection. Some derivatives were found as a toxic substances,

ПОИСК ВЫСОКОАКТИВНЫХ ТИРЕОСТАТИКОВ СРЕДИ ПРОИЗВОДНЫХ АЗОТ-, КИСЛОРОД- И СЕРОСОДЕРЖАЩИХ ГЕТЕРОЦИКЛОВ

Божко Т.С., Ладогубец Е.В., Комарова И.В.

Институт проблем эндокринной патологии АМН Украины им. В.Я. Данилевского
E-mail: igar@vlink.kharkov.ua

Лекарственные средства, применяемые в настоящее время для медикаментозной терапии гипертиреоза, содержат в своем составе фрагмент тиомочевины и являются достаточно токсичными, способными вызывать серьезные побочные эффекты при длительном использовании. В связи с этим возникает необходимость поиска новых соединений с иной химической структурой, которые на фоне высокой антитиреоидной активности обладали бы низкой токсичностью.

В Институте синтезированы новые оригинальные азот-, кислород- и серосодержащие гетероциклические соединения с нетрадиционными фармакофорами. В основу целенаправленного синтеза веществ с предполагаемой антитиреоидной активностью положена гипотеза о возможном участии гетероциклов в процессе биосинтеза тиреоидных гормонов за счет образования устойчивых донорно – акцепторных комплексов с молекулярным йодом.

Цель работы. Выявление новых тиреостатиков среди представителей гетероциклических соединений.

Методы. Скрининговые исследования новых биологически активных соединений (БАС) проведены на крысах популяции Вистар. БАС вводили перорально ежедневно в течение 10 суток в дозе, эквимолярной 10 мг/кг препарата сравнения - мерказолила. Тиреоидный статус животных оценивали по содержанию тиреоидных гормонов в сыворотке крови, а также по данным гистологического и морфометрического анализа щитовидной железы. Острую токсичность исследовали методом Прозоровского на трех видах животных при пероральном и внутрибрюшинном введении.

Результаты. При тестировании почти все вещества в большей или меньшей степени проявляли антитиреоидную активность, что позволило рассматривать некоторые структурные элементы как нетрадиционные «антитиреоидные» фармакофоры. Вместе с тем, было выявлено два вещества-лидера, относящихся к ряду кислород-содержащих гетероциклических соединений, которые обладали более высокой, чем мерказолил специфической активностью. При этом зобогенный эффект, в отличие от препарата сравнения, был менее выражен (прирост массы щитовидной железы при воздействии веществ-лидеров составлял 27-36% против 79-88 % для мерказолила). При изучении острой токсичности установлено, что $ЛД_{50}$ для соединений-лидеров на порядок выше, чем у мерказолила, что позволило отнести их к классу относительно безвредных.

Выводы. В ходе скрининговых исследований выявлен новый класс соединений с антитиреоидной активностью - производные изобензофуранонов. Два новых БАС, относящиеся к этому ряду, являются перспективными для дальнейшего изучения вследствие высокой специфической активности, не уступающей препарату сравнения, низкой токсичности и отсутствия зобогенного эффекта. Дальнейшее детальное изучение их действия может быть положено в основу создания эффективных и безвредных тиреостатиков нового поколения.

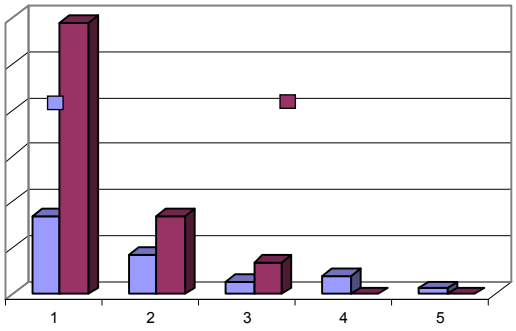
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БИОДЕГРАДАЦИИ ЦИНАЗЕПАМА ПРИ ЕГО ВВЕДЕНИИ ИНДИВИДУАЛЬНО И В ВИДЕ КОМПЛЕКСА С β-ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ

Бойко И.А., Костенко С.В., Макан С.Ю., Андронати К.С., Андронати С.А.

Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины

Совместные исследования ФХИ им. А.В. Богатского НАН Украины и НИИ фармакологии АМН России привели к созданию высокоэффективного гипнотика, не нарушающего структуру сна – гемисукцината 3-окси-7-бром-5-(о-хлорфенил)-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-она (циназепама), обладающего высокой анксиолитической и седативной активностью. Отличительной особенностью данного препарата является отсутствие миорелаксантного эффекта при приеме в терапевтических дозах [1]. С целью повышения его стабильности и биодоступности ранее были получены его супрамолекулярные комплексы с β-циклодекстрином (β-ЦД) типа "гость-хозяин"[2].

Мы провели сравнительный анализ биодеградации циназепама в плазме крови и мозге крыс при введении его индивидуально и в виде комплекса с β-ЦД в опытах in vitro и in vivo. Исследования биодеградации меченого 14С-циназепама и его инклюзивного комплекса с β-ЦД с тканями мозга in vitro позволило оценить фармакокинетику циназепама при отсутствии гематоэнцефалического барьера. Установлено, что основным направлением биотрансформации циназепама в организме лабораторных животных является процесс ферментативного гидролиза сложно-эфирной группы циназепама с образованием 3-гидроксифеназепама. Данные радиометрических исследований экстрактов гомогената мозга свидетельствуют, что циназепам в большей степени биотрансформируется в мозге в сравнении с плазмой (рисунок).



Скорость (мкг/мл,(г).мин$^{-1}$) биодеградации циназепама при инкубации комплекса с β-ЦД с плазмой крови и тканями мозга крыс. По оси абсцисс время – 1 - 15 мин; 2 – 30 мин; 3 – 60 мин; 4 – 120 мин; 5 – 240 мин.

3-Гидроксифеназепам обнаруживается в плазме крови и тканях мозга и в экспериментах in vivo.

Показано, что 3-гидроксифеназепам является агонистом БДР и проявляет более высокий аффинитет к бенздиазепиновым рецепторам ЦНС в сравнении с циназепамом (Ki 2,48 и 64,1нМ соответственно). Сравнение их фармакологических профилей позволило установить, что 3-гидроксифеназепам обладает значительно меньшей способностью потенцировать гексеналовый сон, проявляет более выраженное миорелаксантное действие, сравнимую с циназепамом анксиолитическую активность и только в противосудорожной активности в тесте антагонизма с коразолом он превосходит циназепам[1,3]. Принимая во внимание вышеизложенное можно предположить, что фармакологический эффект циназепама обусловлен суммарным действием циназепама и его метаболита 3-гидроксифеназепама.

Литература

Андронати С.А., Якубовская Л.Н., Яворский А.С. Патент СССР, №1828645 от 13.10.92

Andronati S.A., Shapiro Yu.E., Gorbatuk V.Ya. et. Al. // J. Incl. Phenom.-1996.- Vol.24. –P. 175-186.

Феназепам /С.А. Андронати, Г.Я. Авруцкий, А.В. Богатский и др.- Киев: Наук. думка, 1982,-288с.

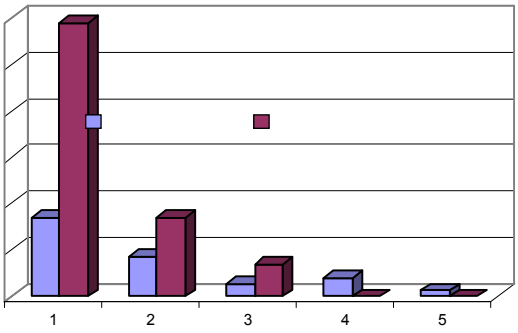
COMPARATIVE ANALYSIS OF BIODEGRADATION OF CINAZEPAM ADMINISTERED INDIVIDUALLY OR IN COMPLEX WITH β-CYCLODEXTRINE

Boiko I.A., Kostenko C.V., Makan S.Yu., Andronati K.S., Andronati S.A.

A.V. Bogatsky Physico-chemical Institute of the NAS of Ukraine

Joint studies of A.V. Bogatsky Physico-chemical Institute of the NAS of Ukraine and Institute of Pharmacology of AMS of Russia lead to development of a highly potent hypnotic which does not corrupt sleep patern – hemi-succinate of 3-oxy-7-bromo-5-(o-chlorophenyl)-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepine-2-one (cinazepam), possessing high anxiolytic and sedative activity. A distinctive feature of this agent is the lack of myorelaxant effect upon administration of therapeutic doses [1]. In order to strengthen its stability and bioavailability its supramolecular complexes with β-cylcodextrine (β-CD) of "guest-host" type [2].

We have conducted a comparative analysis of biodegradation of cinazepam in blood plasma and rat brain after administration of it individually and in complex with β-CD in experiments in vitro and in vivo. Studies of biodegradation of labeled 14C-cinazepam and its inclusive complex with β-CD in brain tissues in vitro allow pharmacokinetics of cinazepam in absence of blood-brain barrier be estimaten. It has been found that the major direction of cinazepam biotransformation in organisms of laboratory animals is a process of enzyme hydrolysis of esther group of cinazepam with formation of 3-hydroxy-phenazepam. Results of radiometric studies of brain homogenate extracts have proved that cinazepam is biotransformed in brain in greater extent than in plasma (see Fig.).



Rate (μ/ml, (g) min^{-1}) of biodegradation of cinazepam during incubation of complex of β-CD with blood plasma and brain tissues of rats. X-axis – time: 1 – 15 min; 2-30 min; 3 – 60 min; 4 – 120 min; 5 – 240 min.

3-Hydroxy-phenazepam is pound in blood plasma and brain tissues in vivo.

It has been shown that 3-hydroxy-phenazepam is an agonist of BZR and exerts a higher affinity for benzodiazepine receptors of CNS compared with cinazepam (Ki 2.48 and 64.1 nM, respectively). Comparing of their pharmacological profiles allowed to show that 3-hydroxy-phenazepam has a significantly lower ability to potentiate hexenal sleep, demonstrates a more avid myorelaxant activity, anxiolytic activity comparable with that of cinazepam, and only in anti-seizure activity in a corazol antagonism test it superseded cinazepam [1,3]. Taking into account the above stated it may be assumed that pharmacological effect of cinazepam is a function of a concerted effects of cinazepam and its metabolite 3-hydroxy-phenazepam.

Literature

Андронати С.А., Якубовская Л.Н., Яворский А.С. Патент СССР, №1828645 от 13.10.92

Andronati S.A., Shapiro Yu.E., Gorbatuk V.Ya. et. Al. // J. Incl. Phenom.-1996.- Vol.24. –P. 175-186.

3. Феназепам /С.А. Андронати, Г.Я. Авруцкий, А.В. Богатский и др.- Киев: Наук. думка, 1982,-288с

ВКЛАД ГЛУТАМИНМЕТАБОЛИЗИРУЮЩЕЙ СИСТЕМЫ В ЭФФЕКТЫ НОВОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ L-ГЛУТАМИНА

Валюк Т.Ч., Величко М.Г., Каравай А.В., Нефёдов Л.И.

Институт биохимии НАН Беларуси
e-mail: val@biochem.unibel.by

Рядом исследователей идентифицирована новая группа соединений пептидной природы, обладающих выраженным ингибирующим действием на рост неопластической ткани, которая носит название антинеопластоны (АНП). Среди АНП выделяют отдельную группу соединений, имеющих в составе производные L-глутамина. Нами был модифицирован АНП AS2-1, в составе которого изменено соотношение исходных композиций производных L-фенилаланина и L-глутамина, - авторское название “Деглутам” (ДГ) [Заявка № а 19990937 на выдачу патента РБ. Препарат, содержащий производные L-глутамина, обладающий противоопухолевой активностью. Нефёдов Л.И.. Величко М.Г., Каравай А.В., Леднёва И.О., Валюк Т.Ч. Приоритетная спр. Заявл. 15/10/1999]. На основе предварительных результатов исследований было высказано предположение об “антиглутаминовом” механизме действия препарата, реализация которого, возможно, связана с активностью процессов биосинтеза и утилизации глутамина.

Целью настоящей работы явилось изучение глутаминметаболизирующей системы в тканях животных-опухоленосителей SM-1 и PC-1 на фоне введения ДГ, представляющего собой композицию L-фенилацетата и N-фенилацетил-L-глутамина в форме натриевой соли в соотношении 3,5:1,5, в дозе 125 мг/кг.

Материалы и методы. Эксперимент проведен на белых крысах-самках линии Wistar CRL:(WI) WU BR с подкожно перевитыми SM-1, PC-1, которым внутрижелудочно (в/ж) вводили ДГ в дозе 125 мг/кг 2 раза в сутки в течение 10 дней. Исследуемые показатели сравнивали с полученными у контрольных опухоленосителей, получавших изотонический раствор хлорида натрия. Спектрофотометрически в супернатантах из печени и опухоли крыс (10000 g × 3 мин.) определяли активность глутаминсинтетазы (ГС; НФ 6.3.1.2.), фосфат-зависимой (ФЗГ) и фосфат-независимой (ФНГ)

глутаминазы (НФ 3.5.1.2.), а также уровень эндогенного глутамина в тканях печени, опухоли и плазме крови животных.

Результаты и обсуждение. Введение ДГ достоверно не изменяло суммарное содержание глутамина в печени и плазме крови опухоленосителей SM-1 и РС-1, в то время как наиболее отчётливо проявляется снижение уровня аминокислоты в тканях опухоли. Эффекты ДГ на глутаминметаболизирующие ферменты у животных-опухоленосителей различаются в зависимости от скорости роста новообразования. Так, в печени и опухоли животных с РС-1 наблюдалась активация ГС (в 1,7 раза) и активация ФЗГ (в 1,5 раза) в печени. В печени животных с карциносаркомой SM-1 на фоне снижения активности глутаминметаболизирующих ферментов (ГС - в 2 раза, ФЗГ - в 2,5 раза, ФНГ - в 4 раза) наблюдалась активация ферментов (ГС - в 4 раза, ФЗГ - в 3,5 раза, ФНГ - в 7 раз) в ткани опухоли. Следует отметить, что при введении ДГ показатели активности исследуемых ферментов в ткани печени приближались к значениям интактных здоровых животных.

Выводы. Таким образом, полученные данные показывают, что чувствительность опухолей к исследуемому ДГ определяется скоростью роста неоплазмы и активностью метаболических процессов, ответственных за формирование фонда глутамина в ткани опухоли.

THE CONTRIBUTION OF GLUTAMINE METABOLIZED SYSTEM TO THE EFFECTS OF NEW ANTITUMOR PREPARATION ON THE BASE OF L-GLUTAMINE DERIVATIVES

Valiuk T.Ch., Velichko M.G., Karavai A.V., Nefyodov L.I.

National Academy of Sciences of Belarus, Institute of Biochemistry
e-mail: val@biochem.unibel.by

The new group of peptide nature compounds which is markedly inhibit the action of neoplastic tissue growth called antineoplastons (ANP) was identified. Among ANP are noted the individual group of compounds, which consist of L-glutamine derivatives. ANP AS2-1, in which the ratio of initial composition of L-phenylalanine and L-glutamine derivatives is changes (the autors name is “Deglutam”; DG) [Claim №a 19990937 on the issue of patent of Belarus. The preparation which consist of L-glutamine derivatives, possessed of antitumor activity. Nefyodov L.I., Velichko M.G., Karavai A.V., Lednyova I.O., Valiuk T.Ch. Priority inf. 15/10/1999] was modified by us. On the base of results, which were received early, the supposition about “antiglutamine” mechanism action of preparation, the realization of which maybe is connected with the activity the processes of glutamine synthesis and utilization.

The aim of our research work is studying of the glutamine metabolized system in the tissues of the rats with carcinosarcoma SM-1 under the influence of DG, which is the composition of L-phenylacetate and N-phenylacetyl-L-glutamine in the form of sodium salt in the ratio 3,5:1,5, in the dose of 125 mg/kg.

Materials and methods. The experiment was held on the white female rats of the line Wistar CRL:(WI) WU BR with subcutaneously transplanted SM-1, PC-1 under the influence of DG in the dose of 125 mg/kg of the body’s weight during their intragastric (i/g) injection 2 times per day for 10 days. The activity of glutamine synthetase (GS; EC 6.3.1.2.), phosphate-dependent glutaminase (PDG) and phosphate-independent glutaminase (PIG) was determined by a spectrophotometer in the supernatant from the rats liver and tumor (10000 g × 3 min) and the level of endogen glutamine in the liver, tumor and plasma of blood of the animals.

Results. The injection of DG authenticitely change not the total maintenance of glutamine in the liver and plasma blood rats with tumor SM-1 and PC-1, whereas the decrease of amino acid level in the tumor was revealed. The effects of DG on the glutamine metabolized enzymes in the tumor-bearing animals are differ upon the rate tumor growth. In the liver and tumor of the animals with PC-1 the activity of GS was increased (in 1,7 times) and PDG (in 1,5 times) in the liver. In the liver of the rats with carcinosarcoma SM-1 during the decrease the activity of glutamine metabolized enzymes (GS - in 2 times, PDG - in 2,5 times, PIG - in 4 times) was detected the activation of the enzymes (GS - in 4 times, PDG - in 3,5 times, PIG - in 7 times) in the tumor. It is need to note, that under the injection of DG the activity of studied enzymes in the liver approximate to the data of intact animals.

Conclusions. Thus, our data indicate that the sensitivity of tumor to the DG determined by tumor growth rate and activity of metabolic processes that answer for forming the glutamine reserves in the tumor.

МЕМБРАНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ФИТОПРЕПАРАТА “ПОЛИФИТОЛ-1”

Войцицкий В.М., Хижняк С.В., Шевченко Л.Е., Векслярский Р.З., Олейник С.А.*

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко
*Медицинский институт Украинской ассоциации народной медицины
e-mail: vmv@biocc.univ.kiev.ua

Повышенному интересу к фитотерапии, в настоящее время, способствует тот факт, что наряду с изучением влияния биологически-активных веществ на организм все больше внимания уделяется выявлению механизмов их воздействия на клеточные системы. Разнообразие химического состава фитопрепарата “Полифитол-1” обуславливает широкий спектр его лечебных свойств. Наличие целого ряда мембраномодулирующих и мембраностабилизирующих веществ (полифенолы, флавоноиды, органические кислоты, хиноны, стероиды и др.) указывает на мембранотропные свойства препарата “Полифитол-1”.

Исследовано взаимодействие фитопрепарата “Полифитол-1” с фосфолипидами в модельной двухфазной системе “раствор электролита - липид”. Липидная фаза представляет собой раствор азолектина (смесь фосфолипидов из бобов сои) в n-декане (10 мг/мл). Установлено, что при внесении препарата “Полифитол-1” в модельную систему происходит изменение граничного потенциала, что свидетельствует о поверхностной активности препарата и его способности взаимодействовать с граничным слоем фосфолипидов. Наряду с этим, наблюдается уменьшение электрического сопротивления и поверхностного натяжения границы раздела фаз, что указывает на возможность препарата “Полифитол-1” взаимодействовать с липидным матриксом мембран и модифицировать его свойства.

Известно, что при многих патологических состояниях, в том числе панкреатите, происходит нарушение ионного гомеостаза клетки за счет изменения мембранной проницаемости. В дальнейших исследованиях проведено изучение проницаемости для Ca^{2+}, K^{+} и Na^{+} плазматических мембран гепатоцитов и эритроцитов, выделенных из крыс с экспериментальным острым панкреатитом. Ионную проницаемость мембран оценивали по величине диффузного мембранного потенциала, который возникает при рассеивании концентрационного градиента изучаемого иона, направленного из окружающей водной среды в везикулированные мембранные препараты. Величину диффузного мембранного потенциала определяли методом синтетических проникающих ионов, а также используя потенциалчувствительный флуоресцентный зонд dis-C3-(5).

Установлено, что при остром панкреатите происходит повышение проницаемости плазматических мембран гепатоцитов и эритроцитов для исследуемых ионов, причем в большей степени для K^{+} и Na^{+} (в 2.5–4,0 раза) и, в меньшей степени, для Ca^{2+} (в 1.5–2.0 раза). Введение животным препарата “Полифитол-1” на фоне острого панкреатита приводило к частичной нормализации выявленных нарушений мембранной проницаемости, что свидетельствует о способности препарата “Полифитол-1” стабилизировать клеточные мембраны.

Таким образом, фитопрепарат “Полифитол-1” обладает выраженными мембраномодулирующими свойствами и приводит к стабилизации структуры клеточных мембран при патологических состояниях организма.

MEMBRANE-MODULATING PROPERTIES OF PHYTODRUG “POLYPHYTOL-1”

Voitsitsky V.M., Hizhnyak S.V., Shevchenko L.E., Veksklyarsky R.Z., *Oleynik S.A.

Kyiv Taras Shevchenko National University
**Medical Institute of Ukrainian Association of People’s Medicine*

The enhanced interest in phytotherapy at present promotes the elucidation of the mechanisms of the cellular effect of the biologically active substances along with the investigation of their influence on organism. The chemical compositional multiplicity of the drug “Polyphytol-1” determines the broad variety of its medical characteristics. The presence of a whole series of membrane-modulating and membrane-stabilizing substances (polyphenols, flavonoids, organic acids, quinones, steroids, etc) indicates the membrane-active properties of “Polyphytol-1”.

The interaction of the phytodrug “Polyphytol-1” with phospholipids in model two-phase system (electrolyte solution-water) was studied. The lipid phase is the azolectin (soybean lipid mixture) (10mg/ml) in n-decane. It is ascertained that “Polyphytol-1” induces the surface potential change in model system indicating the drug surface activity and its ability to interact with phospholipid boundary.

Besides the decrease of the electrical resistance and surface tension of the phase division border occurs. These results indicate the drug ability to modify also the characteristics of membrane lipid matrix.

It is well known that at many pathological states including pancreatitis the disorder of the cell homeostasis occurs due to changes in membrane permeability. The hepatocyte and erythrocyte plasma membrane permeability for Ca^{2+}, K^+ and Na^+ was studied in the preparations from rats with experimental acute pancreatitis. The membrane permeability for ions was evaluated by the magnitude of the diffusion membrane potential formed by dissipation of the concentration gradient of the studied ion directed from the aqueous medium into the membrane vesicles. The diffusion membrane potential value was determined by the method of synthetic penetrating ions and by potential-sensitive fluorescent probe dis-C_3– (5).

The increase of the hepatocyte and erythrocyte plasma membrane permeability for studied ions, higher - for K^+ and Na^+ (in 2,5-4,0 times) and a lesser degree - for Ca^{2+} (in 1,5-2,0 times) was established in acute pancreatitis. “Polyphytol-1” administration in acute pancreatitis partly normalized the abnormalities of membrane permeability indicating the ability of this drug to stabilize cell membranes.

Thus, the phytodrug “Polyphytol-1” has the pronounced membrane-modulating properties and stabilizes the cell membrane structure in the pathological states of organisms.

ПРЕПАРАТ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОСТЕОПОРОЗА: ОБОСНОВАНИЕ, ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ, ПРИМЕНЕНИЕ

Волков Г.Л., Василевская В.Н., Безусяк А.И.

Институт биохимии им.А.В.Палладина НАН Украины

В основе механизма развития остеопороза лежит нарушение равновесия между активностью остеобластов и остеокластов в процессах ремодулирования костной ткани, вследствие чего происходит нарушение остеобластической активности, контролирующей образование новой костной ткани и обменных процессов в ней.

Одной из основных причин нарушения минерального обмена в костной ткани при данной патологии является отрицательный баланс кальция в организме, вследствие снижения его биодоступности. Так как активные метаболиты витамина D_3 регулируют пролиферацию и дифференциацию клеток костной ткани, синтез специфических белков, ферментов, липидный и минеральный обмены в этой ткани, их недостаток в организме или нарушение обмена являются одной из причин развития остеопороза. В настоящее время для лечения остеопороза применяют достаточно большие дозы кальция. Однако ряд исследователей (Kolata G. и др.) считают, что «кальциевый бум» не в состоянии решить эту проблему, так как важнейшим фактором лечения данного заболевания является сбалансированность витамина D_3 и необходимых минеральных компонентов. С целью подбора оптимального соотношения кальция и витамина D3 в препаратах нами были проведены экспериментальные исследования по влиянию различных концентраций кальция на его обмен в организме. Оказалось, что при введении 40 мг кальция на 100 г массы тела наблюдается 40 % снижение его уровня в сыворотке крови крыс. Причем процент снижения содержания кальция в сыворотке крови уменьшался пропорционально уменьшению его вводимой дозы. Положительный баланс кальция отмечался только при дополнительном введении витамина D_3 и кальция. Одной из причин адаптации всасывания кальция к его вводимому уровню является снижение концентраций $1,25(OH)_2D_3$, $24,25(OH)_2D_3$ и развитие вторичного гиперпаратиреоза, так как $1,25(OH)_2D_3$ регулирует активный транспорт ионов кальция в цитоплазме энтероцитов от апикальной к базолатеральной мембране, а $24,25(OH)_2D_3$ необходим для минерализации костной ткани. Рентгеноструктурный анализ показал нарушения организации эпифизарного хряща, процессов хондрогенеза, эндохондриального окостенения, практически полное отсутствие зон пролиферации, снижение толщины диафиза и компактного слоя костной ткани. Учитывая вышеизложенное, нами предложен препарат для лечения остеопороза, в состав которого входят: витамин D_3 в виде белкового комплекса, что значительно увеличивает его стабильность без применения стабилизаторов и повышает биологическую эффективность, кальций и фосфор в оптимальном соотношении, что предупреждает образование слаборастворимых фосфатов кальция в кишечнике. Фосфор активирует синтез $1,25(OH)_2D_3$, улучшает обмен веществ и биоэнергетику клеток. В состав препарата входят цинк, медь, марганец, которые также регулируют процесс костеобразования.

ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ КЛЕТОК ЭМБРИОНАЛЬНОЙ ПЕЧЕНИ ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АЛЛОМИЕЛОТРАНСПЛАНТАТА

Гольцев А.Н., Дубрава Т.Г., Луценко Е.Д., Останкова Л.В.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины.
e-mail: cryo@online.kharkov.ua

Экспериментальные и клинические данные свидетельствуют о том, что после криоконсервирования миелотрансплантата наряду со снижением иммунореактивности снижается и его гемопоэтическая активность.

Известно, что клетки эмбриональной печени (КЭП) содержат широкий спектр цитокинов с иммуно- и гематотропной активностью. Кроме того, в эмбриональной печени присутствует фактор, подобный выделенному из костного мозга (КМ), обладающий двойной активностью; способен стимулировать колониеобразование кроветворных предшественников и снижать развитие иммунного конфликта.

Целью работы было экспериментальное обоснование возможности применения КЭП для стимуляции гемопоэтической активности криоконсервированного аллогенного КМ и повышения его защитного потенциала.

В работе были использованы мыши Balb/c, СВА 12-14 - недельного возраста, массой 18-20 г. ; КЭП 12-13 суточных сроков гестации вводили внутривенно в дозе 4х104 - 2х 105 клеток/мышь. Коллониеобразование в селезенке облученных мышей линии Balb/c оценивали на 8- и 12-е сутки после трансплантации КМ мышей СВА.

Было отмечено, что в отношении аллогенного миелотрансплантата КЭП, не обладая высокой колониеобразующей активностью, тем не менее оказывали выраженное регуляторное влияние на гемопоэтическую функцию трансплантируемого КМ. Отмечалась значительная стимуляция колониеобразующей активности миелотрансплантата, причем ее выраженность имела дозозависимый эффект. С увеличением вводимых КЭП количество формируемых в селезенке колоний увеличивалось. КЭП, введенные в дозах, не обладающих высокой колониеобразующей активностью в селезенке, стимулирует и медуллярное кроветворение. Степень повышения выживаемости облученных реципиентов КМ под действием КЭП коррелирует со степенью стимуляции медуллярного кроветворения.

Таким образом, выполненные исследования позволяют сделать вывод о целесообразности применения КЭП в клинике как сотрансплантата с аллогенным КМ для стимуляции его гемопоэтической активности и повышения защитного потенциала

POSSIBILITY OF EMBRYONIC LIVER CELLS APPLICATION FOR THE STIMULATION OF ALLOMYELOTRANSPLANT HEMOPOIETIC ACTIVITY

Goltsev A.N., Dubrava T.G., Lutsenko E.D., Ostankova L.V.

Institute for Problems of Cryobiology and cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov
e-mail: cryo@online.kharkov.ua

Experimental and clinical data testify to the fact that after a myelotransplant cryopreservation together with the decrease of immune reactivity, its hemopoietic activity has also decreased.

It is known that embryonic liver cells (ELC) comprise a wide spectrum of cytokines with immune and hematotropic activity. In addition, the factor, similar to those, isolated from bone marrow (BM), possessing twice activity, capable to stimulate colony forming hemopoietic precursors and to reduce hemopoietic immune conflict, is present in embryonic liver.

Experimental substantiation of the possibility to apply ELC for stimulating hemopoietic activity of cryopreserved allogeneic BM and an increase of its protective potential was the aim of given work.

Balb/c, CBA mice with the mass of 18-20g aged from 12-14 weeks were used in the work; ELC of 12-13 days of gestation were injected intravenously in the dose of 4x104 – 2x105 cells/mouse. Colony forming in the spleen of irradiated Balb/c mice was estimated to the 8th – 12th day after BM transplantation from CBA mice.

It was noted that as for allogeneic myelotransplant, ELC, not possessing a high colony forming activity, nevertheless showed a manifested regulatory effect on the hemopoietic function of transplanted BM.

Significant stimulation of the myelotransplant colony forming activity was noted, moreover its manifestation showed a dose-dependent effect. With the rise of injected ELC the number of formed in a spleen colonies increased. ELC, injected in the doses, not possessing a high colony forming activity in spleen, also stimulated a medullar hemopoiesis. The value of survival increase in irradiated recipients of BM under the effect of ELC correlates with the degree of a medullar hemopoiesis stimulation.

Thus, carried-out investigations allowed to conclude an expediency of ELC application in clinics as a co-transplant with allogeneic BM for the stimulation of its hemopoietic activity and an increase of protective potential.

АНТИАТЕРОГЕННЫЙ ЭФФЕКТ ПРОИЗВОДНОГО ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ ФЕНСУКЦИНАЛА У КРОЛИКОВ С ДИТИЗОНОВЫМ ДИАБЕТОМ

Горбенко Н.И., Полторак В.В., Гладких А.И., Иванова О.В.

Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я.Данилевского АМН Украины,
e-mail : gorbenko@email.itl.net.ua

Повышенный риск развития сердечно-сосудистой патологии у больных сахарным диабетом может быть частично обусловлен нарушениями липидного обмена и оксидативным стрессом. Следует отметить, что между концентрацией липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) и частотой коронарного кардиосклероза существует обратная зависимость. Предполагают, что антиатерогенный эффект ЛПВП связан не только с их способностью удалять холестерин из периферических тканей, но также с превентивным действием в отношении окисления липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) в артериальной стенке, благодаря наличию ЛПВП-связанного фермента параоксоназы. Ранее нами было показано, что оригинальное производное янтарной кислоты - фенсукцинал, который в настоящее время проходит клинические испытания, проявляет выраженный антиоксидантный эффект и тормозит развитие диабетической нефропатии. Целью работы было исследование влияния фенсукцинала на липидный профиль и активность антиоксидантного фермента - параоксонази, в сыворотке крови кроликов с дитизоновим диабетом. Дитизон вводили однократно внутривенно в дозе 35 мг/кг. Фенсукцинал применяли перорально (50 мг/кг) ежедневно на протяжении трех месяцев. Группы интактных (К) и контрольных диабетических (Д) животных получали аналогичный объем растворителя. Гликемию оценивали глюкозооксидазным методом, а уровень инсулина ? с помощью радиоиммунологических наборов "Беларис". Концентрацию общего холестерина, холестерина -ЛПВП и триглицеридов в сыворотке крови определяли ферментативным методом с помощью стандартных наборов фирмы "Boeringer-Mannheim". Активность параоксоназы оценивали спектрофотометрически, используя в качестве субстрата параоксон. Интенсивность перекисного окисления липидов характеризовали по содержанию диеновых конъюгатов в сыворотке крови. В результате проведенного исследования было установлено, что при использовании фенсукцинала существенно уменьшается степень базальной гипергликемии (7,7±0,2 vs Д: 15,6±1,7; К: 4,2±0,2 ммоль/л, $P<0,01$) и на 45 % ($P<0,02$) повышается базальный уровень инсулина по сравнению с диабетическим контролем. Применение фенсукцинала также приводило к

повышению уровня холестерина -ЛПВП (на 49 %), снижению триглицеридов на 27% и холестерина-ЛПНП почти на 28 % ($P<0,02$) . Подтверждением положительного влияния фенсукцинала на липидный обмен было снижение концентрации неэстерифицированных жирных кислот (на 45 %) и общего холестерина (на 15%, $P<0,05$). Кроме того, введение фенсукцинала сопровождалось существенным уменьшением концентрации липидных гидроперекисей ($P<0,05$) и повышением активности параоксоназы (59,0±1,1 vs Д: 37,6±2,2; К: 81,0±2,1 Ед/л, $P<0,01$) по сравнению с диабетическим контролем.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о наличии антиатерогенного эффекта у фенсукцинала, который, возможно, обусловлен улучшением гликемического контроля и липидного профиля, а также повышением антиоксидантной защиты у экспериментальных животных, что обосновывает перспективность его применения с целью профилактики и ослабления диабетических макрососудистых осложнений .

ANTIATHEROGENIC EFFECT OF SUCCINATE DERIVATIVE PHENSUCCINAL IN RABBITS WITH DITHIZONE-INDUCED DIABETES

N. Gorbenko, V. Poltorak, A. Gladkich, and O.Ivanova

Institute of Endocrine Pathology Problems
e-mail : gorbenko@email.itl.net.ua

Increased risk of cardiovascular disease in diabetic patients may be partially related to abnormal lipid metabolism and oxidative damage. High-density lipoprotein (HDL) concentrations are inversely related to incidence of coronary

artery diseases (CAD) in humans. HDL can protect against CAD by preventing low-density lipoprotein (LDL) oxidation within artery wall or by inactivating LDL oxidation products through the actions of its associated enzyme,

paraoxonase (PON). The new succinate derivative Phensuccinal is a potent antioxidant, which is currently in clinical trials for the prevention of diabetic nephropathy.The aim of the study was to evaluate the impact of long-term treatment with Phensuccinal on the lipid profile and activity of HDL-associated antioxidant enzyme paraoxonase in diabetic rabbits.

Materials and methods: Male chinchilla rabbits were made diabetic by i.v.injection of dithizone (35mg/kg body weight). Control rabbits (C) were given vehicle alone. In a week after diabetes induction animals were randomised into two groups: one group was untreated to act as diabetic control (D) and other group received Phensuccinal, (50 mg/kg/day per os) for 3 months. Basal glucose levels were analysed by a glucose oxidase method in blood samples obtained from tail vein. Insulin levels were determined in plasma by a radioimmunological assay.Paraoxonase activity was measured in serum using paraoxon as substrate. Lipid peroxidation intensity was assessed by spectrophotometric determination of serum conjugated dienes levels. Serum lipid profile analysis included total cholesterol , LDL- cholesterol, HDL-cholesterol , and triglycerides enzymatic measurements.

Results: Administration of Phensuccinal decreased basal hyperglycaemia (7.7±0.2 vs D: 15.6±1.7; C: 4.2±0.2 mmol/l, $p<0.01$) and increased basal plasma insulin by 45 % ($p<0.02$) in comparison with diabetic controls. The treatment with Phensuccinal elevated HDL-cholesterol by 49 %, diminished LDL-cholesterol by 28% and triglycerides by 27 % compared to D-group (all $p<0.02$). Phensuccinal provided also reduction in total cholesterol by 15 % ($p<0.05$) and non-esterified fatty acids by 45 % ($p<0.02$) in comparison with diabetic controls. In addition, the use of Phensuccinal was associated with decrease in lipid hydroperoxides levels. Improvement of lipid profile in diabetic rabbits after Phensuccinal administration was accompanied by higher paraoxonase activity (59.0±1.1 vs D: 37.6±2.2; C: 81.0±2.1 U/l, $p<0.01$).

Conclusions: We suggest that Phensuccinal possesses antiatherogenic effect due to improvement of glycaemic control, lipid profile and enhancement of antioxidant defence in diabetic rabbits and may have implications in prevention of diabetic macrovascular complications.

ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КРИОКОНСЕРВИРОВАННОЙ ОВАРИАЛЬНОЙ ТКАНИ В АКУШЕРСКО-ГИНЕКОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Грищенко В.И., Чуб Н.Н., Демина Л.Г, Дахно Ф.В.,Чадаев В.Е.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины
e-mail: cryo@online.kharkov.ua

Согласно данным литературы, аллотрансплантация овариальной ткани применяется как эффективный метод лечения гипоменструального синдрома, аменореи, посткастрационнного и климактерического синдромов, а также привычных выкидышей.

Разработанный нами метод криоконсервирования овариальной ткани человека (АС № 10172251) под защитой криопротектора ПЭО-400 позволяет сохранять образцы при сверхнизких температурах длительное время. Было проведено более 200 имплантаций больным с различными акушерско-

гинекологическими патологиями и эндокринопатическими синдромами. В наших исследованиях аллотрансплантат криоконсервированной овариальной ткани использовали для комплексной подготовки пациентки в программе IVF, в результате чего была рождена здоровая девочка.

POSSIBILITY OF THE USAGE OF CRYOPRESERVED OVARIAN TISSUE

Gristhenko D.I., Tchoob N.N.,Demina L.G., Dahno F.V., Tchadaev V.E.

Institut of Problems of Cryobiology and Cryomedicine

According to the literature data, ovarian tissue allotransplantation has been applied as an efficient method for the treatment of hypomenstrual syndrome, amenorrhea, postcastrational and hypomenstrual syndromes, as well as spontaneous abortions.

Elaborated by us method for human ovarian tissue cryopreservation (Patent № 10172251) under the protection of PEO-400 allows to preserve the samples under supra-low temperatures for a long time.

More than 200 implantations to the patients with various obstetrical and gynecological pathologies and endocrinopathic syndromes have been accomplished.

In our investigation an allotransplant of cryopreserved ovarian tissue was used for the complex patient preparing in the IVF program, in the result a healthy girl was born.

МЕХАНИЗМЫ ВОЗБУЖДАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ФАКТОРА ПЕРЕНОСА НА ВИСЦЕРАЛЬНЫЕ ГЛАДКИЕ МЫШЦЫ

Давидовская Т.Л., Филиппов И.Б., Цымбалюк О.В., Шуба М.Ф.

Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко,
Институт физиологии им.А.А.Богомольца НАН Украины
tdavidov@biocc.univ.kiev.ua; phil@serv.biph.kiev.ua

Фактор переноса (ФП) – естественная низкомолекулярная субстанция олигорибонуклеотидной природы с молекулярной массой 3-6 кДа, которая продуцируется лимфоцитами-хелперами (CD4+) специфически чувствительных доноров. Известно, что ФП бывает эффективным при лечении различных врожденных и приобретенных патологических состояний, которые сопровождаются нарушениями функции иммунной системы (иммунодефициты, бактериальные, вирусные и грибковые инфекции, злокачественные опухоли и т.п.). Среди основных компонентов, которые входят в состав ФП, выделяют факторы, стимулирующие специфический клеточный иммунитет и усиливающие уже существующие в организме специфические иммунные реакции. Целью нашей работы было исследование влияния ФП на спонтанные и вызванные сокращения гладких мышц taenia coli морской свинки, вызванные деполяризацией плазматической мембраны ГМК и ацетилхолином. За основу был взят ФП к корпускулярному антигену Staphilococcus aureus Cowan-1, полученный от доноров, которые находились в состоянии гиперчувствительности замедленного типа к антигенам стафилококка. ФП использовали в концентрациях 10^{-6} - 10^{-3} мг/мл. Опыты проводили при температуре 37°C.

1. Показано, что ФП в концентрации 10^{-6} мг/мл на протяжении 20-30 мин действия постепенно увеличивал амплитуду и частоту одиночных спонтанных сокращений. Увеличение на порядок концентрации ФП сопровождалось дальнейшим ростом этих параметров сокращения. При этом возрастала также продолжительность спонтанных сокращений, которые на 20-й мин сливались в сплошной тетанус. Повышение концентрации ФП до 10^{-4} и 10^{-3} мг/мл вызвали дальнейшее увеличение амплитуды тонического сокращения.

2. ФП, в выше указанных концентрациях, изменял сокращения ГМ taenia coli, вызванные деполяризацией плазматической мембраны ГМК (гиперкалиевый раствор, [K+]o=90 мМоль) или ацетилхолином (10 мкМоль). Показано, что ФП дозазависимо увеличивал амплитуду фазного и тонического компонентов гиперкалиевого и ацетилхолинового сокращений. В первом случае более чувствительным к действию ФП был тонический компонент сокращения, тогда как во втором – оба компонента сокращения. Активация тонического компонента ацетилхолинового сокращения связана с деполяризацией плазматической мембраны ГМК и последующим входом ионов Ca^{2+} через

потенциалзависимые Ca^{2+} каналы L-типа в ГМК. В этом отношении данное сокращение, аналогичное за механизмом активации сокращение, которое вызвано гиперкалиевым раствором Кребса. Допускается, что в основе усиления этих сокращений под влиянием ФП, существует одинаковый механизм, а именно: увеличение времени открытого состояния Ca^{2+} каналов L-типа плазматической мембраны ГМК. Вследствие этого возрастает поступление в ГМК внеклеточных ионов Ca^{2+}, за счет которых и увеличивается активация сокращения ГМК. Следует добавить, что в присутствии ФП ацетилхолиновое сокращение, почти полностью, активируется по механизму электромеханического сопряжения.

3. Исходя из того, что ФП был получен к корпускулярному актигену St. aureus, составными компонентами которого являются активные субстанции: белок А, пептидогликан и тейхоевые кислоты. Последние, как считается, определяют патогенность St. aureus, которую связывают с их способностью индуцировать образование оксида азота в клетках инфицированного организма, снижая возбуждаемость последних. На основании этого было исследовано влияние ФП на сокращения ГМ taenia coli, вызванные аппликацией ацетилхолина в присутствии нитропрусида натрия (донора внеклеточного оксида азота, 100 мкМоль). В этих условиях не наблюдалось угнетения ацетилхолиновых сокращений, а наоборот, их амплитудные значения превышали таковые, когда сокращения были получены только в присутствии ФП.

Таким образом, наши исследования впервые показали, что ФП заметно потенцирует возбуждающие процессы в гладких мышцах, что будет способствовать более широкому применению фактора переноса в медицинской практике.

THE MECHANISMS OF EXCITING ACTION OF THE TRANSFER FACTOR ON VISCERAL SMCS.

Davidovskaja T.L., Philyppov I.B., Tsymbaluk O.V., Shuba M.F.

T*aras Shevchenco Kiev University, Bogomoletz Institute of Physiology*
tdavidov@biocc.univ.kiev.ua; phil@serv.biph.kiev.ua

The Transfer factor (TF) is a native low-weight oligonucleotide substance with the molecular weight of about 3-6 kDa. This substance is produced by helper-lymphocytes (CD4+) of specifically sensitive donors. It is known that TF can be effective in the treatment of different congenital and acquired diseases, which are generally accompanied by different malfunctions of immune system (immune deficiency, bacterial, virus and fungous infections, cancer etc.). There are some factors among of the basic components of TF, which can stimulate the specific cellular immunity and strengthen of already present specific immune reactions. The goal of our work was to investigate the influence of TF on the spontaneous and evoked by membrane depolarization or ACh contractions of smooth muscles from guinea-pig taenia coli. In our work we tested the TF to the corpuscular antigen of Staphylococcus aureus Cowan-1, subtracted from the donors, which had the delayed type of hypersensitivity to the antigens of staphylococcus. TF had been used at 10^{-6} to 10^{-3} mg/ml. All of the experiments have been done at 37 ^{o}C.

1.It was found that during 20-30 minutes of 10^{-6} mg/ml TF presence the amplitude and frequency of singe spontaneous contractions were increased. Further increase of TF concentration to 10-5 mg/ml produced more pronounced effect; the duration of spontaneous contractions also increased and led to tetanus formation at 20th minute of TF presence. The increase of TF concentration to 10^{-4} and 10^{-3} mg/ml evoked further potentiation of the amplitude of tonic contraction.

2.TF at above mentioned concentrations changed the contraction of smooth muscles from guinea pig taeina coli, which were evoked either by SMCs plasma membrane depolarization (hyperpotassium solution, [K+]o=90 mM) or acetylcholine (ACh ,10 mkM). It was found that FT increased in dose-dependent manner the amplitude of phase and tonic components of contraction evoked by either one or another agent. In case of hyperpotassium-evoked contraction the tonic component was more sensitive to the TF action, whereas in other case both components were affected. As it already known ACh-evoked tonic contraction is due to plasma membrane depolarization and thus Ca2+ influx via potential-operated L-type Ca^{2+} channels of SMCs. By this mechanism this contraction resembles the contraction evoked by hyperpotassium solution. We suggest the existence of the same mechanism of facilitating action of TF on these contractions – increase of the open state of L-type Ca^{2+} channels in the plasma membrane of SMCs. This in one's turn increases the influx of external Ca2+ to the cytosol of SMCs thus increasing contraction of smooth muscles. It is worthy to add that in TF presence ACh contracts smooth muscles by the mechanism of electric-mechanical coupling.

3.TF to corpuscular antigen of St. aureus contains peptide A, Peptidoglycan and Lipoteichoik acid. The latter as believed define the pathogenity of St. aureus by their ability to induce nitric oxide formation in the infected cells leading to decrease of their excitability. Therefore we investigated the effect of FT on ACh-evoked contractions of smooth muscles from guinea pig taenia coli in presence of sodium nitroprusside 100 mkM, which is known as an exogenous NO donor. Under such conditions we didn't observe the inhibition of ACh-evoked contractions but in contrary the amplitude of contractions was bigger comparing to those registered only in presence of TF.

Thus our data revealed that TF significantly facilitates exciting processes in smooth muscles and this could be

possibly promote the usage of this agent in medic treatment.

ФАКТОР ПЕРЕНОСА МОДУЛИРУЕТ ТОРМОЗНОЕ ДЕЙСТВИЕ НЕЙРОМЕДИАТОРОВ В ВИСЦЕРАЛЬНЫХ ГЛАДКИХ МЫШЦАХ.

Давидовская Т.Л., Филиппов И.Б., Цымбалюк О.В., Шуба М.Ф.

Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко,
Институт физиологии им.А.А.Богомольца НАН Украины
phil@serv.biph.kiev.ua; tdavidov@biocc.univ.kiev.ua

Фактор переноса (ФП) - это иммунномодулятор естественного происхождения, выделенный из лейкоцитов животных, которые имеют высокий уровень иммунной реактивности к определенным антигенам. Сегодня во многих странах этот препарат успешно применяется как антигенспецифический иммуностимулятор при лечении широкого спектра бактериальных, вирусных, инвазивних и онкологических заболеваний. ФП антигенспецифический. Он вырабатывается сенсибилизированными Т-хелперами при наличии антигена. В состав ФП входят нуклеотиды (пурины и пиримидины) и 6-8 аминокислот. ФП не является видоспецифическим. При введении в интактный организм животного или человека ФП вызовет антигенспецифические реакции гиперчувствительности замедленного типа и клеточный иммунитет. ФП получали с диализованого без клеточного экстракта лейкоцитов большого рогатого скота, сенсибилизированных к корпускулярному антигену, одного из патогенных, штаммов Staphylococcus aureus Cowan-1. Целью данного исследования было выяснить влияние ФП на процессы угнетения возбуждения и сокращение гладких мышц желудочно-кишечного тракта морской свинки. ФП использовали в концентрациях 10^{-6} - 10^{-3} мг/мл. Опыты проводили при температуре 37°C.

Основными нейромедиаторами, которые вызывают синаптическое торможение висцеральных гладких мышц являются, соответственно, АТФ, оксид азота и норадреналин.

В нормальных условиях активация экзогенным АТФ P_{2Y}-рецепторов, вызывает гиперполяризацию ГМК, которая есть причиной угнетения возбуждения и сокращения висцеральных гладких мышц. ФП дозазависимо, эффективно и обратимо угнетал тормозное действие АТФ на ГМК. В этих условиях АТФ вызвал в ГМК возбуждение (деполяризацию) вместо торможения (гиперполяризацию) и соответственно – сокращение вместо расслабления. В присутствия ФП (как и в присутствия апамина – нейротоксина пчелиного яда) АТР вызовет в ГМК желудочно-кишечного тракта возбуждение вместо торможения. На основе этого факта возникла потребность исследовать действие ФП на генерацию неадренергических нехолинергических (НАНХ-) тормозящих синаптических потенциалов в висцеральных гладких мышцах.

В нормальных условиях тормозящий синаптический потенциал, вызванный одиночным интрамуральным раздражением, состоит преимущественно из двух компонентов – начального "быстрого" и последующего "медленного". Как правило, амплитуда первого компонента всегда значительно больше, чем амплитуда второго. Двухкомпонентный тормозной синаптический потенциал состоит из двух тормозных синаптических потенциалов которые обусловленны действием разных нейромедиаторов – АТФ и NO. Добавление к раствору Кребса ФП в максимально эффективной концентрации (10^{-3} мг/мл) приводило к блокированию "быстрого" компонента и более выразительного проявления "медленного" компонента тормозного синаптического потенциала. Следующее добавление к раствору Кребса с ФП блокиратора синтеза NO N^{G}-нитро-L-аргинина (10^{-3} Моль) вызывало блокирование "медленного" компонента. Итак, ФП эффективно и обратимо угнетает "быстрый" компонент НАНХ-тормозящего синаптического потенциала, обусловленного АТФ. Этим ФП отличается от апамина, который полностью блокирует тормозные синаптические потенциалы вдоль всего желудочно-кишечного тракта морской свинки, кроме дистальных отделов толстого кишечника.

Также, заслуживает внимание и тот факт, что ФП не угнетает тормозное действие экзогенного норадреналина, хотя конечный эффект торможения гладких мышц АТФ-ом и норадреналином схожий: активация апаминчувствительных Ca^{2+}-зависимых K^+ каналов малой проводимости мембраны гладкомышечных клеток.

Таким образом, ФП способен модифицировать тормозящее действие АТФ на гладкие мышцы кишечника, очевидно, за счет блокирования определенных внутриклеточных путей проведение сигнала от P_{2Y}- рецепторов до активации Ca^{2+}-зависимых K^+ каналов малой проводимости плазматической мембраны гладкомышечных клеток.

THE TRANSFER FACTOR IS MODULATING INHIBITORY ACTION OF NEUROMEDIATORS IN VISCERAL SMOOTH MUSCLES.

Davidovskaja T.L., Philyppov I.B., Tsymbaluk O.V., Shuba M.F.

Taras Shevchenco Kiev University, Bogomoletz Institute of Physiology
phil@serv.biph.kiev.ua; tdavidov@biocc.univ.kiev.ua

The Transfer factor (TF) – it is a natural immune modulator, which is subtracted from the leucocytes of animals with the high level of immune reactivity to specific antigens. At the present moment this preparation can be successfully used as an antigen-specific immune stimulator in a medical treatment of the wide spectrum of bacterial, virus, invasive and oncological diseases. TF is produced by sensibilized T-helpers at the presence of antigen. TF contains nucleotides (purines and pyrimidines) and 6-8 amino acids. TF is not specie specific. The injection of intact TF to the animal or human evokes antigen specific reactions of the delayed type of hypersensitivity and cellular immunity. TF was subtracted from the dialyzed cell extract of leucocytes of the horned cattle, which were sensibilized to the corpuscular antigen of pathogen culture Cowan-1 of Staphylococcus aureus. The main goal of present work was to investigate the effect of TF on the processes of excitation and contraction inhibition in smooth muscles from alimentary canal of guinea pig. TF have been used at 10^{-6} to 10^{-3} mg/ml. All of experiments were done at 37 ^oC.

The basic neuromediators responsible for synaptic inhibition of visceral smooth muscles are ATP, nitric oxide and noradrenaline.

Activation of P_{2Y}-receptors by exogenous ATP at normal conditions evokes the hyperpolarization of smooth muscle cells (SMCs) and thus inhibits the excitation and contraction of smooth muscles. FT effectively and reversibly eliminated the inhibitory action of ATP on SMCs in dose-dependent manner. Under these conditions ATP in contrary evoked the excitation (means depolarization) instead of inhibition (hyperpolarization) of SMCs and thus – contraction instead oh relaxation. This effect of TF is similar to the effect of an apamin – neurotoxin of bee venom, which also converts the effect of ATP on smooth muscles. Taking into account this fact we decided to study the effect of TF on the generation of non-adrenergic non-cholinergic (NANC) inhibitory synaptic potentials in visceral smooth muscle.

At normal conditions inhibitory synaptic potential, evoked by single intramural stimulation, mainly contains two components – first “fast” and second “slow”. Usually the amplitude of the first component is much bigger than the second. Both components are due to the action of different neuromediators – ATP and nitric oxide (NO). Addition of TF to the Krebs solution at maximally effective concentration (10^{-3} mg/ml) blocked “fast” component but facilitated “slow” component of inhibitory synaptic potential. Further addition to the Krebs solution of the blocker of NO synthesis N^G-nitro-L-arginine (10^{-3} M) in the presence of TF evoked inhibition of “slow” component. Thus FT effectively and reversibly eliminates the “fast” component of NANC inhibitory synaptic potential, stimulated by ATP. This set TF apart from apamin, which completely blocks all of inhibitory synaptic potentials along the whole alimentary canal of guinea pig, except of distal parts of colon.

Also it is worthy to note, that TF doesn’t block the inhibitory action of exogenous noradrenaline, despite that the final inhibitory effect of ATP or noradrenaline action on smooth muscles is similar – the activation of apamin sensitive small conductance $Ca2^+$-dependent K^+ channels in the membrane of SMCs.

Thus, TF can possibly modulate the inhibitory action of ATP on intestinal smooth muscles via blocking of some intracellular pathways during the transmission of the stimulus from the P_{2Y}-receptor to the small conductance Ca^{2+}-dependent K^+ channels in the plasma membrane of smooth muscle cells.

ВПЛИВ NO/NO_2^- ТА H_2O_2 НА ТРАНСПОРТ H^+ КРІЗЬ ПЛАЗМАЛЕМУ МІОМЕТРІЯ

Данилович Ю. В., Тугай В. А.

Інститут біохімії ім О. В. Палладіна НАНУ
e-mail: kinef@biochem.kiev.ua

Досліджували вплив NO/NO_2^- та H_2O_2 на пасивний вихід H^+ з "правильно" орієнтованих везикул плазмалеми міометрія. Везикули отримували методом диференційного центрифугування у градієнті густини сахарози. Зміни pH внутрішньовезикулярного середовища визначали за накопиченням ΔpH-індикатора ^{14}C-метиламіну. Зменшення питомого накопичення цієї сполуки у мембранній фракції свідчить про посилення трансмембранного виходу H^+ з везикул. Накопичення Ca^{2+} у везикули реєстрували по переміщенню $^{45}Ca^{2+}$.

За допомогою електронної мікроскопії, визначення осмотичної активності, питомої Na^+, K^+-АТРазної активності та зв'язування атропіна доведені замкненість і "правильна" орієнтація отриманих везикул (цитоплазматичним боком у внутрішньовезикулярний простір). Створювали трансмембранні ΔpH та ΔpCa^{2+}, напрямок градієнтів відповідає ситуації in vivo.

Ca^{2+}-незалежний вихід H^+ з везикул блокується Cd^{2+}, Zn^{2+} (1 мМ) та тетраетиламонієм (50 мМ), посилюється протонофором карбонілціанідом-m-хлорфенілгідразоном (0,05%) і активується модельною деполяризацією (-20-+10 мВ) та зв'язуванням ацетилхоліна (10^{-12}-10^{-4} М).

Дія NO_2^- (1 мкМ) на ΔpH-індукований транспорт Ca_{2+} в везикули не спостерігається. Водночас, пасивна проникність плазмалеми для протонів значно підвищується порівняно з контролем за дії 10 мкМ нітропрусиду натрію (донатор NO) та 1 мкМ нітриту натрію, про що свідчить зниження накопичення 14С-метиламіну в везикулах. Збільшення виходу H+ з везикул спостерігається і під впливом 1 мкМ H_2O_2. Ми припускаємо, що в дослідах in vivo цими результатами можна пояснити зниження надходження Ca^{2+} у клітину внаслідок посилення виходу з неї H^+ по H^+-каналам і відповідної гіперполяризації плазмалеми.

Дія NO/NO_2^- на пасивну проникліть плазмалеми для протонів істотно не залежить від окислення SH-груп плазмалеми, оскільки 0,1 мМ дитіотриітол не впливає на цей процес. Водночас, вплив 1 мМ H_2O_2 на пасивну дисипацію ΔpH за присутності дитіотриітолу не спостерігається. Припускаємо, що H_2O_2 окислює SH-групи мембранних структур, через які здійснюється пасивний транспорт H^+ і це зумовлює прискорення виходу протонів з везикул. З огляду на це, мембранні SH-групи, які несуть значний частковий позитивний заряд, знижують швидкість переміщення H^+ крізь плазмалему, а їхнє окислення з утворенням дисульфідних зв'язків прискорює її.

СПЕКТР АНТИВИРУСНОЙ АКТИВНОСТИ 6-АЗАЦИТИДИНА, ПЕРСПЕКТИВНОГО ДЛЯ СОЗДАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Дяченко Н.С., Алексеева И.В.*, Носач Л.Н., Шаламай А.С.*, Рыбалко С.Л.**, Пальчиковская Л.И.*, Нестерова Н.В., Повница О. Ю., Жовноватая В.Л., Загородняя С.Д. Сухинин В.П.***, Зарубаев В.Г.***, Лозицкий В.П.****, Федчук А.С.****

*Ин-т микробиол. и вирусол. НАНУ; *Ин-т молек. Биол. и генетики НАНУ; **Ин-т эпидемиол. и инф. б-ней АМНУ; ***Ин-т гриппа РАН; ****Ин-т особо опасных инфекций МЗ Украины.*
e-mail: dyachenko@serv.imv.kiev.ua

Обоснование и цель. Известно, что модифицированные нуклеозиды широко используются для создания антивирусных лечебных препаратов. 6-Азацитидин (2-β-D-ribofuranosyl-5-amino-1,2,4-triazin-3(2H)-on; 6-азаЦ) является оригинальным структурным аналогом цитидина [1,2].

Целью исследования было изучение антивирусной активности 6-азаЦ на различных моделях.

Модели и методы: Были исследованы следующие вирусные модели: 1.Культура клеток Нер-2, инфицированная аденовирусами (Ад) 1, 2, 5 типов и вирусом герпеса простого 1 типа (ВПГ-1). 2. Культура В-лимфобластоидных клеток Raji, инфицированная вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ). 3. Новорожденные сирийские хомячки, инфицированные подкожно 0,1 мл ($2x10^6$ ВОЕ) Ад5. 6-АзаЦ (50 мг/кг) вводили подкожно 1 раз в день в течение 3 дней после инфицирования. 4. Мышей инфицировали ВПГ-1 внутрицеребрально. 6-АзаЦ вводили в разных дозах внутримышечно за 24 ч. до и после инфицирования (профилактическая и лечебная схемы). 5. Мышей инфицировали интраназально вирусом

гриппа A/PR/8/34 (HINI), 6-АзаЦ закапывали в нос в дозе 25 мг/кг в день в течение 5 дней, начиная за сутки до инфицирования.

Ингибирование репродукции Ад1, 2, 5 и ВГП-1 6-азацитидином определяли по снижению числа (процента) инфицированных клеток с вирусспецифическими включениями в ядрах, которые выявляли с помощью люминесцентной микроскопии. Ингибирующий эффект 6-азаЦ на репродукцию ВЭБ определяли по снижению активности вирусиндуцированной тимидинкиназы и количества вирусных белков, выявляемых ИФА. Для определения антивирусного действия 6-азаЦ на моделях in vivo использовали соответствующие вирусологические методы и определяли общепринятые критерии защиты.

Результаты. 6-АзаЦ в широком пределе нетоксических концентраций (0,5-125 μг/мл) ингибирует репродукцию Ад 1. 2, 5 и ВПГ-1 в культуре клеток Нер-2. Химиотерапевтический индекс 6-азаЦ был 62-125 соответственно для Ад1, Ад2 и 250 для Ад5 и ВПГ-1. 6-АзаЦ в концентрации 60 мг/мл снижает на 70% активность тимидинкиназы и в 2 раза образование вирусных белков в клетках, инфицированных ВЭБ.

Введение 6-азаЦ инфицированным Ад новорожденным сирийским хомячкам сокращает время обнаружения вируса в органах и уменьшает титры инфекционного вируса на 3-й день после инфицирования (в печени - 2,7 и 4,1; сердце - 0 и 3,2; почках - 0 и 2,4 lg ТЦD50 в присутствии и отсутствии 6-азаЦ, соответственно). 6-АзаЦ эффективен на модели герпетического менингоэнцефалита у мышей. Он более эффективен, нежели референс- препарат ацикловир ("KRKA", Словения), в случае их применения по профилактической (1 мг/кг) или лечебной (0,5 мг/кг) схемам.

Интраназальные инсталяции 6-азаЦ уменьшают летальность при экспериментальной гриппозной инфекции и снижают инфекционный титр (на 1,0 $lgID_{50}$ и более).

Закончено доклиническое изучение субстанции 6-азаЦ и начаты доклинические исследования лекарственной инъекционной формы. Показано, что она не уступает по активности субстанции.

Заключение. 6-АзаЦ имеет широкий и уникальный спектр антивирусной активности, он перспективен для создания лекарственного препарата.

Эти исследования имели финансовую поддержку Министерства образования и науки Украины, грант № 2/1123-97.

Ссылки.

1 Alexeeva I., Dyachenko N., Nosach L., и др. 6-Azacytidine –compounds with wide spectrum of antiviral activity. Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids,2001,20, 1147-1152.

Алексеева И., Пальчиковская Л. Метод получения 6-азацитидина-2-β-Д-рибофуранозила 5-амино-1,2,4-триазин-3(2H) она. Пат.Украины № 32901A, CO7A 19/12, Опубл.15.12.2001.

THE SPECTRUM OF ANTIVIRAL ACTIVITY OF 6-AZACYTIDINE, WHICH HAVE THE PROSPECT FOR DRUG DEVELOPMENT

Dyachenko N., Alexeeva I..*, Nosach L., Shalamai A.*, Rybalko S.**, Palchikovskaya L .*, Nesterova N., Povnitsa O., Zhovnovataya V., Zagorodnaya S., Suhinin V.***, Zarubaev V.***, Lozitsky V.****, Fedchuk A.****

*Inst. Microbiol. & Virol. NASU; *Inst. Molec. Biol. & Genet. NASU; ** Inst. of Epidemiol. & Infect. Dis.; ***Inst. Influence RAS; ****Ukrainian Mechnikov Res. Anti-Plague Inst., Odessa*
e-mail: dyachenko@serv.imv.kiev.ua

Background and objective. Modified nucleosides have proven to be the useful substances for antiviral drug design. 6-Azacytidine (2-β-D-ribofuranosyl-5-amino-1,2,4-triazin-3(2H)-on; 6-azaC) is an original structural cytidine analogue [1,2].

The objective of the present investigation is to study 6-azaC antiviral activity on different in vitro and in vivo viral models.

Models and methods. The studied models of viral infections were the following: 1. Cell cultures (line Hep-2) infected by adenoviruses (Ad) type 1,2,5 and herpes simplex virus type 1 (HSV-1). 2. Line of lymphoblastoid B-cells Raji infected by Epstein-Barr virus from family Herpesviridae. 3. Newborn Syrian hamster infected subcutaneously with 0,1 ml (2x106 inclusion-forming units) of Ad 5. 6-AzaC (50 mg/kg) was applied subcutaneously once a day for 3 days after infections. 4. Mice infected intracerebrally with HSV1. 6-AzaC in various doses injected intramuscularly in 24 hrs before and after infections (preventive and therapeutic

schemes). 5. Mice infected intranasal with influenza virus A/PR/8/34(H1N1). 6-AzaC was instillated intranasal in dose 25 mg/kg per day during 5 days beginning from 24 hours before infection.

An inhibition of reproduction of Ad 1,2,5 and HSV-1 in cell culture by 6-azaC was determined by reduction of number (percent) of infected cells with virus-specific inclusions in nuclei, which were revealed by luminescent microscopy. Inhibitory effect of 6-azaC on reproduction of EBV was determined by decrease of activity of virusinduced thymidine kinase and quantity of virus protein with ELISA. For definition of antiviral action 6-azaC on animal models used appropriate virological methods and determined the standard criteria of defense (multiple of protection and index of efficiency).

Results. 6-AzaC in a wide range of noncytotoxic concentration (0,5-125 μg/ml) inhibits the reproduction of Ad1,2,5 and HSV-1 in Hep-2 cell culture. The selectivity index of 6-azaC was 62-125 towards Ad1, Ad2 and 250 towards Ad5 and HSV-1.

6-AzaC in concentration 60 μg/ml was reduces on 70 % activity thymidine kinase and twice formation of virus proteins in cell, infected by EBV.

The application of 6-azaC to infected with Ad newborn Syrian hamsters resulted in the shortened time of the virus presence in organs and lowered the titer infectious virus on third day past infections (liver –2,7 and 4,1; heart –0 and 3,2; kidney – 0 and 2,4 lg. TCD_{50} in presence and absence of 6-azaC, respectively).

6-AzaC was effective on the model of herpetic meningoencephalitis in mice. It was more active than reference drug acyclovir ("KRKA", Slovenia) if preparations were used on preventive (1mg/kg) or therapeutic (0,5 mg/kg) schemes.

The intranasal instillation of 6-azaC decreases lethality during experimental influenza infections and titers of infectivity (on 1,0 Lg. ID_{50} and more).

The preclinical study of substance of 6-azaC has finished and preclnical research of drugs form for injection are carrying out. It have the same efficacy as substance.

The analytical - normative documentation on substance and drug form of 6-azaC is made.

Conclusions. 6-AzaC has a wide and an unique spectrum of antiviral activity. It is a prospective substance for drug development.

This investigation is supported by Ministry of education and Sciences of Ukraine, grant N2/1123-97.

References.

Alexeeva I., Dyachenko N., Nosach L., et al. 6-Azacytidine –compounds with wide spectrum of antiviral activity. Nucleocides, Nucleotides and Nucleic Acids,2001,20, 1147-1152.

Alexeeva I., Palchikovskaya L. The method preparation of 6-azacytidine-2-β-D-ribofuranosyl of 5-amino-1,2,4-triazin-3-(2H)-on. Pat.UA N32901A, CO7A 19/12. Pabl. 15.02.2001.

ИССЛЕДОВАНИЕ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ГЛАДКИХ МЫШЦ ХВОСТОВОЙ АРТЕРИИ КРЫС И ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ ПРИ ДЕЙСТВИИ ОКСИДА АЗОТА И ЕГО ДОНОРОВ

Зеленский С.Н., Легенький В. В., Соловьев А. И., Стефанов А. В.

ИФТ АМНУ
e-mail: zelensky@i.kiev.ua

Изучение механизмов активации сокращения и расслабления гладких мышц и миокарда под влиянием биологически активных веществ является актуальной задачей. Как известно, к веществам, активно влияющим на процесс расслабления, относится оксид азота и его различные доноры. Динамика процессов расслабления и сокращения связана непосредственно с динамикой внутриклеточной концентрации ионов кальция. Однако, в ряде случаев, эта корреляция нарушается. В связи с этим, в настоящей работе приведены результаты одновременных исследований сокращений гладких мышц и концентрации внутриклеточного кальция при действии оксида азота и его доноров: нитроглицерина и нитропрусида натрия.

Измерения выполнялись с использованием флуоресцентного кальциевого красителя Фура-2 на экспериментальной установке, созданной в ИФТ АМНУ. Объект исследований: кольца хвостовой артерии крыс-самцов линии Вистар с массой тела 200-250г. Кольца хвостовой артерии помещались в термостатированную камеру объемом 500 мкл с проточным промыванием рабочим раствором со скоростью 2мл/мин. Результаты измерений обрабатывались с использованием специально разработанной программы ввода и обработки данных. Цель работы: исследовать корреляцию динамики мышечных

сокращений и внутриклеточной концентрации ионов кальция, а также выяснить влияние оксида азота и его доноров на кальциевую чувствительность миофибрилл.

Экспериментально показана возможность цГМФ-независимого механизма расслабления гладких мышц. Для блокирования синтеза и накопления цГМФ использовался ингибитор LY83583. Активация гладких мышц осуществлялась раствором Кребса с добавлением фенилэфрина, а также раствором Кребса с повышенным содержанием ионов калия (70 мМ). Показано, что одновременное применение блокатора LY83583 растворимой формы гуанилатциклазы и дитиотреитола, предотвращающего реакцию оксида азота с тиолами, приводит к отсутствию реакции расслабления гладких мышц хвостовой артерии на оксид азота. Внутриклеточная концентрация ионов кальция в этих условиях изменяется незначительно.

Экспериментально показана возможность изменения кальциевой чувствительности гладкомышечных клеток под влиянием оксида азота. Получены сравнительные данные действия оксида азота и его доноров.

THE EFFECT OF NO AND IT'S DONORS ON CONTRACTILE ACTIVITY OF RAT TAIL ARTERY SMOOTH MUSCLES AND INTRACELLULAR CALCIUM LEVEL.

Zelensky S.N., Lehen'kiy V.V., Soloviev A.I., Stefanov A.V. ,
e-mail: zelensky@i.kiev.ua

The investigations of biological active substances effect on contractile activity and relaxation of smooth muscles and myocardiac muscles is an actual up-to-date problem. As it's known NO and its donors are one of the important substances. Dynamics of processes of contraction and relaxation usually occur due to intracellular calcium level [Ca2+]i. However, in some cases this correlation isn't observe. Therefore the results of simultaneously measurements of contractile activity of smooth muscles and [Ca2+]i is presented.

[Ca2+]i was measured using Fura-2 dye to evaluate the effects of smooth muscle force sensitivity to [Ca2+]i concentration affected by NO, nitroglycerine and sodium nitroprusside. Measurements were carried out in 500 μl tissue chamber having two quartz glass coverslips on its top and bottom which are free for UV light using Lumam microscope mercury lamp and special alternate 1 ms 340/380 nm UV modulator. The chamber was mounted on a sample temperature-controlled stage with a force transducer. The turned inside out rings of rat tail artery located in a tissue chamber with 2 ml/min flowing work solution during experiment. The tail samples of mail rat (200-250 g) were used. The measured signal registered by photomultiplier and force transducer were treated by special real-time apparatus and PC program.

It was shown a cGMP-independent mechanism of relaxation in smooth muscles. For inhibition of synthesis and accumulation of cyclic guanosine monophosphate (cGMP) we used an inhibitior 6-anilino-5,8-quinolinedione (LY83583). Contractile activities of smooth muscles was induced by exchanging of NaCl for KCl (high-K+ (70 mM) Krebs solution) and by adding phenylephrine in Krebs solution. It was shown that NO doesn't induce smooth muscles relaxation with the simultaneous presence in flowing solution the soluble guanylate cyclase inhibitior LY83583 and dithiotreitol which prevents reactions between NO and thiols in cells. In that case [Ca2+]i changed a little.

The opportunity of changing muscle cell sensitivity to [Ca2+]i induced by NO was experimentally shown. Comparative results of NO action and its donors were obtained.

ИЗМЕНЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ CA^{2+} В ТИМОЦИТАХ КРЫСЫ

Зима В. Л., Семёнов Ю. В., Мирошниченко Н. С.

Кафедра биофизики Киевского национального университета им. Тараса Шевченко
e-mail: zyma@biocc.univ.kiev.ua

Пуриновые агонисты (АТФ, АДФ, АМФ) или гиперкалиевые растворы активируют мембранные Ca^{2+}-каналы и вызывают изменения концентрации Ca^{2+} в цитоплазме тимоцитов. В настоящей работе изучена динамика цитозольного $[Ca^{2+}]_i$, вызванная действием гиперкалиевого раствора (100 мМ KCl). Кинетику изменения $[Ca^{2+}]_i$ в цитоплазме тимоцитов измеряли на микроспектрофлуориметре с использованием кальций чувствительного флуоресцентного зонда индо-1. Спектры флуоресценции индо-1 в суспензии тимоцитов регистрировали до и после 5 мин. действия гиперкалиевого раствора.

В эксперименте определяли двохволновой флуоресцентный параметр $R = I_{410}/I_{495}$, с помощью которого находили $[Ca^{2+}]_i$. Для тимоцитов в растворе Кребса с 5.9 мМ KCl базальный уровень $[Ca^{2+}]_i$ равнялся 81 нМ. В гиперкалиевом растворе (100 мМ KCl) концентрация Ca^{2+} быстро возрастала до 110 нМ, а затем медленно (на протяжении 15 мин) снижалась до базального уровня. Подобная динамика изменения $[Ca^{2+}]_i$, вызванная действием АТФ на тимоциты мыши, наблюдалась Росс и др. (1997). Такие изменения концентрации $[Ca^{2+}]_i$ могут активировать дифференциацию тимоцитов в интактном тимусе. Такого типа эксперименты на суспензии тимоцитов могут использоваться для изучения действия биологически активных веществ на внутриклеточные процессы.

CA^{2+} CONCENTRATION CHANGES IN RAT THYMOCYTES

V.L. Zyma, Yu.V. Semenov, M.S. Miroshnichenko

Department of Biophysics, Faculty of Biology, Kyiv National Shevchenko University,
e-mail: zyma@biocc.univ.kiev.ua

It is known that Ca^{2+}-concentration changes in the cytoplasm of thymocytes can be activated in response to application of the purine agonists (ATP, ADP, AMP) or high concentration of potassium (K^+). In this study we examined the dynamics of $[Ca^{2+}]_i$ elicited by high concentration of K^+ (100 mM KCl). The kinetics of Ca^{2+} changes in the cytoplasm of thymocytes was measured by using the fluorescent probe indo-1. The spectra measurements of indo-1 in the suspension of thymocytes were performed before and .5 min after the addition of high K. We have measured $[Ca^{2+}]_i$ in cells using the two-wave parameter $R=I_{410}/I_{495}$ found from the experimental spectra of indo-1. We have found that the value of the basal level $[Ca^{2+}]_i$ (normal Krebs solution; 5.9 mM KCl) was 81 nM. The concentration of Ca^{2+} rapidly increased to 110 nM, and then slowly declined (during 15 min) to the basal level in the presence of the high K^+. The similar dynamic of ATP-induced Ca^{2+}-changes in the mouse thymocytes observed by Ross et all (1997). These Ca^{2+}-concentration changes may drive thymocytes differentiation in the intact thymus.

ТРИТЕРПЕНОВЫЕ ГЛИКОЗИДЫ ИЗ HEDERA TAURICA CARR. ОБЛАДАЮТ АНТИФУНГАЛЬНЫМИ СВОЙСТВАМИ В ОТНОШЕНИИ ГРИБОВ РОДА CANDIDA

М.А.Кирсанова[1], Ю.Л.Криворутченко[1], В.И.Гришковец[2], Е.Г.Мельниченко[1], В.Я.Чирва[2]

[1]Крымский Медицинский Университет
[2]Таврический Национальный Университет

Предпосылки: Системный кандидоз потенциально угрожает жизни пациента и требует проведения терапии. Лекарственно-устойчивый кандидоз повсеместно представляет серьезную угрозу. Проблемой при лечении этой болезни является токсичность препаратов. Ввиду повышения частоты выявления кандидозов расширились поиски новых эффективных препаратов. Сообщение посвящено изучению антифунгальной активности новых тритерпеновых сапонинов из Hedera taurica carr.

Методы: Было изучено 9 индивидуальных сапонинов. С помощью метода разведений определяли их минимальные ингибирующие концентрации (МИК). Микроорганизмы выращивали в жидкой среде Сабуро. Исследования проводили на Candida albicans штамм CCM885 и 11 штаммах, полученных от больных, 4 клинических штаммах Candida tropicalis, 2 штаммах Candida krusei и 1 штамме Candida guillermondii.

Результаты: 4 из 9 сапонинов (Sx1, Sx2, Sx3 и Ax2) обладали антифунгальной активностью в отношении C.albicans и C. tropicalis. МИК Sx1, Sx2 и Sx3 составляли 150 мкг/мл. У Ax2,- 600-1200 мкг/мл. Сапонин Ax1 проявлял активность только в отношении C.albicans (МИК 300-600 мкг/мл). Сапонин Sx1 оказался самым эффективным. C.albicans CCM885 и ее 6 клинических изолятов (МИК 150 мкг/мл), C. tropicalis (2 штамма, МИК 150 мкг/мл) и C.krusei (2 штамма, МИК 300 мкг/мл) были чувствительны к этому гликозиду. C.guillermondii оказалась к нему не чувствительной.

Выводы: Тритерпеновые гликозиды Sx1, Sx2, Sx3 и Ax2 из Hedera taurica carr. in vitro обладают противогрибковыми свойствами в отношении Candida spp.. Наиболее активен сапонин Sx1. Его можно рассматривать как потенциальное антифунгальное средство.

TRITERPENE GLYCOSIDES FROM HEDERA TAURICA CARR. POSSESS ANTIFUNGAL PROPERTIES TOWARD CANDIDA SPP.

M.A.Kirsanova[1], Y.L.Krivorutchenko[1], V.I.Grishkovets[2], E.G.Melnichenko[1], V.Ya.Chirva[2]

[1]*Crimean Medical University*
[2]*Taurican National University*

Background: Systemic Candida infection is potentially life threatening and require therapy. Drug-resistant candidiasis has become a serious concern world-wide. Moreover toxicity is a real problem in the treatment of this disease. With the increase in frequency of Candida infection, the search for additional effective agents is expanded. This report is devoted to study of antifungal activity of new triterpene saponins from Hedera taurica carr..

Methods: Nine individual saponins were investigated. Their minimal inhibitory concentration (MIC) determinations were based on a dilution assay. Test organisms were grown in liquid Sabouraud`s medium. The organisms tested were Candida albicans CCM885 and 11 strains isolated from medical specimens, Candida tropicalis (4 strains), Candida krusei (2 strains) and Candida guillermondii (1 strain).

Results: 4 from 9 saponins (Sx1, Sx2, Sx3 and Ax2) were antifungal toward C.albicans and C. tropicalis. MIC of Sx1, Sx2 and Sx3 were 150 μg/ml. The Ax2 MIC were 600-1200 μg/ml. Saponin Ax1 was antifungal only toward C.albicans (MIC 300-600 μg/ml). Saponin Sx1 was shown to be the most effective derivative. C.albicans CCM885 and 6 clinically isolated strains (MIC 150 μg/ml), C. tropicalis (2 strains, MIC 150 μg/ml) and C. krusei (2 strains, MIC 300 μg/ml) were sensitive to this glycoside. C. guillermondii was shown to be sensitiveless.

Conclusion: Triterpene glycosides Sx1, Sx2, Sx3 and Ax2 derived from Hedera taurica carr. in vitro possess antifungal properties toward Candida spp.. The most effective derivative is Sx1. It may be considered as a prospective antifungal drug.

НОВЫЙ ПРЕПАРАТ ДЕТОКСИЦИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ НА ОСНОВЕ МИКОМЕЛАНИНА ИЗ БИОМАССЫ ГРИБА Cladosporium Cladosporioides

В.Н.Коваленко, М.И.Борщевская, Г.А.Сайфетдинова

Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины
ОАО "Фармак"
e-mail: farmak@cki.ipri.kiev.ua

Биологическая активность меланинов обусловлена особенностями молекулярной структуры, что позволяет рассматривать их в качестве ловушек свободных радикалов, образующихся в организме под действием различных факторов физической и химической природы. Учитывая сложную экологическую обстановку, возрастание случаев отравления техногенными ядами, а, следовательно, актуальность разработки современных лечебно-профилактических средств детоксикацирующего действия, ОАО «Фармак» на основе биотехнологического синтеза разработан неселективный энтеросорбент, биомелан, где в качестве субстанции использован меланин – продуцент Cladosporium cladosporioides. В Институте фармакологии и токсикологии АМН Украины проведены экспериментальные исследования его детоксицирующих свойств при лекарственном отравлении (парацетамол), действии гепатотоксина (тетрахлорметан), алкилирующего агента (мустарген) и сульфата кадмия. В условиях острого отравления тетрахлорметаном, вызванного подкожным вводением 50%-го масляного раствора CCl_4 в дозе 8 мл/кг массы тела, применение биомелана внутрижелудочно в профилактическом режиме в течение 10 дней в дозе 10 мг/кг массы тела способствовало уменьшению степени гепатоцитолиза и холестаза у животных. Кроме этого у него выявлены высокие антиоксидантные свойства (снижение содержания супероксиданиона на 50 % и гидроперекисей на 30 %, предупреждение повышения уровня диеновых коньюгатов и индуцированного образования ТБК-продуктов, увеличение количества SH-групп белков по сравнению с данными показателями в печени животных, которым исследуемый препарат не вводился). Активация процессов свободнорадикального окисления при отравлении CCl4 сопровождалась значительным снижением содержания цитохромов Р-450 и b_5 и активности ферментов дыхательной цепи митохондрий в печени. Введение биомелана предупреждало развитие указанных нарушений.

Аналогичные данные получены на модели хронического повреждения печени CCl_4, который вводили внутрижелудочно в течение 30 дней по 2 мл/к г массы тела в виде 20% масляного раствора 3 раза в неделю и токсическом поражении печени парацетамолом в дозе1/2 LD_{50} в течение 2-х дней. В первом случае биомелан вводили курсами в течение первой и последней декады отравления в дозе 10 мг/кг массы тела, а во втором - на протяжении 10 дней до введения парацетамола и одновременно с ним. Показано, что исследуемый препарат способствовал улучшению конъюгирующей и транспортной функции печени, уменьшению холестатических проявлений, предупреждал метаболические, биоэнергетические нарушения и истощение антиоксидантной системы организма животных. Лечебно-профилактическое применение препарата биомелан на фоне отравления крыс сульфатом кадмия (внутрибрюшинно однократно в дозе 2,5 мг/кг массы) в значительной степени предотвращало гепато- и нефро-, а также некоторые гонадотоксические эффекты последнего. При изучении детоксицирующих свойств биомелана в отношении соединений алкилирующего действия в качестве модельного вещества использован метил-бис-(β-хлорэтил-амина) гидрохлорида, который вводился крысам однократно внутривенно в дозе 0,4 мг/кг. Выявлена его способность биомелана почти на 40 % повышать количество лейкоцитов крови относительно данного показателя у не леченных крыс, значительно нормализовать уровень белка в печени и содержание SH-групп белков, являющихся мишенью действия алкилирующих агентов. Токсикологические исследования и изучение возможных отдаленных эффектов в эксперименте свидетельствуют о его безвредности, что подтверждено результатами I фазы клинических испытаний. Проводится II фаза клинических испытаний.

NEW DETOXICATION DRUG ON BASIS MYCOMELANIN FROM FUNGUS Cladosporium Cladosporioides BIOMASS

V.M. Kovalenko, M.I.Borschevskaja, G.A.Saifetdinova

Institute of Pharmacology and Toxicology AMS of Ukraine
OAS "Pharmak"

e-mail: farmak@cki.ipri.kiev.ua

The biological potency of melanin is conditioned by singularities of molecular structure, that allows to consider them as traps of free radicals generated in an organism by the various physical and chemical factors. Taking into account difficult ecological circumstances, increasing of cases of intoxication with technogenic poisons, and, hence, urgency of development of modern treatment-and-prophylactic detoxication drugs, OAS "Pharmak" on the basis of biotechnological synthesis nonselective enterosorbent, Biomelan was made. As a substance the melanin producer Cladosporium cladosporioides was used. In Institute of Pharmacology and Toxicology AMS of Ukraine was carried experimental investigation its properties at medicinal intoxication (paracetamol), action of a hepatotoxin (tetrachlormethane), alkylation agent (mustargen) and cadmium. Acute toxicity was caused by hypodermic injection of 50 % CCl_4 oil solution in a dose 8 ml/kg b.w. The application Biomelan in rats stomach in preventive condition within 10 days in dose of 10 мг/kg b.w. promoted decrease of hepatocytolysis and cholestasis. Besides at it was detected high antioxidant properties (decrease of superoxide anion content on 50 % and hydroperoxides on 30 %, prevention of diene conjugate level increasing and induced formation of TBA-products, augmentation amount of protein SH-bunches in comparison with the given parameters in liver of animals, with which the treated drug was not introduced). The activation free radical processes of oxidation at intoxication with CCl4 was accompanied by considerable drop cytochromes P-450 and b_5 content and enzymatic activity of mitochondrial respiratory chain in liver. The introduction Biomelan prevented development of indicated violations. The similar data were obtained on model of chronic damage of liver with CCl_4, which was administrated in stomach within 30 days on 2 ml/kg b.w. as 20 % oil solution by 3 times into one week and toxic lesion of liver by paracetamol (1/2 LD_{50} within 2 days). In case of the former Biomelan treatment was by courses within first and last decade of intoxication in a dose of 10 мг/kg b.w., and in second - during 10 days before introduction of paracetamol and simultaneous with it. It was show, that the tested drug had promoted enriching conjugate and transport liver function, decreased cholestasis, prevented metabolic, bioenergetic violations and destroyed antioxidant system. The treatment-and-prophylactic application of Biomelan to cadmium sulfat intoxication rats (i.p. 2,5 мг/kg b.w.) prevented some hepato-, nephro- and gonadotoxic effects. At study antitoxic properties of Biomelan relation to alkylation compounds as model product the methyl-bis-(β-chlorethyl-amine) hydrochloride used. It was intravenously administrated rats in dose 0,4 мг/kg b.w. It was show ability Biomelan almost on 40 % to elevate amount of leucocytes in blood

concerning no treated rats, considerably to normalize level of protein in liver and content of SH-bunches of proteins being target of alkylation agents. The toxicological research and study of the possible remote effects in experiment testify to its safety, that is confirmed by results of the I phase of clinical trials. The II phase of clinical trials is carried.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ АЦЕТАТ-2,5,7,8-ТЕТРАМЕТИЛ-2-(4′-МЕТИЛПЕНТЕН-3′-ИЛ)-4'-ОКСИХРОМАНА ПРИ ОТРАВЛЕНИИ КСЕНОБИОТИКАМИ

Коваленко В.Н., Шаяхметова А.М., Охрименко В.А., Донченко Г.В.

Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины
Институт биохимии им. А.В. Палладина НАН Украины
e-mail: farmak@cki.ipri.kiev.ua; interdep@i.kiev.ua

Данные исследования являются фрагментом изучения Е-витаминной активности производного α-токоферола с укороченной боковой цепью - ацетат-2,5,7,8-тетраметил-2-(4′-метилпентен-3′-ил)-6-оксихромана (Евит). Исследования проведены на самцахи самках крыс линии Вистар при токсическом воздействии ксенобиотиков-прооксидантов: тетрахлорметан, парацетамол, мустарген. Фармакологическое действие Евита оценивали по его антоксидантной активности и гепато-, гонадо- и эмбриопротекторной способности.

Показано, что введение Евита животным (доза 10 мг/кг массы тела, перорально),отравленным тетрахлорметаном и парацетамолом, ингибировало процессы переокисления в печени, как на стадии образования активных форм кислорода (супероксиданионов) и первичных продуктов ПОЛ (диеновых и триеновых коньюгатов, гидроперекисей), так и на конечных этапах образования продуктов взаимодействия с тиобарбитуровой кислотой (ТБК). Антиоксидантное действие сопровождалось снижением активности АЛТ, АСТ (1,5-2 раза), ЩФ (20 %) и уровня общего билирубина (50 %) в сыворотке крови. Это указывает на его гепатопротекторные свойства. При введении крысам алкилирующего агента мустаргена (доза 4 мг/кг массы тела внутривенно) после применения Евита скорость аскорбатзависимого образования ТВК-продуктов в печени и гонадах самцов, печени беременных самок и гомогенате эмбрионов снижалась. Данные биохимических исследований коррелируют с результатами морфометрического изучения гонад самцов (коррекция деструктивных изменений в канальцах сперматогенного эпителия, увеличение числа зрелых половых клеток в эпидидимисе в 2,5 раза). Активность процессов ПОЛ в организме беременных самок и их плодов под действием алкилирующего соединения повышалась, но введение Евита нормализовало данный показатель. Это способствовало увеличению массы и размеров плацент и плодов. Кроме того, по сравнению с контролем общая эмбриональная смертность снижалась на 38 %. Полученные данные позволяют сделать вывод о гонадо- и эмбриопротекторном действии Евита.

Полученные данные ясно указывают на ключевую биологическую роль гидроксильной группы хромана в биологическом действии токоферолов. Выявленные фармакологические эффекты Евита обуславливают целесообразность внедрения его в качестве аналога витамина Е.

PHARMACOLOGICAL ACTIVITY ACETYL-2,5,7,8-TETRAMETHYL-2-(4'-METHYLPENTENE-3'-YL)-6-OXYCHROMAN AT INTOXICATION WITH XENOBIOTICS

V.N.Kovalenko, A.M.Shayakhmetova, A.V.Ochrimenko, G.V.Donchenko

Institute of Pharmacology and Toxicology AMS of Ukraine
Palladin Institute of Biochemistry NAS of Ukraine
e-mail: farmak@cki.ipri.kiev.ua; interdep@i.kiev.ua

This study is part of investigation of E-vitamin activity of α-tocopherol derivant with the shorten side chain acetyl-2,5,7,8-tetramethyl-2-(4'-methylpentene-3'-yl)-6-oxychroman (Evit). The experiments were performed in males and females Wistar rats intoxicated with xenobiotics-prooxidants: tetrachlormethane, paracetamol, mustargen. Pharmacological effects of Evit evaluated on its antioxidant activity and hepato-, gonado-, embrioptotective capacity.

It was shown, that administration of Evit to animals (dose 10 mg/kg b.w., per os) intoxicated by tetrachlormethane and paracetamol inhibited processes of peroxidation in liver as on a stage of formation oxigen active form (superoxide anion) and initial products of LPO (diene and triene conjugates and hydroperoxides) as at terminating stages of formation of interaction products with thiobarbituric acid (TBA). These antioxidant effects were accompanied by reduction of ALT, AST (1,5-2 times), ALP (20%) activity and total bilirubin level (50 %) on the blood serum. That indicate to its hepatoprotective properties. At injection to rats alkylation agent mustargen (dose 4 mg/kg b.w., i.v.) after treatment Evit level of ascorbate-induced production TBA-reactants on liver and gonades of rat males, liver of pregnant femals and homogenate of fetuses reduced. The data of biochemical study correlated with results morphometric investigation of gonads of males (corrections of destructive changes in chanals of a spermatogenic epithelium, increasing number of mature sex cells in an epididymis in 2,5 times). At action akilation compound activity of LPO processes in an organism of the pregnant famels and their fetuses elevated, but administration Evit set norm this parameter. It promoted to increasing of mass and dimensions of placentas and fetuses. Besides in comparison with control total embryonal mortality was reduced on 38 %. The received data allow to make conclusion about gonado- and embryoprotective action of Evit.

These data clearly indicate the key role of chroman hydroxyl group in biological activity of tocopherols. The identification of pharmacological effects of Evit stipulates for development it as analog of vitamin E.

ОЗОНОГРЯЗЕЛЕЧЕНИЕ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ПРОСТАТИТОМ

Козин Ю.И., Россихин В.В.

Харьковский государственный медицинский университет, Харьковская медицинская академия последипломного образования

В настоящее время общеизвестно, что от 30 до 58% мужчин страдают хроническим простатитом. Комплекс морфологических и функциональных изменений в предстательной железе у больных хроническим простатитом (ХП) обусловлен, прежде всего, задержкой оттока секрета и венозным застоем в малом тазу, что создает условия для внедрения путем уретропростатических и уретровезикулярных рефлексов микроорганизмов, активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) и снижению собственного антиокислительного потенциала в предстательной железе. Учитывая развитие у больных ХП, выраженных мембрано-дестабилизирующих процессов в клетках предстательной железы в комплексной терапии мы отдаем предпочтение пиелоиодотерапии после ее озонирования. Известно, что одним из основных трех факторов воздействия грязелечения помимо термического и механического является их многоплановое химическое воздействие как на уровне органов, так и целостных систем организма больных. Это воздействие осуществляется за счет микроэлементов, ионов, органических и неорганических кислот, гуминовых веществ, гормонов, ферментов, антибиотиков, газов и летучих веществ, радионуклидов и антиокислителей.

В тоже время отсутствие разработанных грязевых месторождений вынуждает к завозу и длительному хранению чаще всего сульфидных иловых грязей (Сакского или Чокракского месторождений).

При длительности хранения грязи более 6 месяцев нами отмечено ухудшение не только органолептических показателей, но и физико-химических характеристик лечебных грязей. Данные нарушения существенно снижают микробиологические и бактерицидные, а также антиокислительные характеристики грязей, уменьшают их химическое и рефлекторно-нейрогуморальное механическое воздействие на организм больных.

Проводимое нами в специальных пластиковых кюветах предварительное озонирование грязей путем барбатирования озонокислородной смесью с концентрацией озона 3-6 мг/л позволяло существенно улучшить основные физико-химические характеристики грязей, повысить их активность по основным параметрам воздействия на органы и системы организма больных. Нами озонированные грязи применены аппликационно и в виде ректальных тампонов в лечении 28 больных хроническим паренхиматозным простатитом проходивших лечение в санатории "Березовские минеральные воды" Низкотемпературные (t_0=37-38^{0}C) грязевые аппликации и тампоны чередовались с минеральными ваннами (t_0=35-37^{0}C продолжительностью 10-15 мин.). У больных с выраженным истощением антиокислительной защиты простаты и организма в целом, а также вторичным клеточным иммунодефицитом в дни минеральных ванн проводились ректальные инсуффляции озоно-кислородной смеси (от 300 мл до 600 мл) из расчета лечебной дозы озона 75 мкг на 1 кг веса больного или 10-30 мг/л озона в озонокислородной смеси.

Курс из 10 грязевых тампонов или аппликаций и 10 инсуффляций озонокислородной смеси или минеральных ванн восстанавливали гемодинамику в малом тазу и тонус предстательной железы,

достоверно уменьшали активность ПОЛ в секрете предстательной железы и повышали содержание антиоксидантов, нормализовали показатели клеточного иммунитета и мононуклеарно-фагоцитирующей систем.

Таким образом озонотерапия и озоногрязелечение существенно повышают эффективность санаторно-курортного лечения больных с хроническим паренхиматозным простатитом, а озонирование грязей позволяет значительно улучшить их физико-химические качества и активность.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ОСЛОЖНЕННОГО СКЛЕРОЗОМ ПАРЕНХИМАТОЗНОГО ПРОСТАТИТА

Козин Ю.И., Россихин В.В.

Харьковский государственный медицинский университет, Харьковская медицинская академия последипломного образования

Содержание тезиса: Наиболее распространенным инфекционно-воспалительным процессом мочеполовых органов, которым страдают 58% мужчин, считается хронический простатит (Делекторский В.В., 1990; Ильин Н.Н., 1991;Молочков В.А., 1998).

Учитывая немаловажную роль снижения показателей функционирования иммунной системы, активации процессов ПОЛ и снижения антиокислительной активности в генезе инфекционно-воспалительных заболеваний мочеполового тракта, мы для 75 больных хроническим уретропростатитом, осложненным склерозом, вызванным комбинированной урогенитальной инфекцией (трихомонады, хламидии, уреоплазма, гонорея, гарднарелла, кандидоз и пр.), в комплекс антибактериальной обязательной терапии включали смесь водорастворимых полипептидов из плаценты человека "Биоглобин".

По данным иммунограмм показатели клеточного иммунитета (T_x, T_0, пре-$T_л$) до лечения у всех 103 обследованных больных в среднем были ниже нормы или на нижней границе нормы. После лечения существенная положительная динамика этих показателей установлена лишь в группе из 75 больных, получивших курс Биоглобина, что было сопоставимо с исчезновением патологической симптоматики (боли, рези, зуд в уретре, выделения из уретры). Наиболее выражен рост количества $T_{хелп}$ (в 1,5-2 раза) по сравнению с исходным уровнем. Незначительно увеличилось число пре-Тлимф и в 1,1-1,4 раза нарастало количество Т супр. Более чем у половины (60%), лечившихся Биоглобином, увеличивался показатель соотношения $T_x/T_{супр}$.

Нормализовался уровень иммуноглобулинов и циркулирующих комплексов (ЦИК с 18,2±1,1 до 8,4±0,89).

Положительное воздействие на активность мононуклеарной фагоцитирующей системы, компенсаторно-приспособительное повышение уровня ферментативного антиоксиданта церулоплазмина в плазме крови (с 26,72±1,32 до 30,47±0,93 мг%, P<0,05) и существенное уменьшение его в секрете предстательной железы (с 12,8±2,46 до 7,64±2,34 мг%, P<0,001),а также значительно повышенный уровень слабой хемилюминесценции мочи у наблюдаемых нами больных (с 50±10 имп/сек в норме до 192±11 имп/сек), после курса Биоглобинотерапии существенно улучшались, подтверждая положительное антиоксидантное, репаративное и бионормализирующее действие препарата.

Изучение динамики процессов ПОЛ при включении Биоглобина в комплексную терапию 75 больных хроническим бактериальным уретропростатитом подтвердило его мощное регулирующее воздействие на обменный процесс. Наблюдаемая до лечения активация в крови у этой категории первичных (диеновые конъюгаты с 5,4±0,8 до 10,6±1,2 Нмоль/мл) и особенно конечных (малоновый деальдегид с 9,8±0,7 до 17,8±1,3 Нмоль/мл) продуктов перекисного окисления липидов, после второго курса проведенного лечения существенно угасало, что проявлялось в выраженном их снижении ДК до 6,2±1,2 Нмоль/мл и МДА до 10,3±1,4 Нмоль/мл (P<0,05). Повышение в сыворотке крови больных общего количества биоантиоксидантов, ингибирующих свободно-радикальные процессы, подтверждалось после курса Биоглобинотерапии достоверным снижением общей светосуммы хемолюминесценции как индуцируемые Fe^{2+} с 124,6±9,1 до 1013±93 имп/360с/мл (P<0,05), так и после индукции H_2O_2 с 1327±104 до 1013±93 имп/360с/мл (P<0,05).

Таким образом полученные результаты свидетельствуют, что включение в комплекс антибактериальной терапии у этой категории больных Биоглобина, содержащего в своем составе в окисленной форме аминокислоты - регуляторы (оксипролин, оксилизин), позволило добиться у подавляющего большинства (94,7%) наблюдаемых нами больных выраженного и стойкого клинического эффекта.

ВЛИЯНИЕ СОЕДИНЕНИЙ КЛАССОВ БЕНЗИМИДАЗОЛОВ, КУМАРИНОВ И БИЦИКЛИЧЕСКИХ БИОМОЧЕВИН НА МЕМБРАННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ И ОТДЕЛЬНЫЕ КОМПОНЕНТЫ ПОТЕНЦИАЛОВ НЕЙРОНОВ МОЛЛЮСКА

И.И. Коренюк[1], Т.В. Гамма[2], М.Ю. Раваева, М.Ю. Баевский[3], В.О. Курьянов[4], А.Е. Кизилов, Д.Р. Хусаинов, Чупахина Т.А., Костюченко О.В., Коренюк О.И., Козенцева Ю.А.

Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского
[1] e-mail: koreniuk@tnu.crimea.ua [2] gamma@tnu.crimea.ua [3] bmy@pop.cris.net
[4] vladimir@tnu.crimea.ua

В последние годы синтезировано большое количество биологически активных веществ среди различных классов химических соединений, которые могут быть рекомендованы для химиотерапевтического применения. Однако, особенности их влияния на нервную систему и механизмы их действия остаются малоизученными. В связи с этим, нами были изучены эффекты аппликации веществ трех классов соединений: бензимидазол гидрохлорида и его производных - 2-бензилбензимидазол гидрохлорида, 2-аминометилбензимидазол дигидрохлорида и 2-(1-гидроксиэтил)бензимидазола; производные кумарина - (4-метилкумарин-7-ил)-2-ацетамидо-2-дезокси-B-D-глюкопирамозид и (3,4-метиленкумарин-7-ил)- 2-дезокси-B-D-глюкопирамозид; бициклических биомочевин – мебикара (2,4,6,8- тетраметил –2,4,6,8-тетраазабицикло(3.3.0) октандион –3,7) в различном диапазоне концентраций на идентифицированные нейроны моллюска *Helix albescens Rassm.* Потенциалы нейронов, зарегистрированные методом микроэлектродного внутриклеточного отведения, подвергались аналого-цифровому преобразованию, и анализ их отдельных компонентов осуществлялась компьютерной программой.

При действии вышеперечисленных веществ у нейронов ППа1, ППа2 и ППа7 наблюдались существенные изменения мембранного потенциала и практически всех компонентов потенциалов действия. Установлено, что аппликация этих соединений приводило к специфическим изменениям критического уровня деполяризации мембраны, увеличению (2-аминометилбензимидазол дигидрохлорид и 2-(1-гидроксиэтил)бензимидазол, (3,4-метиленкумарин-7-ил)- 2-дезокси-B-D-глюкопирамозид, (2,4,6,8-тетраметил –2,4,6,8-тетраазабицикло(3.3.0) октандион –3,7) или уменьшению (бензилбензимидазол гидрохлорида, (4-метилкумарин-7-ил)-2-ацетамидо-2-дезокси-B-D-глюкопирамозид) амплитуды потенциалов действия нейронов. Обнаружено, что продолжительность восходящей и нисходящей фаз потенциалов действия нейронов, амплитуда и длительность следовой гиперполяризации, а также частота следования потенциалов действия при воздействии данных соединений зависят от концентрации веществ и их химической структуры, функционального состояния и типов нейронов. Следует отметить, что скорость проявления эффектов воздействия исследуемых соединений в одной и той же концентрации была различной, что, на наш взгляд, в значительной мере определяется размером молекулы вещества.

Таким образом, изменения параметров компонентов потенциалов нейронов дают основания полагать, что исследованные вещества обладают нейротропным эффектом, который обусловлен модификацией работы различных типов ионных каналов и как следствие, изменением проводимости мембраны. В докладе будут обсуждаться возможные механизмы действия производных бензимидазола, кумарина и бициклических биомочевин.

THE INFLUENCE OF CONNECTIONS OF BENZIMIDAZOLES, KUMARINES AND BICYCLOUREA CLASSES ON MEMBRANE POTENTIAL AND SEPARATE COMPONENTS OF MOLLUSC NEURONS POTENTIALS

Korenyuk[1], T. Gamma[2], M. Ravaeva, M. Baevsky[3], V. Kuryanov[4], A. Kizilov, D. Husainov, T. Chupahina, O. Kostyuchenko, O. Korenyuk, Yu.

National Tavrida V. Vernadsky University, Simferopol, Ukraine
[1] e-mail: koreniuk@tnu.crimea.ua [2] gamma@tnu.crimea.ua [3] bmy@pop.cris.net
[4] vladimir@tnu.crimea.ua

In the last years a large amount of biologically active substances have been synthesized among the various classes of chemical connections. These biologically active substances may be recommended for chemotherapeutic application. However, the features of their influence on the nervous system and on the

mechanisms of their operation were not studied properly. In this connection, we investigated the effects of substances that belongs to three classes of connections: benzimidazole hydrochloride and it of derivatives - 2-benzylbenzimidazole hydrochloride, 2-aminomethylbenzimidazole dihydrochloride and 2 - (1-hydroxoetyl) benzimidazole; kumarine derivatives - (4-methylkumarine-7-il)-2-acetamido-2-dezoxi-B-D-glucopiranozid and (3,4-methylenkumarine-7-il) - 2 acetamido-2-dezoxi-B-D-glucopiranozid; bicyclourea - mebickar (2,4,6,8-tetramethyl -2,4,6,8-tetraazabycyclo (3.3.0) octanedione -3,7) in a various range of concentration on identified neurons of mollusc Helix albescens Rassm. The neurons potentials were registered by the method of microelectrode assignment out of cells and were exposed to analog-digital conversion, the analysis of their separate components has provided heath a computer program.

By the operation of the above-mentioned substances at neurons RPa1, RPa2 and RPa7, the essential changes of membrane potential and practically all the components of action potentials (AP) were observed. All investigated connections specifically change a critical level of the membrane depolarization, increase (2-aminomethylbenzimidazole dihydrochloride and 2 - (1-hydroxoetyl) benzimidazole, (4-methylkumarine-7-il)-2-acetamido-2-dezoxi-B-D-glucopiranozid and (3,4-methylenkumarine-7-il) - 2 acetamido-2-dezoxi-B-D-glucopiranozid, (2,4,6,8- tetramethyl -2,4,6,8-tetraazabyzyclo (3.3.0) octanedione -3,7) or reduce (2-benzylbenzimidazole hydrochloride, the amplitude of neurons potentials of operation. The detected changes of duration of the ascending and descending phases of neurons potentials of operation, amplitude and duration of hyperpolarization and frequency of the following AP by the operation of the given connections depend on the concentration of substances and their chemical structure, on functional state and types of neurons. It is necessary to mark that the speed of manifestation of effects of researched connections influence in the same concentration was various, in our sight, to a considerable extend, is connected with the size of the substance molecule.

Thus, the investigated substances have neurotropic effect, which express in change of parameters of neuron potentials components. The obtained results testify to the operation modification of various types of ions channels and as a consequence, the change of the conductivity of a membrane. The possible mechanisms of benzimidazole derivatives operation kumarine and bicyclourea will be discussed in the report.

ТРАНСДЕРМАЛЬНАЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА, СОДЕРЖАЩАЯ ПРОИЗВОДНЫЕ 1,4-БЕНЗОДИАЗЕПИНА

Кравченко И.А.
Одесский национальный университет им. И.И.Мечникова

Транквилизаторы бенздиазепинового ряда широко применяются в современной фармакотерапии для лечения патологических состояний, имеющих различную продолжительность и выраженность симптомов.

В связи с этим весьма актуальна разработка лекарственных форм и методов введения, обеспечивающих оптимальное воздействие на организм, адекватное динамике патологических процессов.

Нами была исследована возможность создания трансдермальных терапевтических систем доставки транквилизаторов - производных 1.4-бенздиазепинов, которые могут быть эффективны для лечения хронических психических заболеваний (эпилепсия).

Эти системы должны обеспечивать:

1. Высокую биологическую доступность препарата;
2. Формирование стационарного фармакодинамического профиля в интервале воздействия.

Исследования проводились на лабораторных животных - белых мышах.

Нами разработана трансдермальная система доставки, представляющая собой гидрофильную матрицу, состоящую из 1,2-пропиленгликоля и поливинилового спирта.

Такая матрица обеспечивает быстрое введение лекарственного препарата в организм и поддержание его терапевтического уровня в течение 72 часов аппликации.

Нами было показано, что липофильность препарата коррелирует со скоростью достижения терапевтического эффекта при его трансдермальном введении. В зависимости от липофильности, время достижения стационарного состояния колебалось в пределах 0,25-6 часов аппликации. Для получения быстродействующего препарата с пролонгированным действием мы использовали сочетание пар препаратов с различной липофильность (диазепам – нитразепам; феназепам – 3-гидроксифеназепам).

Наибольший интерес для нас представлял препарат, содержащий феназепам и его активный метаболит – 3-гидроксифеназепам. Были изучены параметры фармакокинетики для этих препаратов, а также их фармакологические свойства.

Изучение анксиолитического действия феназепама показало, что в период с 3 до 24 часов наблюдается угнетение двигательной и исследовательской активности животных. Минимальные показатели наблюдаются к 24-30 часам аппликации. С 30 часов процессы элиминации начинают преобладать над процессами поступления, восстанавливая активность животных. В период с 24 до 30 часов мы наблюдали также миорелаксационное действие феназепама. Этот факт свидетельствует о том, что в это время содержание феназепама в организме было максимальным. В это же время наблюдалась максимальная защита животных от электрического шока, который моделирует клинические проявления grand mal.

Изучение 3-оксифеназепама показало аналогичную картину, однако максимум содержания препарата отмечался через 4-8 часов после аппликации. При этом наблюдается полное отсутствие миорелаксации и более эффективная защита от воздействия электрического шока.

Использование трансдермального способа введения 3-гидроксифеназепама приводит и к изменению параметров его элиминации и соотношению выводимых метаболитов. Определение констант элиминации липофильных и водорастворимых метаболитов при трансдермальном введении показало, что их значения на порядок меньше соответствующих констант при внутривенном введении. Этот факт можно объяснить эффектом обращения констант. В этом случае константа поступления лимитирует процесс элиминации и практически является константой элиминации. При трансдермальном введении изменяется и характер метаболизма.

Таким образом, проведенные исследования показали, что трансдермальный способ введения обеспечивает эффективное действие производных 1,4-бензодиазепина и заслуживает дальнейшего исследования.

TRANSDERMAL THERAPEUTIC SYSTEM WITH DERIVATIVE OF 1,4-BENZODIAZEPINE

Kravchenko I.A.

Odessa National University, Chemical Faculty

Tranquilizers of the benzodiazepine series are widely used in modern pharmacotherapy. Pathological conditions that are corrected by such preparations have different time length of action and symptom manifestation.

Hence, the development of such drug forms and their introduction techniques are vital in ensuring the optimal influence on the body.

We have studied the possibility of creating the transdermal drug delivery systems for 1,4-benzodiazepines. Such drugs can be effective in treatment of some chronic neurological diseases (such as epilepsy)

Such system must ensure:

1. High biovailability of the drug
2. Formation of a stable pharmacodynamic profile within time of action

The study has been performed on animals (white mice)

Transdermal delivery system has been developed for this purpose. It is a hydrophilic matrix consisting of 1,2-propylene glycol and polyvinyl alcohol

This form provides fast entrance of drugs into organism and prolongation of action till 72 hours of application.

We have shown, that lipophility of drug correlate the rate of achievement of therapeutic effect at the transdermal delivery. The permanent level of anticonvulsant action was after 0.25-6 hours after application, depending on the lipophility.

We used the combination of couples of grugs that had different lipophility to receive high-speed drug with prolongated action (diazepam-nitrazepam; phenazepam-3-hydroxiphenazepam).

The preparation, containing the phenazepam and its active metabolite - 3-hydroxiphenazepam was of the greatest interest for us. The parameters of pharmacokinetic of these preparations and their pharmacological properties were investigated.

The study of anxiolytic action of phenazepam has shown that in the period of 3-24 hours an depression of locomotor and research activity of animals was observed. The minimal activity was shown to 24-30 hours of application. The processes of elimination began after 30 hours of application and prevail above the processes of receiption restoring activity of animals. We also observed miorelaxation action of phenazepam in the period from 24 to 30 hours. This fact testifies that in this time contents of phenasepam was maximal. At the same time we observed the maximal protection of animal against an electrical shock, that simulates clinical displays of grand mal.

Having studied the 3-hydroxiphenazepam we observed analogical picture, however maximal content of preparation was marked after 4-8 hours of application. At the same time we observed the complete absence of the miorelaxation and more effective protection from an influence of an electrical shock.

Use of transdermal method of delivery of phenazepam and 3-hydroxiphenazepam leads to changes of parameters of their elimination and changes of correlation between derived metabolites. The determination of elimination of these metabolites at the transdermal delivery has shown that their values are on the order less than the appropriate constants at the intravenous administration. This fact can be illustrated by "effect of constant return". In this case constant of entrance limits the process of elimination and practically is a constant of elimination. At the transdermal administration we observed the modification of nature of metabolism.

Hence, the spent researches have shown, that transdermal delivery provides effective action derivative of 1.4-benzodiazepine and deserves the further research.

КОРРЕКЦИЯ МИКРОБИОЦЕНОЗА И БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ А-БАКТЕРИНОМ У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

Кременчуцкий С.Г., Олефир Т.Ю., Бондаренко И.Н., Любченко Н.В.

Днепропетровская государственная медицинская академия. Кафедра онкологии; ГМКБ № 4
e-mail: kremengena@mail.ru; kremen@dsma.dp.ua

При колоректальном раке происходят функциональные нарушения со стороны пищеварительной системы, клинические проявления которых зависят от выраженности симптомов, вызванных опухолевым ростом. Синдром нарушенного всасывания, непроходимость, обусловленная опухолью, развитие дисбиотических нарушений в толстой кишке и распространение микрофлоры в верхние отделы тонкой кишки приводят к образованию и накоплению свободных (деконъюгированных) желчных кислот, гидроксидов жирных кислот, бактериальных токсинов, протеаз и различных метаболитов (фенолов, биогенных аминов и др.). Следствием этих процессов могут стать нарушение двигательной, секреторной, пищеварительной и других функций тонкой кишки, нарушение гидролиза дисахаридов (например, лактозная недостаточность), липидов, белков, всасывание витаминов, макро- и микроэлементов. Таким образом, в толстую кишку поступает химус, с агрессивными свойствами, и к тому же и в самой толстой кишке, в особенности в ее начальных отделах, в силу в силу дисбиотических изменений микрофлоры также нарушаются процессы пищеварения и всасывания, моторно-секреторная функция ободочной и прямой кишки.

Нами было обследовано 22 больных с впервые установленным диагнозом колоректального рака Т2-Т4 МО-КЗ МО. Углубленно исследованы биохимические показатели крови, характеризующие обмен липидов, углеводов, белков, активность некоторых ферментов до и после применения А-бактерина в качестве корригирующего микробиоценоз и гомеостаз средства.

У больных было установлено увеличение содержания общих липидов в сыворотке крови по сравнению с нормой в 1,5 - 3 раза, неэтерифицированных жирных кислот -в 2 - 2,5 раза, выявлено нарушение фракционного состава фосфолипидов сыворотки крови, содержание серогликоидов в сыворотке крови больных в 1,5-2 раза превышало норму. Активность ингибиторов протеолитических ферментов возросла в 2 - 2,5 раза по сравнению с нормой, выявлено увеличение активности щелочной фосфатазы в 5 - 7 раз. Учитывая результаты исследования, можно сделать вывод о наличии существенных функциональных нарушений со стороны пищеварительной системы у больных раком ободочной и прямой кишки. Вышеперечисленные, а также некоторые другие биохимические показатели крови отражают значительное расстройство метаболизма (в частности обмена липидов и углеводов), воспалительные явления, нарушение функции печени у больных, которым предполагается проведение радикального лечения.

После недельного перорального приема А-бактерина по 2 дозы 3 раза в день у больных появилась тенденция к нормализации микробиоценоза кишечника, уменьшились явления интоксикации, в 1,5-2 раза повысились фагоцитарные показатели (ФИ и ПЗФ), появилась тенденция к нормализации биохимических показателей.

Таким образом, больным колоректальным раком кроме специальных методов лечения необходим комплексный индивидуализированный подход к коррекции метаболизма, структурных и функциональных нарушений печени, желудка, кишечника.

Кременчуцкий Г.Н., Кременчуцкий С.Г. А-бактерин для наружного и внутреннего применения. Патент № 2000085097. Опубл. 15.08.2001, Бюл.№7.

СВОЙСТВА ИНГИБИТОРОВ ЭЛАСТАЗЫ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ И РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ К ИХ ВЫДЕЛЕНИЮ

А.В.Кубышкин

Крымский государственный медицинский университет им. С.И.Георгиевского
diltek@pop.cris.net

Эластаза является одним из самых активных протеолитических ферментов, участвующих в развитии различных патологических процессов в организме. Ферменты, обладающие эластолитической активностью, содержатся во многих клетках, но особенно ими богаты полиморфноядерные лейкоциты. В кровяном русле в составе этих клеток циркулирует 75 мг эластазы и учитывая, что их мобилизация в очаге поражения протекает очень быстро, локально может создаться очень высокая концентрация эластазы, обладающей широким спектром патогенетических эффектов. Это требует поиска эффективных путей инактивации фермента.

Известно большое количество природных и синтетических соединений, обладающих антиэластазной активностью. Можно выделить низкомолекулярные ингибиторы, секретируемые некоторыми видами Streptomyces (эластатиналь) и других микроорганизмов (эласнин), пептидные ингибиторы на основе хлорметилкетонов, циклические ингибиторы. Следует отметить, что все синтетические ингибиторы эластазы, несмотря на хороший эффект по ингибированию фермента, являются очень токсичными препаратами, что препятствует проведению их клинических испытаний. В связи с этим особый интерес привлекает изучение природных ингибиторов эластазы.

Проведенные исследования показывают, что высокая концентрация ингибиторов обнаруживается в ткани легких, где насчитывается 4 типа кислотостабильных белков, обладающих антиэластазной активностью. Мощный ингибитор эластазы R-элафин выделен из клеток кожных покровов. Аналогичный по структуре и свойствам ингибитор выделен из мочи человека и сыворотки крови кролика.

Нами изучены антипротеиназные свойства термо- и кислотостабильного ингибитора (ТКСТИ), полученного из сыворотки крови кролика, по сравнению с широко применяемым поливалентным ингибитором протеиназ «Контрикалом». Определялась способность ингибиторов инактивировать активность панкреатических трипсина и эластазы, а также тормозить эластолитическую активность пула бронхоальвеолярного секрета, представленную в основном нейтрофильной эластазой. Для этого фермент инкубировали в стандартных условиях в течение 15 минут с препаратом ингибитора и определяли остаточную протеолитическую активность образца. Установлено, что антитриптическая активность 1000 АТрЕ контрикала фактически соответствует антитриптической активности 1 мг ТКСТИ. По способности ингибировать панкреатическую эластазу ТКСТИ превосходил контрикал более чем в 13 раз. Разница способности ингибиторов обеспечивать антиэластазную активность по отношению к нейтрофильной эластазе была менее значительна, но и здесь ТКСТИ превосходил контрикал более чем в 3 раза.

Учитывая, что все современные поливалентные ингибиторы получают, используя их свойства ингибировать трипсин, основным свойством поливалентных ингибиторов протеиназ является их антитриптическая активность. В проведенной работе обоснован и апробируется подход к получению ингибитора с преимущественно антиэластазным механизмом действия на основе предварительной специфической обработки природного сырья. Это позволит разработать технологию выделения природных ингибиторов эластазы для более широкого применения их в клинической практике.

ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ Е-ВИТАМИННЫХ ПРЕПАРАТОВ

И.В.Кузьменко., Г.В.Донченко

Институт биохимии им. А.В.Палладина НАН У
irinak@paladin.biochem.kiev.ua

При изучении молекулярных механизмов биологического действия витамина Е и возможности замены его более эффективными производными было установлено, что в механизме действия витамина Е важное место занимает его влияние на тканевой энергетический обмен, которое связано с регуляцией им биосинтеза, метаболизма и функционирования убихинона – центрального компонента цепи

транспорта электронов. Проведен широкий поиск возможных аналогов витамина Е и обнаружены высокоэффективные производные с модифицированными боковыми цепями и хромановым кольцом, хинонные формы обладающие антиоксидантной, и мембраностабилизирующей активностью. Исследования, проведенные на различных экспериментальных моделях (Е-гиповитаминоз, мышечная дистрофия, энцефаломаляция, гипоксия, мелкоочаговый миокардит, токсический гепатит), показали высокую биологическую эффективность новых производных витамина Е.

Предлагается перспективная неиспользуемая ранее технология получения из отечественного сырья производного витамина Е – α-токоферолацетата с укороченной боковой цепью, не связанная с необходимостью получения изофитола, которая может быть использована на заводах, производящих витамин Е в порядке развития существующего производства без дополнительных капитальных вложений.

Это естественный метаболит витамина Е в организме. Высокая эффективность препарата обусловлена модификацией боковой цепи молекулы, что способствует увеличению его доступности в клетках-мишенях.

Препарат является высокоэффективным антиоксидантом и активным регулятором тканевого энергетического обмена, обладает мембраностабилизирующим, антигипоксическим, антиканцерогенным, антикатарактальным, иммуномодулирующим, гепатопротекторным и противотуберкулезным действием (подтверждено патентами). Его влияние на тканевой энергетический обмен осуществляется за счет интенсификации процессов биосинтеза убихинона в организме. Используется в дозах аналогичных витамину Е, рекомендуется не только при многих заболеваниях, но и здоровым людям для усиления работоспособности, при стрессах и физических нагрузках, спортсменам и другим категориям лиц в условиях перенапряжения и недостатка витамина Е.

Полностью проведены доклинические испытания препарата, получено разрешение на применение препарата в ветеринарии в качестве Е-витаминной кормовой добавки. Разработана и утверждена методика применения препарата. Составлен и утвержден лабораторный регламент синтеза субстанции препарата.

Препарат послужит исходным продуктом для получения нового поколения Е- витаминных препаратов, которые в свою очередь являются еще более активными метаболитами α-токоферола и могут быть использованы в клинике различных патологических состояний включая онкологические заболевания, интоксикации, ишемию, инфаркт, гипоксию и др., а также в сельскохозяйственном животноводстве.

Имеется патент по технологии получения препарата и ряд патентов по способу применения.

THE PROSPECTIVES IN CREATION OF NEW GENERATION OF E-VITAMIN DRUGS

I.V. Kuzmenko, G.V. Donchenko

A.V. Palladin Institute of Biochemistry of NAS of Ukraine
irinak@paladin.biochem.kiev.ua

The molecular mechanisms of biological action of vitamin E and the possibility to substitute it with more effective derivatives were studied in previous works. It was established that the effect of vitamin E on tissue energy exchange plays an important role in its mechanism of action and is connected to the regulation of metabolism, biosynthesis and functioning of ubiquinone by it. The widened search for possible analogs of vitamin E was conducted. Derivatives with modified side chains and chromane ring, quinone forms that have antioxidative and membrane-generating activity appeared to be effective. The studies conducted on different experimental models (E-hypovitaminosys, muscle dystrophy, encephalomalatia, hypoxia, microfocal myocarditis, toxic hepatitis) showed high biological effectiveness of new vitamin E derivatives.

We propose the highly promising new technology of obtaining from local raw material the vitamin-E derivative – α-tocopherol acetate with shortened side chain. The technology does not need isophytol production and may be employed at vitamin-E producing plants in the course of production upgrade without need in additional funds.

It is a natural vitamin E metabolite in the organism. The modification of molecule's side chain modulates high effectiveness of the substance.

The substance is a highly effective antioxidant and actively regulates tissue energy exchange, has membrane-stabilizing, antihypoxic, anticancer, anticataractal, immune-modulating, hepatoprotective and antituberculosis activity, which is approved by patents. It influences the tissue energy exchange by modifying the processes of

ubiquinone biosynthesys in organism. The substance doses are similar to those of vitamin E and are recommended for use under many disorders and for healthy people to enforce stamina, under stress conditions and physical strains, for athletes, in the conditions of vitamin e insufficiency.

The substance underwent full preclinical tests, was approved for use in veterinary as vitamin E food additive. The methods of use are developed and approved. The laboratory reglamentation of substance synthesis was composed and approved.

The substance will become the basis for obtaining the new generation of vitamin E drugs, which themselves are even more active metabolites of α-tocopherole and can be used in clinincs of many pathologies, including cancer diseases, intoxication, ischemic damage, infarct, hypoxia and other, and also in agriculture.

ВЛИЯНИЕ КООРДИНАЦИОННЫХСОЕДИНЕНИЙ МАГНИЯ, АМИНОКИСЛОТ, МАКРОФОСФАТОВ НА ТЕЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Кутняк В.П.

Киевская медицинская академия последипломного образования им.П.Л.Шупика

Универсальным патогенетическим механизмом возникновения сердечно-сосудистой патологии всеми исследователями признаются нарушения энергетического обмена. Среди препаратов, применяющихся в этих случаях, наиболее распространенной является аденозинтрифосфорная кислота (АТФ, атрифос). По основному фармакологическому действию АТФ относится к препаратам, стимулирующим обменные процессы, - производным аденозина и гипоксантина В этой немногочисленной группе лекарственных средств находятся также фосфаден (АМФ - аденозинмонофосфат), этаден - производное пурина, рибоксин (предшественник АТФ - нуклеозид пурина) [Машковский М.Д.,2000]. Помимо АТФ пристальное внимание исследователей в настоящее время привлекает также транспортная форма макроэргических фосфатов в клетке - креатинфосфат. Фирмой "Скапарелли" (Италия) выпускается противоишемический препарат “Неотон”, активной субстанцией которого является динатриевая соль креатинфосфата. Научный поиск в этом направлении привел к синтезу принципиально нового класса веществ - разнолигандных координационных соединений (КС) биометаллов с аминокислотами на основе макроэргических фосфатов - АТФ и креатинфосфата. Целью работы явилось изучение мембранотропных и метаболических эффектов новых координационных соединений биометаллов с аминокислотами на основе АТФ и креатинфосфата в миокарде в условиях экспериментальных нарушений коронарного кровообращения. В связи с широкой распространенностью хронических форм ишемической болезни сердца (ИБС), особый интерес представляло изучение структурно-функционального состояния мембран кардиомиоцитов на модели хронической коронарной недостаточности. Последнюю моделировали у кроликов по способу, суть которого заключается в том, что в течение 60 дней ежедневно подопытным животным скармливали взвесь холестерина из расчета 0,3 г/кг массы и одновременно внутривенно вводили вазоконстрикторное вещество - вазопрессин в дозе 0,3 Б/кг массы . Таким образм [А.с. № 117338], в течение двух месяцев сочетались два патогенетических фактора ишемического повреждения сердца - гиперлипидемия и коронароспазмы. В течение всего эксперимента еженедельно у подопытных животных брали кровь из краевой вены уха и определяли содержание холестерина, триглицеридов и свободных жирных кислот в сыворотке крови, а также регистрировали ЭКГ. Животные, устойчивые к введению холестерина, так называемые "нуллеры" из опыта исключались через неделю. Впервые дана оценка биологической активности принципиально нового класса веществ - КС магния с гистидином на основе АТФ и ФК при длительной коронарной недостаточности. Доказано их мембранопротекторное действие, возможность предотвращения возникновения и коррекции изменений физико-химических свойств мембран кардиомиоцитов: липидного состава мембран, величины соотношения холестерин/фосфолипиды (микровязкость бислоя), уровня жирных кислот, интенсивность ПОЛ, ионной проницаемости. Показано нормализующее воздействие исследуемых КС на структурно-функциональное состояние сарколеммы кардиомиоцитов в условиях ишемии миокарда.

Показано, что новые КС обладают комбинированным механизмом действия, сочетая свойства мембраностабилизирующих, энергосберегающих средств и антагонистов кальция. Последний эффект обусловлен наличием в составе КС естественного неорганического антагониста кальция - биометалла магния.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОМИКРОБНЫХ И ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩИХ СВОЙСТВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ КАРПАТ И ПРИЧЕРНОМОРЬЯ.

Р.В.Куцык, Б.М.Зузук, Л.М.Куровец, Р.М.Мизюк, Н.П.Цвеюк, Н.М.Жолобак, Н.Я.Спивак

Ивано-Франковская медицинская академия,
Институт микробиологии НАН Украины
e-mail: kutsyk@il.if.ua

Лекарственные растения являются богатым источником биологически активных веществ с разнообразными фармакологическими свойствами. Их всестороннее изучение открывает новые перспективы для разработки новых лечебных препаратов. Особенную актуальность в последнее время приобретает поиск веществ, проявляющих противомикробную активность относительно антибиотикорезистентных госпитальных штаммов микроорганизмов, а также способных модулировать иммунологические функции.

Нами проведено исследование 42 растительных экстрактов на наличие у них противомикробных свойств, а также способности индуцировать образование интерферона (ИФН) и фактора некроза опхоли (ФНО). Исследованы 15 экстрактов растений Причерноморья, 21 растения флоры Карпат и 6 официнальных настоек. Водные и 40% этанольные экстракты растений готовили согласно фармакопейным требованиям. Для экстрагирования использовали соотношение лекарственное растительное сырье / экстрагент в соотношении 1:10, время настаивания – 10 суток. Противомикробную активность экстрактов изучали методом диффузии в агар. Для исследования использовали музейные культуры и клинические изоляты Pseudomonas aeruginosa, Proteus vulgaris, Esherichia coli, Haffnia alvei, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis и Bacillus cereus. Влияние экстрактов на индукцию ИФН и ФНО определяли in vitro в культуре лейкоцитов периферической крови человека. Титрование ИФН проводили в культуре фибробластов человека М-19, в качестве тест-вируса использовали вирус энцефаломиокардита лошадей. Концентрацию ФНО определяли по цитотоксическому действию разведений культуральной жидкости в отношении чувствительных клеток L949.

Установлено, что выраженными противомикробными свойствами относительно Грам-положительных и Грам-отрицательных микроорганизмов обладают хлорофиллипт, и официнальные настойки полыни горькой (Artemisia absinthium), мяты перечной (Mentha piperita) и арники горной (Arnica montana). Водные экстракты исследованных растений противомикробными свойствами не обладали. Из этанольных экстрактов наиболее широкий спектр антибактериальной активности проявляли экстракты надземной части гринделии растопыренной (Grindelia squarrosa), сиверсии горной (Parageum montanum), водянки черной (Empetrum nigrum), плодов биоты восточной (Biota orientalis), корней и корневищ сиверсии горной. Рост метициллин-резистентных (ванкомицин-чувствительных) клинических изолятов St. aureus интенсивно угнетали настойка полыни горькой, экстракт листьев ореха грецкого (Juglans regia), надземной части и корней с корневищами сиверсии горной, несколько менее активными были хлорофиллипт, этанольные экстракты плодов биоты восточной и соцветий кермека Гмелина (Limonium gmelini).

Наиболее активными индукторами ИФН являются экстракт корней окопника лекарственного (Symphitum officinale), омелы белой (Viscum album), надземной части водянки черной. Экстракты травы полыни цитварной (Artemisia cina), листьев рододендрона Форий (Rhododendron fauriei) и софоры японской (Sophora japonica), надземной части и корней с корневищами сиверсии горной оказались токсичными для клеток-продуцентов. Достоверное увеличение синтеза ФНО лейкоцитами периферической крови человека вызывал лишь этанольный экстракт омелы белой.

Полученные результаты открывают новые перспективы создания противомикробных и иммуномодулирующих препаратов на основе биологически активных веществ лекарственных растений флоры Украины.

INVESTIGATION OF ANTIBACTERIAL AND IMMUNOSTIMULATING PROPERTIES OF MEDICINAL PLANTS OF CARPATHIANS AND BLACK SEA REGION

R.V.Kutsyk, B.M.Zuzuk, L.M.Kurovets, R.M.Miziuk, N.P.Tsveiuk, N.M.Zholobak, N.Ya.Spivak

Ivano-Frankovsk Medical Academy,
Institute of microbiology NAS of Ukraine
e-mail: kutsyk@il.if.ua

The medicinal plants are a rich source of biologically active substances with various pharmacological properties. The detailed investigation of medicinal plants opens new perspectives for the development of a new medicinal preparations. The search of substances with immunomodulatimg and antibacterial activity against antibiotic resistant hospital strains of microorganisms is especially actual.

Extracts of 42 plant were investigated for their antibacterial, interferon (IFN)- and tumor necrosis factor (TNF)-inducing activity. 15 extracts of Black Sea Region plants, 21 extracts of Carpathians flora plants and 6 pharmaceutical extracts were investigated. Aqueous and 40% ethanolic plant extracts were prepared according to the pharmacopoeial requirements. Medicinal plant raw material / extragent in the ratio 1:10 were used for extraction during 10 day. Agar-well diffusion method was used for the testing of extracts antibacterial activity against collection cultures and clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa, Proteus vulgaris, Esherichia coli, Haffnia alvei, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis and Bacillus cereus. IFN- and TNF-inducing activity of extracts was determined by test in vitro in human peripheral blood leukocytes culture. IFN was titrated in human fibroblast culture M-19, as a test-virus was used horse encephalomyocarditis virus. Cytotoxic effect of culture fluid in sensitive cell culture L949 was performed for the determination of TNF concentration.

The significant antibacterial properties of chlorophyllipt and pharmaceutical extracts of wormwood (Artemisia absinthium), pepper mint (Mentha piperita) and mountain arnica (Arnica montana) against Gram-positive and Gram-negative microorganisms were established. The water extracts of investigated plants failed antibacterial properties. Among ethanolic extracts the widest spectrum of antibacterial activity was shown by extracts of Grindelia squarrosa, Parageum montanum, Empetrum nigrum aerial part, Biota orientalis fruits and Parageum montanum roots. Methicillin resistant (vancomycin-sensitive) clinical St. aureus isolates growth was intensively inhibited by wormwood (Artemisia absinthium) herb extract, walnut (Juglans regia) leaves extract, Parageum montanum herb and roots extracts, a little less active were chlorophyllipt, Biota orientalis fruits extract and Limonium gmelini flowers extract.

Common comfrey (Symphitum officinale) root extract, mistletoe (Viscum album) extract and Empetrum nigrum herb extracr showed the most active IFN inducing properties. Artemisia cina herb extract, Rhododendron fauriei and Sophora japonica leaves extracts, Parageum montanum herb and roots extracts were toxic for producing cells. Significant increase of TNF synthesis by human peripheral blood leukocytes was observed only by cell stimulation by mistletoe (Viscum album) extract.

The obtained results open new perspectives for creation of antimicrobial and immunomodulating drugs on a basis of biologically active substances of Ukraine flora medicinal plants.

ЭФФЕКТ АНАЛОГА А – ТОКОФЕРОЛА НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН КАРДИОМИОЦИТОВ КРОЛИКОВ В ОПЫТАХ IN VITRO И IN VIVO

Кучменко Е.Б.[3], Мхитарян Л.С.[2], Донченко Г.В[.1]

Институт биохимии им.А.В.Палладина НАН Украины [1],
Институт кардиологии им.Н.Д.Стражеска АМН Украины [2],
Национальный Университет "Киево-Могилянская Академия"[3].

Целью данной работы является изучение влияния короткоцепочечного C_6 производного витамина Е на структурно-функциональное состояние плазматических мембран кардиомиоцитов (ПМК) интактных кроликов (in vitro) и кроликов с экспериментальной гиперхолестеринемией (in vivo).

В работе была использована экспериментальная модель гиперхолестеринемии. Комплекс биохимических и биофизических методов исследований включал ультрацентрифугирование, спектрофотометрию, тонкослойную хроматографию, хемилюминесценцию, радиоизотопные методы.

В процессе 60 мин. инкубации суспензии ПМК интактных животных наблюдается интенсификация процессов свободнорадикального окисления (СРО), снижение уровня фосфолипидов и каталитической активности Na^+,K^+-АТФазы, накопление жирных кислот в контрольных пробах ПМК. Аналог витамина Е при добавлении в дозе 10 мкг/мл инкубационной среды в значительной мере предупреждает развитие этих изменений. При этом уровень холестерина оставался практически стабильным.

В условиях экспериментальной гиперхолестеринемии (ГХ) установлено достоверное увеличение уровня холестерина, жирных кислот и уменьшение содержания фосфолипидов в ПМК в сравнении с контролем. Возможно, одним из важнейших механизмов указанных изменений липидной структуры является интенсификация процессов СРО, что выражается в достоверном накоплении диеновых конъюгатов, малонового диальдегида, а также интенсификации спонтанной и индуцированной хемилюминесценции ПМК по сравнению с контролем. Вместе с этим отмечено уменьшение каталитической активности Na^+,K^+-АТФазы и скорости Na^+/Ca^{2+}-обмена ПМК подопытных животных по сравнению с контролем. Установлено также, что ГХ не сопровождается достоверными изменениями активности каталазы и супероксиддисмутазы, в то время как активность глутатионредуктазы достоверно уменьшается по сравнению с контролем.

В условиях введения аналога витамина Е с C_6 в боковой цепи с лечебно-профилактической целью перорально в дозе 5 мг/кг массы тела на протяжении 30 дней животным с ГХ установлена почти полная нормализация липидной структуры, значительное уменьшение интенсивности свободнорадикальных процессов, сохранение каталитической активности Na^+,K^+-АТФазы и скорости Na^+/Ca^{2+}-обмена, достоверное увеличение активности глутатионредуктазы по сравнению с животными с ГХ.

Таким образом, в опытах in vitro и in vivo было показано, что добавление исследуемого аналога витамина Е сопровождается нормализацией липидного бислоя мембран и функционирования ион-транспортных систем, а также интенсивности свободнорадикальных процессов окисления и активности ферментов антиоксидантной защиты, что может указывать на антиоксидантные свойства и эффективное мембранопротекторное действие этого соединения по отношению к ПМК. Данные исследования могут лечь в основу экспериментального обоснования использования новых препаратов биологически активных веществ для профилактики и лечения патологий сердечно-сосудистой системы.

Технология получения C_6-аналога α-токоферола защищена патентом Украины.

EFFECT OF ANALOG OF A-TOCOPHEROL ON THE STRUCTURAL AND FUNCTIONAL STATE OF CARDIOMYOCYTES PLASMA MEMBRANES OF RABBITS IN VITRO AND IN VIVO

Kuchmenko E.B.3, Mkhitaryan L.S.2, Donchenko G.V.1

A.V.Palladin Institute of Biochemistry, NAS of Ukraine 1,
N.D.Strazhesko Institute of Cardiology, AMS of Ukraine 2,
National University of "Kiev-Mohyla Academy" 3.

The purpose of research work is to study the influence of vitamin E derivative with the shortened side chain to C_6 on the structural and functional state of cardiomyocytes plasma membranes (CPM) of intact rabbits (in vitro) and cholesterol-fed rabbits (in vivo).

The experimental model of hypercholesterolaemia was used in this work. The complex of biochemical and biophysical research methods consisted of ultracentrifugation, spectrophotometry, chromatography, chemiluminescence, methods with radioisotopes.

Under conditions of incubation of CPM of intact animals for 60 min the level of phospholipids was decreased, the level of fatty acids was increased, intensity of processes of free-radical oxidation (FRO) was significantly increased and activity of Na_+,K_+-ATPase was decreased in control samples of CPM. The analog of vitamin E supplementation at a concentration of 10 μg / ml of the medium significantly prevented the development of these changes. The content of cholesterol remained stable.

Under hypercholesterolaemia (HC) the level of cholesterol and fatty acids was increased, the content of phospholipids was decreased in CPM in comparison with control. It is possible, the one of the important mechanism of development of these changes of lipid structure is intensification of processes of FRO, which is accompanied by significant accumulation of diene conjugate, malondialdehyde, and intensification of spontaneous and induced chemiluminescence of CPM as compared with control. At the same time the activity of Na^+,K^+-ATPase and speed of Na^+/Ca^{2+}-exchange of CPM of experimental animals were decreased in comparison

with control. The HC wasn't accompanied by changes of activity of catalase and superoxide dismutase. But the activity of glutathionreductase was decreased compared with control.

Under supplementation of analog of vitamin E with C6 in the side chain with medicinal and prophylactic purpose per os at the concentration of 5 mg / kg for 30 days to the animals with HC the practically absolute normalization of lipid structure, significant decrease of intensity of processes of FRO, preservation of Na^+,K^+-ATPase activity and speed of Na^+/Ca^{2+}-exchange, increase of glutathionreductase activity were determined.

Thus, for the in vitro and in vivo studies, there are arranged that supplementation of analog of α-tocopherol with C_6 in the side chain is accompanied by normalization of membranes lipid bilayer and function of ion-transported systems and also intensity of processes of FRO and activity of antioxidant enzymes. All of these can be evidence of antioxidant properties and effective membranes protective action of this analog on CPM.

The results of this research work can be the basis of experimental ground of using new preparation of biological active matters for prophylaxis and treatment of cardiovascular pathologies.

The technology of production of C_6-analog of α-tocopherol is protected by patent of Ukraine.

УСИЛИТЕЛИ ЧРЕЗКОЖНОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ ДЛЯ ТРАНСДЕРМАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ

Ларионов В.Б., Кравченко И.А., Александрова А.И., Овчаренко Н.В., Тахтарова А.И.

Одесский национальный университет им. И.И. Мечникова

Исследование новых лекарственных форм является такой же важной проблемой для современной медицины, как и создание лекарственных средств. Трансдермальные терапевтические системы (ТТС) являются одной из перспективных лекарственных форм, обладая такими преимуществами, как атравматичность введения, способность пролонгировать действие включённых в её состав лекарственных препаратов, стабилизация их фармакологического действия.

При создании ТТС с препаратами, проницаемость которых через кожу недостаточна, для создания необходимой терапевтической концентрации в крови, применяют дополнительные вещества, обратимо увеличивающие проницаемость кожи. Они не должны оказывать дополнительного фармакологического действия на организм; не быть токсичными, не вызывать местного раздражения и аллергического воздействия; должны быть полностью совместимы с основным действующим веществом и не вступать с ним во взаимодействие, а также воздействовать на кожу сразу после контакта с ней. Такие усилители проницаемости обычно органического происхождения, принадлежат к различным классам химических веществ. Основной принцип их действия основан на воздействии на основной кожный барьер для чужеродных соединений – роговой слой эпидермиса.

В работе изучено влияние усилителей проницаемости кожи (бензалконий хлорид, мочевина, диметилсульфоксид (ДМСО), диметилформамид (ДМФА) и проназа Е) на величину противосудорожного эффекта (по антагонизму с коразолом), оказываемого феназепамом при его трансдермальном применении (0,4 мг/см^2, гидрогелевая матрица, состоящая из поливинилового спирта и пропиленгликоля).

Максимальное увеличение противосудорожного эффекта (в % от контроля) отмечалось при использовании ДМСО (в 2,82 раза) и ДМФА (в 3,25 раза), что обусловлено изменением текучести липидов рогового слоя и уменьшению коэффициента диффузии феназепама. Бензалконий хлорид (катионный ПАВ) нарушает ультраструктуру мембран, также значительно облегчая процесс диффузии. Мочевина и проназа Е способствуют увеличению проникновения феназепама через кожу, вызывая нарушение структуры белков кожи (коллаген, кератин, белки клеточных мембран) в силу кератолитического действия мочевины и протелитического действия проназы Е (увеличение противосудорожного эффекта ТТС с феназепамом в 2,67 и 3,12 раза соответственно).

Таким образом, нами было показано увеличение проницаемости кожи для феназепама при воздействии на нее различными усилителями проницаемости, а также зависимость эффекта усиления от типа используемого усилителя и его преимущественного механизма действия.

PERMEABILITY ENHANCERS FOR TRANSDERMAL DELIVERY

Larionov V.B., Kravchenko I.A., Aleksandrova A.I., Ovcharenko N.V., Tahtarova A.I.

Odessa National University, Chemical Faculty

The new drug form studying is as important problem for contemporary medicine as new drug search. Transdermal therapeutic systems (TTS) are one of the promising drug form, possessing such benefits as a traumatic drug delivery, prolongation of the pharmacological action and its stabilization.

When using transdermaly drugs possessing the little skin permeability one have to use permeability enhancers. That reversibly change skin permeability and help reach therapeutic drug concentration in the blood. The main requests they must satisfy are absence of the additional pharmacological action on the organism and toxicological action as well; their application must not cause irritation, allergy, and they must be completely compatible with the active ingredient. Permeability enhancers belong to various classes of the organic chemical compounds and the main site of their action is stratum corneum.

In this work the influence of the permeability enhancers (benzalconium chloride, urea, dimethylsulfoxide (DMSO), dimethylforamide (DMFA) and Pronase E) on the anticonvulsive effect (on the antagonism with penthamethylenetetrazole) after transdermal phenazepam administration (0.4 mg/cm^2, hydrogel form, containing phenazepam and propylene glycol).

The maximal arise in anticonvulsive action (in per cent of the control) had been noticed when using DMSO (2.82 times) and DMFA (3.25 times) that is explained by the changes in the stratum corneum lipids fluidity and reducing of the phenazepam diffusion constant. Benzalconium chloride (cationic SAS) disturbs the membrane ultrastructure thus making easy the diffusion process. Urea and pronase E promote phenazepam penetration into the skin causing disorders in protein structure (collagen, keratin, cell membrane proteins) because of the urea keratolythic action and pronase E proteolythic action (anticonvulsive action enlarging in 2.67 and 3.17 times correspondingly).

Thus, it was shown that various enhancers can enlarge the skin permeability for phenazepam. The value of the permeability enhancer effect depends on its primary action mechanism.

ОЦЕНКА МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ПРОИЗВОДНЫХ L-ГЛУТАМИНА И L-ФЕНИЛАЛАНИНА

И.О. Леднёва, Л.И. Нефёдов, М.Г. Величко, А.Н. Бородинский, Л.М. Караедова, А.В. Каравай

Институт биохимии НАНБ, Гродно, Беларусь
e-mail: val@biochem.unibel.by

В настоящее время особое внимание уделяется L-аминокислотам и их производным, обладающим широким спектром биологического действия. Во второй половине 80-х годов установлена противоопухолевая активность производных L-глутаминовой кислоты и L-фенилаланина. Однако практически не исследованы метаболические эффекты этих потенциальных противоопухолевых средств на организм опухоленосителей. В связи с этим проблема изучения изменений метаболизма в организме крыс-опухоленосителей при введении производных L-глутамина и L-фенилаланина и выявление возможности коррекции этими соединениями нарушений, индуцированных опухолевым ростом, представляется весьма актуальной.

Экспериментальные исследования in vivo проводили на белых крысах Wistar CRL:(WI) WU BR массой 150–200 г. Карциносаркому Уокера 256 (W-256), саркому М-1 (SM-1), альвеолярный рак печени (РС-1) перевивали подкожно (~10^6 клеток). Лечение начинали через 24 ч (W-256), на 4-5 сут. (SM-1), на 7 сут. (РС-1) после трансплантации опухолей. L-глутамин, ацетилглутамин, фенилацетат, низкомолекулярные пептиды (НМП) AS2-1, AS2-5 и предложенную нами композицию 1 (приоритетная справка № 19990937) вводили внутрижелудочно (в эквимолярных дозах: 68, 88, 107, 125, 194 и 134 мг/кг, соответственно) 2 раза в день в течение 10 суток Животных декапитировали через 24 ч после окончания лечения.

Установлено, что производные L-глутамина и L-фенилаланина (AS2-1, AS2-5, композиция 1) уменьшают системное действие опухоли на организм, нормализуя нарушенный азотистый и углеводный обмен у крыс-опухоленосителей W-256, РС-1. Метаболические эффекты исследуемых соединений реализуются через изменение активности ферментных систем гликолиза, пентозофосфатного цикла, трансаминирования, утилизации и наработки субстратов гликолиза. Впервые получены данные о взаимосвязи метаболических эффектов производных L-глутамина и L-фенилаланина с их

противоопухолевой активностью. Разработанная новая композиция 1, проявляющая выраженные метаболические эффекты в организме крыс-опухоленосителей, обладает также большей цитостатической активностью по сравнению с прототипом – AS2-1 (приоритетная справка № 19990937).

Установлено, что введение композиции 1 крысам-опухоленосителям W-256, SM-1 и PC-1 сопровождается снижением уровня глутамина в указанных опухолях. Одновременно суммарное содержание аминокислот, конкурирующих с глутамином за общую систему трансмембранного переноса увеличивается в опухолевой ткани на 20%. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют в пользу "антиглутаминового" механизма действия НМП, который заключается в создании функционального дефицита глутамина в опухоли, что чрезвычайно важно с точки зрения регуляции деления опухолевых клеток

Полученные данные обосновывают возможность применения некоторых производных L-глутамина и L-фенилаланина (композиция 1, AS2-1, AS2-5) с целью повышения противоопухолевой резистентности организма для противоракового лечения и реабилитации онкологических больных.

ASSESSMENT OF METABOLIC EFFECTS OF L-GLUTAMINE AND L-PHENYLALANINE DERIVATIVES HAVING ANTITUMOR ACTIVITY

I.O. Ledneva, L.I. Nefyodov, M.G.Velichko, A.N.Borodinsky, L.M. Karayedova, A.V, Karavay

Institute of Biochemistry, NAS of Belarus
e-mail: val@biochem.unibel.by

At present special attention is paid to L-amino acids and their derivatives having a wide range of biological activity. In the late 80s antitumor activity of L-glutamine and L-phenylalanine was found. However, metabolic effects of these potential antitumor drugs on the body of tumor-bearers remain essentially unstudied. In this connection, the problem of studying changes in the body of tumor-bearing rats after the administration of L-glutamine and L-phenylalanine and revealing the possibility of correction of tumor growth - induced disturbances by these compounds appears to be quite topical.

The in vivo experimental studies were carried out on Wistar CRL;(WI) WU BR albino rats weighting 150-200 g. Walker 256 (W-256), sarcoma M-1 (SM-1) and liver alveolar carcinoma (PC-1) were transplanted subcutaneously (~10^6 cells). The treatment was started after 24 h (W-256), on days 4-5 (SM-1) and on day 7 (PC-1) after tumor transplantation. L-glutamine, acetylglutamine, phenylacetate, low-molecular-weight peptides (LMWP), AS2-1, AS 2-5 and our composition 1 (priority certificate N 19990937) were administered intragastrically (at equimolar doses of 68, 88, 107, 125, 194 and 134 mg/kg, respectively) twice a day during 10 days. The animals were decapitated 24 hours after cessation of the treatment.

It was found that L-glutamine and L-phenylalanine derivatives (AS2-1, AS2-5, composition 1) decreased the systemic effect of the tumor on the body, normalizing the disturbed nitrogen and carbohydrate metabolism in W-256- and PC-1-bearing rats. The metabolic effects of the compounds studied were realized via changed activities of the enzyme systems of glycolysis, pentose phosphate pathway, transamination, utilization and production of glycolytic products. The data on relationships between the metabolic effects of L-glutamine and L-phenylalanine and their antitumor activities were obtained for the first time. The new composition 1 developed, which manifested pronounced metabolic effects in the body of tumor-bearing rats, also had high cytostatic activity as compared with the AS2-1 prototype (priority certificate N 199990937).

It was established that the administration of composition 1 to W-256 -, SM-1 -, and PC-1 - bearing rats was accompanied by a decreased level of glutamine in the above tumors. The overall content of amino acids competing with glutamine for the common system of transmembranous transfer was simultaneously increased by 20%. The experimental data obtained indicate an"antiglutamine" mechanism of LMWP effect which involves production of functional glutamine deficiency in the tumor, which is especially important from the point of view of regulation of tumor cell division.

The data obtained substantiate the possibility of application of some L-glutamine and and L-phenylalanine derivatives (composition 1, AS2-1, AS2-5) for antitumor treatment and rehabilutation of oncological patients to increase antitumor resistance of the body.

ВЛИЯНИЕ ОБЛЕПИХОВО-КАМФОРНОГО МАСЛА,ПОЛУЧЕННОГО РАЗЛИЧНЫМИ ЭКСТРАКЦИОННЫМИ ТЕХНОЛОГИЯМИ,НА УРОВЕНЬ СВОБОДНОГО ГЕПАРИНА КРОВИ У КРЫС РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП

Мадоян М.В.

Киевская медицинская академия последипломного образования им.П.Л.Шупика

Исследования проведены на белых крысах-самцах трех возрастных груп: неполовозрелые (3-х месячные, массой 70-100 г), половозрелые, взрослые крысы (6-8 месяцев,масой 180-220 г) и старые (20-24 месяца, массой 300 г и более) [Клещ И.М. и др., 2001] .

Изучали влияние облепихово-камфорного масла, полученного различными экстракционными технологиями на уровень свободного гепарина крови крыс различных возрастных групп. Гепарин составляет 1-5 % общего уровня сульфатированных полисахаридов тканей, при этом он существует в виде различных фракций, которые отличаются остатками серной кислоты и молекулярной массой [Видиборець С.В. та ін., 1999] . Физиологическое значение гепарина трудно переоценить, учитывая его выраженные антикоагуляционные свойства.Поэтому гепарин широко применяется с лечебно-профилактической целью при заболеваниях сердца, мозга и др. [Малая Л.Т., Дыкун Я.В., 1998; Нетяженко В.З., 1999; Ушакова Г.А., 1999]. Однако, с профилактической целью лучше применять мягкие активаторы выработки гепарина природного происхождения. Исследования, проведенные на протяжении последних 10 лет показали, что к ним относится и новое облепихово-камфорное масло. Новое масло мы получали технологиями, отличающимися экстрагентами и условиями экстракции. Были использованы хладоны, углекислота и органические растворители, в частности, хлороформ и гексан. Можно было ожидать изменений степени биологической эффективности масел, полученных различными технологиями. Проверить это предположение мы решили, изучая влияние полученных масел на уровень гепарина крови крыс различных возрастных групп.Масла вводили на протяжении месячного курса. Наиболее выраженная активация уровня свободного гепарина была получена у старых животных.У старых животных количество свободного гепарина на 30-40% меньше, чем у взрослых.Курсовое пероральное введение облепихово-камфорного масла на протяжении месяца увеличивало уровень гепарина в большей степени, чем у молодых животных. Учитывая, что масло является каротинсодержащим, ежедневную и курсовую дозу мы рассчитывали исходя из концентрации каротина. В течение месячного курса лечения маслом вводили его количество, содержащее 300 мг/кг каротина. Единственным, разрешенным к применению в медицине для перорального введения препаратом,содержащим камфору является Бальзам Битнера. Это комплексный спиртовый препарат,содержащий наряду с растительными экстрактами, камфору. Очевидно последняя является одним из наиболее эффективных составляющих препарата. В новом облепихово-камфорном масле камфора находится в масляном растворе, что значительно снижает возможные побочные эффекты и раздражающее действие на слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта. Дальнейшее изучение облепихово-камфорного масла позволит более широко использовать этот полезный препарат в условиях клиники, прежде всего при сердечно-сосудистых заболеваниях, протекающих с нарушениями процесса свертывания крови и гиперкоагуляцией.При разработке нормативно-технической документации необходимо учитывать полученные нами данные о одинаковой эффективности нового масла при его экстрагировании из сырья хладоном,углекислотой или органическими растворителями. Наиболее приемлимой нам представляется хладоновая технология получения нового масла.

ВЫДЕЛЕНИЕ И ПРИМЕНЕНИЕ ТРОФИНОТРОПИНА "ЦЕРЕБРАЛ®" – РЕГУЛЯТОРА НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ПРИ ОСТРОМ ГЕМОРРАГИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ

Макаренко А.Н., Григорьева Е.В.

Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины
e-mail: makarenko@yurteh.net

Отсутствие эффективных препаратов для лечения острых и хронических нарушений мозгового кровообращения, в том числе геморрагических инсультов – актуальная и нерешенная проблема современной нейропсихофармакологии. Она требует целенаправленного поиска и изучения новых групп фармакологических средств. В этом плане особый интерес представляет группа продуцированных мозгом биологически-активных факторов, которые образуются в клетках головного мозга при их альтерации.

На основе фундаментальных подходов проведено исследование состава и механизма фармакологического действия инновационного антиинсультного трофинотропного средства "Церебрал®" – эндогенного регулятора синтеза и секреции цитокинов, которые образуются в нейронах вследствие моделирования геморрагического инсульта (патенты Украины N24299 от 07.07.98 г. и РФ N183972 от 10.08.93 г., свидетельство Украины о знаке N16295 от 15.09.2000 г.).

После изучения хроматографического профиля активных субфракций трофинотропина установлено, что нейропептидные факторы "Церебрала®" (Мм 280 - 500 и 1000 - 1200 Да) характеризуются нейропротекторным действием в остром периоде развития аутогеморрагического инсульта.В опытах на белых мышах интраназальное применение "Церебрала®" при этой патологии (0,1 мг/кг 1 раз в сут в течение 7 дней) способствовало уменьшению процента погибших особей (до 50 %). Трофинотропин реализует свое регуляторное влияние путем активации синтеза и секреции ростового фактора нервной ткани (NGF), который стимулирует репаративные процессы в зоне поражения мозга. "Церебрал®" восстанавливат движения конечностей опытных животных, уменьшает проявления дискоординационных нарушений, нормализует трофику их кожи и волосяной покров (патент Украины N10279 от 17.01.1997 г).

Пептидные факторы "Церебрала®" характеризуются разноплановым фармакологическим действием. Воздействуя на центральные звенья нейро-иммунной регуляции, трофинотропин предотвращал значительное снижение массы тимуса, уменьшение синтеза гемолизинов, активацию реакции гипер-чувствительности замедленного типа (Аркадьев В.Г. и соавт., 2001). Трофинотропин "Церебрал®" оказывает положительное влияние на процесс антителообразования и не нарушает развитие иммунных клеточных реакций при инсульте.

Полученные данные свидетельствуют о перспективности его применения в ранние периоды развития инсульта в виде назальных лекарственных средств. Однако в свете требований о прионовой безопасности биологически активных веществ современное применение "Церебрала®" возможно лишь после реализации стадии биотехнологического или синтетического получения данного антиинсультного средства.

SECRETION AND APPLICATION OF TROPHYNOTROPIN "CEREBRAL" – THE REGULATOR OF NERVE TROPHIC FACTORS OF ACUTE HAEMORRHAGIC STROKE

Makarenko A.N., Grygorieva E.V.

Institute of Pharmacology and toxicology AMS of Ukraine
e-mail: makarenko@yurteh.net

Absence of effective preparations for treatment of acute and chronic breaches of cerebral blood circulation (haemorrhagic strokes) is actual and not decided problem of nerve-psycho-pharmacology. It demands active search and studying new groups of pharmacological remedies. Group of brain-secreted biological-active factors, which formate in brain cells in the time of alteration is very interesting.

Research of composition and mechanism of pharmacological activity of anti-stroke trophynotropin "Cerebral" - the regulator of synthesis and secretion of cytokines, which is formate in neurons as a result of modeling of haemorrhagic stroke, is hold on the base of fundamental approaches (Pat. of Ukraine N24299 07.07.1998; RU N 183972 10.08.1993).

After study the chromatic profile of active substances of trophynotropin is determined, that nerve peptid factors of "Cerebral" (Mm 280-500 and 1000-1200 Da) have nerve-protector properties in acute period of auto-haemorrhagic stroke. In experiments on white mice intranasal using of "Cerebral" (0,1 mg/kg one time a day for 7 days) furthers decreasing percentage of dead mice (50%). Trophynotropin realizes regulating influence by the way of synthesis and secretion activation of nerve growth factor (NGF), which activates reparative processes in zone of brain damage. "Cerebral" recovers movements in extremities of experimental animals, decreases manifestations of coordination breaks, makes trophic processes in skin and hear cover normality (Pat. of Ukraine N 10279 17.01.1997).

Peptide factors of "Cerebral" have heterogeneous pharmacological activity. Trophynotropin prevented mass decreasing of thymus hemolysins synthesis decreasing activation of allergic reactions by influence on central links of neuroimmunological regulation (Arkadiev V.G., 2001). Trophynotropin "Cerebral" renders good assistance on antibody formation processes and doesn't break development of cell immune reaction of stroke.

Received information evidences about perspective of its using as nasal preparation in acute periods of stroke. But taking into account requirements about prion safety of biological-active preparations, modern using of "Cerebral" is possible only after realization of biotechnological receiving of this anti-stroke remedy.

АНТИГЕРПЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МОЛЕКУЛЯРНОГО КОМПЛЕКСА ДРОЖЖЕВАЯ РНК – ТИЛОРОН

Марченко Н.О., Шевчук О. И., Антоненко С.В.[1], Жолобак Н.М. [2], Карпов А.В.[2]

Украинский государственный университет пищевых технологий, Киев,
[1] Киевский научно-исследовательский ініститут эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В.Громашевского АМН Украины, Киев
[2] Институт микробиологии и вирусологии им.Д.К.Заболотного НАН Украины, Киев
e-mail: karpov_av@hotmail.com

Известно, что вещества, способные индуцировать биосинтез интерферонов I типа (α/β-ИФН), как правило, обладают неспецифической противовирусной активностью. Ранее нами было показано, что интерфероиндуцирующий молекулярный комплекс, образующийся при взаимодействии дрожжевой РНК с 2,7-бис[2-(диэтиламино-этокси)-флуорен]-9-он дигидрохлоридом (тилороном) (МК), проявляет достаточно существенный антивирусный эффект по отношению к ряду вирусов, включая вирус иммунодефицита человека. Исходя из актуальности задачи поиска препаратов, эффективных в отношении вируса простого герпеса I типа (HSV-1), исследовали влияние МК на экспериментальных животных (мыши), инфицированных HSV-1. При этом специфический противовирусный эффект оценивали на основании уровней продолжительности жизни инфицированных животных. Степень ингибиции репликации HSV-1 устанавливали, исходя из результатов цепной полимеразной реакции (ЦПР). Поскольку противовирусное действие практически всех индукторов ИФН осуществляется в основном путем активации цитокиновой системы организма, определяли уровни сывороточного ИФН и фактора некроза опухоли (ФНО) в сыворотках крови и клетках селезенки инфицированных животных под влиянием МК.

Установлено, что МК достоверно пролонгировал продолжительность жизни инфицированных животных; введение МК приводило к снижению репродукции HSV-1 в сыворотке и тканях мозга инфицированных животных на следующий день после воздействия МК на 75 lg ± 0,07 и 1,08 lg ± 0,02, соответственно, а на пятый день после воздействия МК на 2,08 lg ± 0,05 и 1,47 lg ± 0,02, соответственно. Уровень сывороточного ИФН повышался до 20000 МЕ/мл на второй день после обработки МК, высокие уровни ІФН наблюдались и на 4 день после воздействия МК. (10000-15000 МЕ/мл). Наивысшие концентрации ИФН в спленоцитах отмечались в течение первого и второго дня после воздействия МК (312-160 МЕ/мл), снижаясь до 80 МЕ/мл на четвертый день. На первый и второй день после воздействия МК уровни ФНО у инфицированных животных снижались на 63% и 67% соответственно. Эти результаты подтверждали, что эффект МК на организм HSV-1-инфицированных животных обусловлен действием индуцированного этим соединением ИФН. В сумме полученные данные позволяют сделать вывод относительно возможной перспективности применения МК в качестве анти- HSV-1 агента.

ANTIHERPETIC ACTIVITY OF THE YEAST RNA-TILORONE MOLECULAR COMPLEX

Marchenko N.A., Shevchuk O.I., Antonenko S.V.1, Zholobak N.M.2, Karpov A.V.2

Ukrainian state university of food technologies, Kiev,
1L. Gromachevsky research institute of epidemiology & infection deases Acad. Med. Sci. Ukraine, Kiev
2 D. Zabolotny Institute of microbiology & virology Natl. Acad. Sci.Ukraine, Kiev

A lot of interferon I type (α/β-IFN) substances are usually known to possess non-specific antiviral activity. An IFN-inducing molecular complex (MC) formed during yeast RNA and 2,7-bis[2-(diethanoxy-)-fluoren]-9-on(tilorone) possesses a marked antiviral effect concerning some viruses including also the human immunodeficiency virus. Taking into consideration the importance of drug research effective against the herpes simplex virus type I (HSV-1), the authors have investigated the MC effect in experimental animals - HSV-1-infected mice. The specific antiviral effect was evaluated taking into account the duration of animal survival. The levels of inhibition of the HSV-1 replication has been estimated by a polymerase chain reaction (PCR)

approach. The action of almosr all IFN inducers being realized by organism's cytokine system activation, we have evaluated serum INF levels and spleen tumor necrosis factor (TNF) levels developed following MC introduction.

The MC is shown to prolongate the survival of infected animals; in a day following MC treatment the levels of the HSV-1 replication levels in sera and brain tissues have decreased by 7,5 lg ± 0,07 and by 1,08 lg ± 0,02, respectively; on the fifth day these markers have been 2,08 lg ± 0,05 and 1,47 lg ± 0,02, respectively. The serum IFN levels have increased up to 20000 IU/ml on the second day following treatment, its high concentrations (10000-15000 IU/ml) have been also determined also on the fourth day following MC administration/ The highest IFN levels in spleenocytes have been registered during the first and the second day following MC treatment (312-160 IU/ml), the IFN level having been decreased up to 80 IU/ml on the fourth day. The TNF factors in infected animals have decreased by 63 % and by 67 % on the first and on the second day following treatment, respectively. These data confirm the MC effect on infected animal organisms is due to the IFN induced by this substance. All these results permit to think about MC use as an anti-HSV-1 agent.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ В МЕДИЦИНЕ ОТЕЧЕСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО ИНГИБИТОРА ЛИПАЗ

Маслова Н.Ф., Носальская Т.Н., Макарова Е.Г.

Государственный научный центр лекарственных средств (ГНЦЛС).
e-mail: NosalskayaT@rambler.ru

Развитие воспалительного процесса в организме характеризуется воздействием эндо- и экзогенных фосфолипаз на фосфолипиды клеточных мембран. При этом в каскад воспалительной реакции включаются медиаторы воспаления, приводящие к дальнейшему разрушению клетки и утяжелению патологического процесса.

В настоящее время в медицинской практике широко применяются противовоспалительные средства с различным механизмом действия. Однако среди них отсутствуют препараты, действие которых направлено на ингибирование активности фосфолипазы A_2 ($АФА_2$). Такие препараты особенно представляют интерес в терапии воспалительных процессов верхних дыхательных путей (ВДП), поджелудочной железы (ПЖ).

В ГНЦЛС разработан и внедряется в медицинскую практику растительный ингибитор липазы (ИЛ) (патент № 15101148).

С целью создания препарата на основе ИЛ необходимо изучить его ингибиторную активность в опытах in vitro и на различных моделях воспаления.

Методы. Ингибиторную активность определяли по способности угнетать активность липазы (АЛ) животного и растительного (нигедаза) происхождения. Использованы следующие модели: воспаление ВДП, вызванное введением в угол глоточного свода крыс скипидара; вирусного воспаления легких мышей линии BLAK; панкреатита - по методу Малхасян В.А.

Оценивали: АЛ, $АФА_2$ ткани гортани крыс и легочной ткани мышей, малоновый диальдегид (МДА), диеновые конъюгаты (ДК) в ткани гортани, а также проводили патологоморфологические исследования.

Результаты. ИЛ проявляет (на 100%) угнетающее действие на АЛ (производства Олаинского завода), гомогената ПЖ крыс (на 74%) , нигедазы (на 90%).

В опытах на крысах с воспалением ВДП, орошение ИЛ в дозе 0,2 мл/кг уменьшает отечные явления, снижает повышенную АЛ и $АФА_2$ тканей дыхательных путей. Аналогичная нормализация АЛ под влиянием ИЛ, выявлена в опытах на мышах с вирусным воспалением легких. Указанное действие ИЛ имеет существенные преимущества в сравнении с Ингалиптом, Каметоном, 2% раствором хлорофиллипта по эффекту и срокам нормализации изученных показателей. Динамика изменений ДК и МДА коррелирует с нормализацией АЛ.

Аналогичное снижение АЛ наблюдается при хроническом панкреатите. Ингибирование панкреатической липазы при данной патологии выражено более чем на 60% на пике воспалительной реакции.

На основании полученных данных можно сделать вывод о целесообразности разработок на основе ИЛ препарата для лечения воспалительных заболеваний, а также учитывая его способность угнетать АЛ – препарата для лечения панкреатита и ожирения.

PHARMACOLOGICAL ASPECTS Of DOMESTIC PLANT LIPASE INHIBITOR MEDICINAL USE

Maslova N.F., Nosalskaya T.N., Makarova E.G.

State Scientific Centre of Drugs (SSCD)
e-mail: NosalskayaT@rambler.ru

The inflammation development in the body is characterized by an influence of endogenous and exogenous phospholipases on cell membrane phospholipids. In this case the mediators of inflammation bringing to further cell destruction and more serious pathological process are included in the inflammations reaction cascade.

At present the antiinflammatory drugs with various mechanism of action are widely used in medical practice. But among them the drugs with effect to inhibition of phospholipase A_2 ($AphA_2$) activity are lacking. These drugs are of interest especially in therapy inflammation processes in upper respiratory tract (URT) and pancreas.

In SSCD the plant lipase inhibitor (LI) was developed and had been implemented now to the medical practice (patent № 15101148).

With the purpose of drugs creation on basis of LI it is necessary to study its inhibitor activity in experiments in vitro and on various models.

Methods. The inhibitor activity was determined by the capacity to depress the lipase (LA) of animal and plant (nigedase) origin activity. The following models were used: URT inflammation induced by turpentine introduction in the angle of rat pharynx vault; viral pneumonia in mice of BLAK line; pancreatitis – following the method of V.A.Malkhasyan.

The LA, $AphA_2$ of rat larynx tissue and mice pulmonary tissue, malonic dialdehyde (MDA), diene conjugates (DC) in larynx tissue were estimated and patomorphologic investigations were carried out.

Results. LI demonstrates the depressing action on LA (manufactured by Olainsky plant) (100%), rat pancreas homogenate (74%), nigedase (90%).

In experiences on rats with URT inflammation, the LI irrigation in a dose of 0,2 mL/kg reduces the edematic effect and decreased the increased LA and $AphA_2$ of respiratory tract tissues. The similar normalization of LA under the LI effect was revealed in experiments on mice with viral pneumonia. The stated LI effect possess the substantial advantages compared to Ingalipt, Cameton, 2% chlorophyllipt solution in effect and normalization terms. The dynamics of DC and MDA changes correlates with the LA normalization.

The similar LA decreasing have been observed at chronic pancreatitis. The inhibition of pancreatic lipase at this pathology is expressed by more than 60 % at the peak of inflammation reaction.

On the basis of the data obtained it may be concluded about the advisability of works on basis of LI drugs for treatment inflammatory diseases, as well, taking into account the capability of one the LA, the drugs for pancreatitis and obesity treatment.

ИЗБИРАТЕЛЬНОЕ РЕГУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА РАЗЛИЧНЫЕ УРОВНИ ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ ПОЛИМОРФНОЯДЕРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Л.А.Метелица, Л.Л.Чарочкина, С.Е. Могилевич
Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины.

e-mail: LarisaC@bpci.kiev.ua

Известно, что для выбора оптимальных методов лечения и контроля эффективности лечебных мероприятий, подбора способов профилактики ряда заболеваний, а также для изучения влияния на организм эндо - и экзофакторов различной этиологии, в том числе лекарственных средств, имеет значение оценка состояния естественной резистентности организма, важным механизмом которой является фагоцитоз. Фагоцитоз, осуществляемый преимущественно нейтрофилами и макрофагами, является обязательным звеном индукции и формирования специфического иммунного ответа, одним из важнейших критериев уровня функциональной активности полиморфноядерных лейкоцитов (ПМЯЛ) при течении ряда заболеваний, в том числе бактериальных инфекций.

Ранее было показано, что фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови человека может значительно отклоняться от нормы и условно разделена на относительно низкую, среднюю и высокую.

В связи с этим целью настоящего исследования было изучение воздействия ряда широко используемых в медицинской практике лекарственных средств, принадлежащих к различным фармакологическим группам, на фагоцитарную активность ПМЯЛ периферической крови доноров при различных исходных уровнях фагоцитоза.

Исследования проводили на образцах крови, полученных от 26 практически здоровых доноров. Модель фагоцитоза воспроизводили в соответствии с общепринятыми рекомендациями. Тест-культурой служила взвесь суточной культуры St. Aureus (штамм 209). Для исследования были выбраны лекарственные препараты различных фармакологических групп: обзидан, изадрин, мезатон, адреналин (средства, действующие на периферические адренергические процессы); циклофосфан (противоопухолевый препарат); димедрол (антигистаминный препарат); АТФ (стимулятор метаболических процессов), вольтарен (нестероидное противоспалительное средство); атропин (действующий на периферические нейромедиаторные процессы); папаверин и теофиллин (сосудорасширяющие и спазмолитические средства). Конечная концентрация препаратов составляла $2{,}5 \cdot 10^{-5}$моль/л.

Было показано, что влияние исследованных препаратов на фагоцитарную активность ПМЯЛ не определялось их принадлежностью к какой-либо фармакологической группе. Выраженность и направленность действия лекарств носят регулирующий характер и обусловлены уровнем исходной фагоцитарной активности ПМЯЛ. Полученные данные могут быть использованы при определении показаний для применения лекарственных средств в зависимости не только от стадии и тяжести патологического процесса, но и от исходного состояния иммунологической реактивности организма.

SELECTIVE REGULATING ACTION OF DRUGS ON DIFFERENT LEVELS OF THE PHAGOCYTIC ACTIVITY OF HUMAN BLOOD POLYMORPHONUCLEAR LEUKOCYTES

L. Metelitsa, L. Charochkina, S. Mogilevich

Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry NAS of Ukraine.

e-mail: LarisaC@bpci.kiev.ua

It is known, that the evaluation of a status of natural resistance of the organism is very important for a choice of optimum methods of medical treatment and control of efficiency of medical measures, selection of ways of preventive maintenance of diseases, and also for study of influence on the organism of endo- and exofactors of various etiology, including drugs. Phagocytosis, carried out mainly by neutrocytes and macrophagocytes, is an obligatory part of specific immunity induction and formation, one of the major criterion of polymorphonuclear leukocytes (PMNL) functional activity during some diseases, including bacterial infections.

It was earlier shown, that phagocytic activity of neutrocytes of human blood can considerably deviate from norm and is conditionally divided on rather low, average and high.

The purpose of the present research was study of influence of some drugs of various pharmacological groups on donor blood phagocytic PMNL activity at various initial levels of the phagocytosis.

The research was spent on samples of blood received from 26 practically healthy donors. Model of the phagocytosis reproduced according to the standard techniques. The test - culture of the St. aureus (culture 209) was used. The following drugs were tested: propranolol, isoproterenol, phenylephrine, epinefrin (effectors of peripheral adrenergic processes); cyclophosphan (antitumour preparation); diphenhydramin (antihistamin preparation); ATP (stimulant of metabolic processes), voltaren (nonsteroid antiinflammatory preparation); atropin (effector of peripheral neuromediatory processes); papaverin and theophyllin (vasodilator and antispasmolytic preparations). Final concentration of preparations was $2{,}5 \cdot 10^{-5}$mol/l.

It was shown that the influence of the investigated preparations on PMNL phagocytic activity was not determined by their belonging to any pharmacological group. Effectiveness and direction of drugs action is of regulating character and caused by a level of initial PMNL phagocytic activity. Obtained data can be used at definition of the indications for drugs usage according not only to stage and seriousness of pathological process, but also to initial immune status of organism.

АКТИВНЫЕ СУБСТАНЦИИ ЗОЛОТИСТОГО СТАФИЛОКОККА МОДИФИЦИРУЮТ ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ СОКРАТИТЕЛЬНОГО АППАРАТА ВИСЦЕРАЛЬНЫХ МЫШЦ.

Мирошниченко Н. С., Давидовская Т. Л., Цимбалюк О. В.

Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко, кафедра биофизики,
e-mail: mirosh@biocc.univ.kiev.ua.

В работе изучали влияние активных субстанций золотистого стафилококка (белок А (БА), и пептидогликан (ПГ)) на АТФ-азную активность актомиозина и миозина миокарда крупного рогатого скота и гладких мышц желудка свиньи. Было установлено, что в присутствии ПГ, который использовали в концентрациях 10^{-6} - 10^{-2} мг/мл, Mg^{2+}-Ca^{2+}-АТФ-азная активность гладкомышечного и сердечного актомиозина оставалась в пределах контрольных показателей. В тех же условиях Ca^{2+}-АТФ-азная активность миозина независимо от концентрации ПГ уменьшалась. В присутствии 10^{-2} мг/мл ПГ она составляла для миозина гладких та сердечной мышц, соответственно, 20,98±2,2 и 61,44±1,2% относительно контроля, (n=12). Белок А действие которого исследовали в диапазоне концентраций 10^{-6} - 10^{-2} мг/мл, вызывал увеличение АТФ-азной активности миозина и актомиозина. Увеличение активности, которое наблюдалось в данном случае, зависело от концентрации БА. Показатели Mg^{2+}-Ca^{2+}-АТФ-азной активности актомиозина были менее чувствительны к действию БА, по сравнению с Ca^{2+}-АТФ-азной активностью миозина. В обоих случаях, больший эффект наблюдался на препаратах сократительных белков гладких мышц. Исследования в присутствии донора оксида азота - нитропруссида натрия (НПН), 5 ммоль/л, угнетающего АТФ-азу миозина (действие на существенные SH-группы), показали, что БА и ПГ (10^{-2} мг/мл) нивелировали действие НПН на Mg^{2+}-Ca^{2+}-АТФ-азную активность актомиозина миокарда.

Такие результаты свидетельствуют о том, что БА и ПГ способны взаимодействовать с белками сократительного аппарата сердечной и гладких мышц, вызывая разнонаправленные эффекты на их АТФ-азную активность. Опыты с НПН показали, что действие субстанций сопровождается, в частности, модифицированием непосредственно АТФ-азного центра миозина. Полученные в работе данные позволяют предположить, что активные субстанции золотистого стафилококка могут в перспективе быть использованы для разработки препаратов изменяющих сократительную активность мышц.

THE ACTIVE SUBSTANCES OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS MODIFY THE FUNCTIONING OF THE CONTRACTILE APPARATUS OF VISCERAL MUSCLES

Miroshnichenko N. S., Davidovskaya T.L., Tsimbaluk O. V.

Department of Biophysics, Shevchenko Kiev University,
e-mail: mirosh@biocc.univ.kiev.ua

The influence of the Staphylococcus aureus active substances (protein A (PA) and peptidoglykan (PG)) on the ATPase activity of actomyosin and myosin of the cattle cardiac and the pig smooth muscles was studied. It was established that in the presence of PG in concentrations of 10^{-6} - 10^{-2} mg/ml the smooth muscle and cardiac actomyosin Mg^{2+}-Ca^{2+}-ATPase activity remained within the control limits. Under the same conditions Ca^{2+}-ATPase activity of myosin decreased independently of the concentration of PG. In the presence of 10^{-2} mg/ml PG it comprised for the smooth muscle and the cardiac myosin, correspondingly, 20,98±2,2 and 61,44±1,2% relative to control (n=12). Protein A used in the range of concentrations 10^{-6} - 10^{-2} mg/ml caused an increase in the myosin and actomyosin ATPase activity. This observed increase in the activity dependeded on the concentration of PA. The parameters of the actomyosin Mg^{2+}-Ca^{2+}-ATPase activity were less sensitive to the action of PA compared to the myosin Ca2+-ATPase activity. In both cases, larger effect was observed using the preparations of the smooth muscles contractile proteins. Studies in the presence of the donor of nitric oxide - sodium nitroprussid (SNP), 5 mmol/l, which is capable to inhibit ATPase activity via the essential sulfhydryl groups of the ATPase center of myosin molecule, showed that PA and PG (10^{-2} mg/ml) abolished the action of SNP on the cardiac actomyosin Mg^{2+}-Ca^{2+}-ATPase activity.

These results show that PA and PG can interact with the contractile proteins of cardiac and smooth muscles, causing an opposite effects on their ATPase activities. Experiments with SNP showed that the action of the substance is accompanied, in particular, by the modification of the myosin ATPase center. Data obtained make it possible to assume that the active substances of Staphylococcus aureus can be used as components of drugs for changing the muscles contractile activity.

ОЦЕНКА ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЭФФЕКТОВ СЕРУСОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТ И ИХ СМЕСЕЙ

Мицкевич И.А., Величко М.Г.

Институт биохимии НАН Беларуси

e-mail: val@biochem.unibel.by

Аминокислоты являются низкомолекулярными биорегуляторами метаболических процессов в организме и используются в качестве коррегирующих средств при нарушениях обмена веществ при различных патологиях, в том числе, при раке.

Характеристика механизмов действия метаболически активных аминокислот и их производных, полученных по новым технологиям, невозможна без учета активности ферментов, и в частности, активности аминотрансфераз, так как трансаминирование обеспечивает метаболизм аминокислот в организме. В последнее время проводятся клинические испытания новых противоопухолевых препаратов – производных аминокислот не только природного, но и искусственного происхождения.

В нашей работе проведен скрининг новых композиций аминокислот с разветвленной цепью как перспективных противоопухолевых препаратов. Изучена их метаболическая активность в организме животных-опухоленосителей.

Материалы и методы. Опыты выполнены на белых беспородных мышах массой 22-24 г, которым внутрибрюшинно была перевита асцитная опухоль Эрлиха в количестве 20 млн. клеток. Для оценки противоопухолевой и метаболической активности изучаемые соединения вводили интактным и опухолевым животным (по 6 животных в группе) в индивидуальных поилках в следующих дозах: триптофан – 100 мг/кг, таурин – 95 мг/кг, валин – 85мг/кг, изолейцин – 65 мг/кг, лейцин – 255 мг/кг, а также тавамин-новый комплекс серусодержащих аминокислот в составе тавамина в разных дозировках: тавамин I – 250 мг/кг и тавамин II – 500 мг/кг (состав тавамина: лейцин – 51%, таурин – 19%, валин – 17%, изолейцин – 13%). Все аминокислоты и их смеси вводили в эквимолярных дозах в течение 12 суток. Контрольные животные (интактные и опухоленосители) получали в поилках дистилированную воду.

На протяжении всего эксперимента проводили контрольное взвешивание животных. Декапитацию животных проводили на 13 сутки. После декапитации у всех животных оценивали массу тимуса, селезенки, почек. У животных с опухолью дополнительно оценивали объем асцитной жидкости и объем опухолевых клеток. В ткани печени определяли активность пиридоксальзависимых ферментов-аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ).

Результаты и обсуждение.

В результате проведенных исследований выявлено, что у интактных опухолевых животных активность АлАТ была выше на 297% по сравнению с интактным контролем. Моноаминокислоты (триптофан, таурин, валин, изолейцин, лейцин) у интактных животных вызывали активацию АлАТ на 35-159%, активность АсАТ практически не изменялась. У животных опухоленосителей не наблюдали этой закономерности. У интактных животных, получавших тавамин, снижалась активность ферментов, а у опухолевых животных наблюдалось достоверное повышение активности изучаемых ферментов. Кроме того, применение тавамина приводит к уменьшению количества опухолевых клеток и объема асцита, способствует сохранению массы тимуса, селезенки, почек, что указывает на биорегуляторные свойства изучаемого комплекса.

Таким образом, считаем целесообразным использование смесей аминокислот для коррекции обменных процессов у животных-опухоленосителей.

АНТИАДЕНОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 6-АЗАЦИТИДИНА, СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ВЗАИМОСВЯЗИ И ПЕРСПЕКТИВЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ

Носач Л.Н., Алексеева И.В.*, Жовноватая В.Л., Кузмин В.Е.**, Дяченко Н.С.,Артеменко А.Г.**, Повница О.Ю., Усенко Л.В.*

*Институт микробиологии и вирусологии НАНУ; * Институт молекулярной биологии и генетики НАНУ; ** Физико-химический институт НАН Украины*
e-mail: dyachenko@serv.imu.kiev.ua

Высокий антиаденовирусный эффект 6-азацитидина (6-азаЦ), обнаруженный нами ранее, явился основой для изучения роли отдельных фрагментов молекулы в антиаденовирусной активности. Представляло интерес сравнить влияние модификаций по гетероциклическому основанию и углеводной части на антивирусную активность.

Антивирусную активность новых производных изучали в отношении аденовирусов человека типов 2 и 5 в культуре клеток Hep-2.

Биологическая активность N4-аминокислотных производных новых рибонуклеозидов зависит от размера и структуры аминокислотного заместителя.

Из производных 6-азаЦ, модифицированных по углеводной части, высокую антиаденовирусную активность проявил N,O-тетраацил 6-азаЦ (МИК = 0,125 μg/ml), синтезированный, как транспортное производное 6-азаЦ. Модификация сахарной части без изменений в агликоне не приводит к потере биологической активности вещества, если структура фуранозного кольца и 5'-ОН-группа сохранены. Производное 6-азаЦ лишенное ОН полностью теряет антивирусную активность. Из ациклических аналогов антиаденовирусную активность проявил только 2',3'-"секо"-5-метил-6-азаЦ. Гликозидные аналоги 6-азаЦ не проявили активности в концентрациях, превышающих МИК 6-азаЦ.

Использование 4D-QSAR позволило исследовать взаимодействие между структурой и антиаденовирусной активностью новых веществ. Установлено, что наблюдаемые и предсказанные значения биологической активности для ряда структур были близки.

Завышенные предсказанные значения антиаденовирусной активности в сравнении с выявленными, были обнаружены для структур № 15 и № 16.

Проведенные исследования позволили определить роль отдельных фрагментов молекулы в реализации антиаденовирусной активности.

ANTIADENOVIRAL ACTIVITY OF NEW DERIVATIVES OF 6-AZACYTIDINE, STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIPS AND PERSPECTIVES OF MODELLING

Nosach L.N., Alexeeva I.V.*, Zhovnovataya V.L., Kuzmin V.F.**, Dyachenko N.S., Artemenko A.G.**, Povnitsa O.Yu, Usenko L.V.*

*Institute of Microbiology and Virology NAS of Ukraine, Kiev, Ukraine; *Institute of Molecular Biology & Genetics NAS of Ukraine, Kiev, Ukraine; ** Bogatsky Phisico-Chemical Inst. NAS of Ukraine, Odessa, Ukraine*
e-mail: dyachenko@serv.imu.kiev.ua

The high antiadenoviral effect at 6-azacytidide (6-azaC), revealed by us earlier, has formed the basis for studying the role of the separate molecule fragments in antiadenoviral activity realization.

It was interesting to compare effects of modifications of heterocyclic base and sugar moiety on antiviral activity. Antiviral activity of new derivatives of 6-azaC was investigated in Hep-2 cell culture against of adenoviruses types 2 and 5.

The biological activity of N4-aminoacid-substituted derivatives of new ribonucleosides was dependent on the size and structure of the amino-acid substituents. From derivatives of 6-azaC modified on sugar part, the high antiadenoviral activity had N,0-tetraacyl-6-azaC (MIC=0,125 μg/ml).

The sugar moiety modifications without aglycon changes do not lead to loss of biological activity if furanous ring structure and 5'-OH group is kept.

The derivative of 6-azaC without OH group lost antiviral activity completely.

From acyclic analogues only 2'3'-"seco"-5-methyl-6-azaC was active. Glycoside 6-azaC analogues did not show the antiadenoviral activity in concentration excelling MIC of 6-azaC.

Use of 4D-QSAR approach has allowed to investigate structure-antiadenoviral activity relationships of new compounds. It was determined that the observed and predicted values at antiadenoviral activity for some derivatives were similar. Overestimated predicted values of antiadenoviral activity in comparison with observed values were received for structures N15 and N16.

Our researches have demonstrated the role of the separate fragments of new 6-azaC derivatives in its antiadenoviral activity realization.

АНТИВИРУСНАЯ И ИММУНОМОДУЛИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ РОССИЙСКОГО ПРЕПАРАТА ФЕРРОВИР

[1]Д.Носик, [2]Э.Каплина, [1]Н.Носик, [1]Л.Калнина, [3]С.Сато, [4]Е.Воронин, [1]Д.Львов
[1]НИИ вирусологии им. Д.И.Ивановского РАМН
[2]Техномедсервис
[3]Медицинский Университет Иватэ
[4]Клиническая инфекционная больница
e-mail: dnossik@online.ru

Цель исследования: изучение противовирусной и иммуномодулирующей активности лекарства ферровир.

Результаты: Препарат Ферровир (1.5% раствор натриевой соли ДНК из молок осетровых рыб с Fe^{3+}) обладал активностью в отношении различных штаммов вируса иммунодефицита человека (ВИЧ). EC_{90} (90%-эффективная концентрация) 800 мкг/мл. IC_{50} (50%- цитотоксическая доза) > 4000 мкг/мл. Ферровир снижал титр цитомегаловируса и вируса гриппа человека в культурах клеток на 1-2 lg $ТЦД_{50}$. Ферровир обладал также активностью в случае смертельной герпетической инфекции мышей, зараженных вирусом герпеса человека (выживаемость > 30%). Установлено, что ферровир влияет на синтез ДНК и РНК в клетках на ранних стадиях репродукции ВИЧ-1, его контакт с клетками индуцировал в них образование цитокинов: фактора некроза опухоли-α (TNF-α), фактора некроза опухоли-β (TNF-β) и интерлейкина-1α (IL-1α). Однако, наличие только этих противовоспалительных факторов не может объяснить анти-ВИЧ эффект in vitro. Обнаруженная активность может быть связана с другим веществом, которое мы назвали антивирусный фактор (AVF) с м. м. < 3 кД. Клинические исследования ВИЧ-инфицированных больных (стадия заболевания 3А-3Б), получавших ферровир по 75 мг дважды в день в течении 2-х недель (нед.) с 6 нед. перерывом на протяжении 24 нед. показали хорошую переносимость препарата. Отмечено повышение уровня CD4+лимфоцитов (в среднем 120 клеток/ $мм^3$) и снижение вирусной нагрузки (в среднем на 1,8 lg) в плазме крови. Обнаружена очевидная ремиссия у ВИЧ-инфицированных больных с сопутствующей герпесвирусной инфекцией.

Заключение: Ферровир показал выраженную антивирусную активность в отношении РНК- и ДНК-содержащих вирусов, не токсичен, хорошо переносился больными и может рассматриваться, как универсальное средство при вирусных инфекциях с синдромом иммунодефицита.

ANTIVIRAL AND IMMUNOMODULATING ACTIVITY OF THE RUSSIAN DRUG FERROVIR

[1]D.Nossik, [2]E.Kaplina, [1]N.Nossik, [1]L.Kalnina, [3]S.Sato, [4]E.Voronin, [1]D.Lvov

[1]The D.I.Ivanovsky Institute of Virology RAMS
[2]Technomedservice Company
[3]Iwate Medical University
[4]Clinical Hospital for Infectious Diseases
e-mail: dnossik@online.ru

Objective: to study the antiviral and immunomodulating activity of the drug Ferrovir.

Results: The drug Ferrovir (1.5% solution sodium salt of DNA from salmon's milt with Fe^{3+}) was active against different strains of Human Immunodefficiency Virus (HIV). EC_{90} (90% -effective concentration) was 800 μg/ml. Ferrovir was not toxic. IC_{50} (50%- inhibiting concentration) > 4000 μg/ml. Ferrovir reduced a titer of Human Cytomegalovirus and Influenza Virus in tissue cell cultures for 1-2 lg $TCID_{50}$. Ferrovir was also active in case of mortal herpetic infection of mice infected with Herpes Simplex Virus (animal survival >30%). It was found that Ferrovir influences DNA and RNA synthesis in cells during early stages of HIV-1 replication

and contact of it with cells results in the production of the cytokines: Tumor Necrosis Factor – alpha (TNF-α), Tumor Necrosis Factor – beta (TNF-β) and Interleukin – 1 alpha (IL-1α). However, the presence of inflammatory substances such as TNFs and IL-1α alone cannot explain FV anti-HIV function in vitro.The revealed activity may be connected with activity of some other substance which we called an antiviral factor (AVF) with m.m. below 3 kD. The clinical trial of HIV-infected patients (pts) (clinical stage 3A-3B) treated with Ferrovir 75 mg twice daily during 2 weeks (wk) with 6 wk holiday period during 24 wk showed good drug's tolerance. The elevation of CD4+counts level (median 120 CD4+ cells/mm^3) and reduction in HIV-1 viral load (median 1,8 lg) in plasma was found. Apparent remission was observed in pts with concomitant HIV and Herpes Virus infection.

Conclusions: Ferrovir showed the good antiviral potency against RNA- and DNA-viruses; it is not toxic, is well tolerated by pts and can be considered as a potencial universal drug in case of viral infections with immunodefficiency syndrom.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НОВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ДЕКАМЕТОКСИНА

В.Г.Палий, И.Н.Грабик, Н.Н.Шевчук.

Винницкий государственный медицинский университет им. Н.И.Пирогова
e-mail: admission@vsmu.vinnica.ua; e-mail: vika@vsmu.vinnica.ua

Работа посвящена созданию препаратов на основе известного антисептика декаметоксина, в молекуле которого содержится ментиловый эфир, полученный из мятного масла перечной мяты. Изучено действие препаратов на основе декаметоксина и перекиси водорода. Установлено, что декаметоксин в минимальных концентрациях обладал бактерицидным действием в отношение музейных и клинических штаммов микроорганизмов, которые чаще других циркулируют в условиях больницы (S.aureus, E. coli, K.pneumoniae, P.vulgaris, S.enteritidis, P.aeruginosa и др.). Доказано взаимное потенциирование бактерицидных свойств антисептиков, в том числе в отношение P.aeruginosa. Также была проведена экспериментальная оценка новых препаратов в количественном и качественном суспензионных тестах. Результаты исследования позволили предложить антимикробные препараты для предупреждения, лечения нозокомиальных инфекций, гнойных осложнений.

Патент Украины №17420., Антисептическая композиция для обеззараживания кожи Горостен. Бюл., К., 2000. К., 2000, № 1.

BIOLOGICAL FEATURES OF NEW BIOLOGICALLY ACTIVE NEDICINES ON THE BASIS OF DECAMETHOXIN

V.G.Paliy, I.N.Grabik, N.N.Shevchuk

Vinnitsa State Pirogov Memorial Medical University
e-mail: admission@vsmu.vinnica.ua; e-mail: vika@vsmu.vinnica.ua

The work is devoted to the creation of medicines, prepared on the base of well-known antiseptic decamethoxin, in which molecular there is mentil ether extracted from mint oil of peppermint. The impact of medicines on the basis of decamethoxin and hydrogen peroxide was studied. It was ascertained that decamethoxin in a minimum concentrations possessed bactericidal influence concerning museum and clinical strain of microorganisms, which more often then others circulate in hospitals (S.aureus, E. coli, K.pneumoniae, P.vulgaris, S.enteritidis, P.aeruginosa and as.). Mutual potentiating of bactericidal features of antiseptics including in respect to P.aeruginosa was proved. The experimental valuation of new medicines in qualitative and quantitative suspensional tests was done. The result of investigation let us to suggest antimicrobial medicines for prevention, treatment of nozocomial infections, purulent complications.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИСЕПТИЧЕСКИХ РАСТВОРОВ НА ОСНОВЕ МИКРОБНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ

В.Г.Палий, А.В.Крижановская, Н.Н.Шевчук.

Винницкий государственный медицинский университет им.Н.И.Пирогова
e-mail: admission@vsmu.vinnica.ua; e-mail: vika@vsmu.vinnica.ua

В работе приводятся результаты экспериментального изучения антимикробных и химиотерапевтических свойств антисептических препаратов пролонгированного действия, приготовленных на основе микробных полисахаридов декстрана и аубазидана.

Изучены растворы декаметоксина – высокоэффективного антисептика, значительную часть молекулы которого составляет ментиловый эфир, получаемый из мятного масла перечной мяты.

Показано, что предлагаемые антисептические растворы являются
высокоэффективными относительно всех исследуемых штаммов микроорганизмов.

Высокомолекулярные биологически активные соединения снижают побочное действие антисептиков и повышают их антимикробную активность.

Патент Украины № 20234., Антимикробные глазные капли Офтадек. Бюл., К., 2000, № 1.

EXPERIMENTAL INVESTIGATION OF ANTISEPTIC SOLUTIONS ON THE BASIS OF MICROBIAL POLYSACCHARIDES

V.G.Paliy, A.V.Krizhanovskaya, N.N.Shevchuk

Vinnitsa State Pirogov Memorial Medical University
e-mail: admission@vsmu.vinnica.ua; e-mail: vika@vsmu.vinnica.ua

In the article the results of experimental investigation of antimicrobial and chemotherapeutical features of prolonged antiseptic medicines, prepared on the basis of microbial polysaccharides dextran and aubazidan are adduced.

Investigated the decamethoxin solutions – as highly effective antiseptic medicine, the major part of its molecule consist of mentil ether, produced from mint oil of peppermint.

It was proved that these antiseptic solutions are highly effective in respect to all investigated microorganisms strain.

Highly molecular biologically active combinations decrease side-effects of antiseptics and increase their antimicrobial activity.

НОВЫЕ КОМПЛЕКСНЫЕ ВИТАМИННЫЕ ПРЕПАРАТЫ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

Пархоменко Ю.М., Донченко Г.В.
Институт биолхимии им. А.В Паладина
e-mail: yurpark@biochem.kiev.ua

Препараты целенаправленного метаболического действия Метовит и Кардиовит созданы на основе результатов фундаментальных исследований по изучению взаимосвязи обмена витаминов между собой и с обменом других биологически активных соединений, проводившихся в Институте биохимии НАН Украины. Соотношение ингредиентов в этих препаратах строго подобраны с целью создать в тканях организма условия для активации обмена экзогенного метионина (компонента препарата) по пути транссульфирования и трансметилирования. Указанные процессы являются лимитирующими в клеточном обмене, и их активация приводит к активации биохимических реакций, генерирующих энергию (окисление жиров, углеводов) и, соответственно, процессов, нуждающихся в энергии (синтез белков и др.).

Препарат Метовит предназначен для повышения жизнеспособности организма в неблагоприятных условиях. Активация процессов транссульфирования и трансметилирования способствует повышению

синтеза глутатиона – природного пептида, который является важным компонентом биохимической системы антиоксидантной защиты организма и принимает участие в реакциях детоксикации чужеродных соединений. Созданные условия способствуют, в частности, более эффективному использованию в клетках витаминов, входящих в состав препарата (активируется синтез их биологически активных форм – коферментов), благодаря чему их дозы в препарате близки к физиологическим. Под влиянием препарата более эффективно усваиваются из пищи и метаболизируются в организме и витамины, не входящие в состав препарата.

В доклинических условиях положительное действие препарата Метовит показано на модели гипоксической гипоксии, ожирения алиментарного происхождения, иммунодефицита, при физических нагрузках, при введении токсических соединений. Он способствует нормализации внутриклеточного обмена веществ во всех органах, детоксикации липо - и гидро - перекисей, повышению иммунитета, умственной и физической работоспособности.

В настоящее время разрабатывается способ применения препарата Метовит вместе с медицинским энтеросорбентом Силлард с целью реабилитации больных с наркотической или алкогольной зависимостью.

Препарат Кардиовит, сохраняя общую основу, несколько отличается от препарата Метовит содержанием ингредиентов. Кардиовит предназначен для профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний и нормализует обмен, прежде всего, в сердечной мышце. Он стимулирует в тканях синтез биологически активной формы тиамина – тиаминдифосфата (карбоксилазы) и АТФ. Его прототипом является препарат «Карбоксилаза». Многие эффекты на организм, свойственные для Метовита, присущи и Кардиовиту.

Соединения, входящие в состав обоих препаратов, являются естественными компонентами живых клеток, легко усваиваются и быстро метаболизируются. Активирующий эффект, вызванный введением препаратов, имеет пролонгированный характер.

NEW VITAMIN COMPLEXES OF METABOLIC ACTION

Parkhomenko Yu.M., Donchenko G.V.
e-mail: yurpark@biochem.kiev.ua

Biologically active complexes Metovit and Kardiovit were created on the basis of results of fundamental researches on analysis of intercoupling of metabolism of vitamins among themselves and with metabolism of other biologically active compounds, which one were conducted in Institute of biochemistry of NAS of Ukraine.

Composition of ingredients in these drugs selected strictly with the purpose to create in tissues of a condition for activation of methionine metabolism (component of a drugs) on a path of transsulfurization and transmethylation. The indicated processes are limiting in cellular metabolism, and their activation results in an activation of biochemical reactions, generating energy (oxidation of lipids, carbohydrates) and, accordingly, processes requiring for energy (synthesis of proteins etc.).

Metovit is intended for increase of viability of an organism in unfavourable conditions. The activation of transsulfurization and transmethylation promotes increase of synthesis of glutathione - natural peptide, which one is the irreplaceable participant of a biochemical antioxidation system and participates in reactions of xenobiotics detoxification. In these conditions, in particular, biosynthesis of biologically active vitamins derivatives (coenzymes) is intensified, therefore the vitamins doses in a complex are close to physiological. Vitamins which are not included in the composition also are more effectively absorbed from nutrition and are metabolised in an organism .

The positive effect of Metovit in laboratory conditions was investigated on model of a hypoxia, obesity of a nutritional origin, immunodeficit, at exercise stresses, at the introducing of toxic compounds. Metovit promotes normalisation of an endocellular metabolism in all organs, accelerates detoxification lipo- - and hydro - peroxides, raises of immunity, mental and physical efficiency.

The method of application of Metovit jointly with medical enterosorbent Sillard for aftertreatment of persons with narcotic or alcoholic relation is elaborated. The composition of Kardiovit is close to a structure of a complex Metovit, but differs from it by a ratio of ingredients. Kardiovit is intended for preventive maintenance and treatment of cardiovascular diseases and normalises metabolism, first of all, in a cardiac muscle. He activates the biosynthesis of coenzyme form of thiamine - thiamindiphosphate (carboxylase) and ATP. Its

prototype is the drug "Carboxylase". Many effects on an organism, that are peculiar for Metovit, are saved for Kardiovit.

The substances which are included in a composition of both complexes, are natural components of living cells, are easily absorbed and are fast metabolized. The activating effect on cellular metabolism of both complexes has prolonged nature.

Both complexes render prolonged action on cellular metabolism .

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ЖИДКОСТИ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА: СОКУЛЬТИВИРОВАНИЕ С ГАМЕТАМИ И ЭМБРИОНАМИ ЧЕЛОВЕКА IN VITRO

Петрушко М.П.,Геродес А.Г.,НикитченкоЮ.В*

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины,
**НИИ биологии Харьковского государственного университета*
e-mail: sfera@online.kharkov.com

В лечении бесплодия все чаще применяются вспомогательные репродуктивные технологии (инсеминация спермой мужа или донора, экстракорпоральное оплодотворение яйцеклеток с последующим переносом эмбриона в полость матки пациентки - ЭКО), требующие постоянного совершенствования методик и поиска новых технологий. Одним из важнейших этапов программы ЭКО является этап культивирования гамет и развития эмбрионов in vitro. Исследователи разрабатывают новые среды, максимально приближенные по составу к естественным средам оплодотворения. Они должны обладать всеми необходимыми компонентами для активации капацитарных свойств и акросомной реакции спермиев, их проникновения через прозрачную оболочку ооцита, способствовать синхронному развитию эмбрионов, препятствовать развитию процессов ПОЛ в среде культивирования. Нами проведены исследования по использованию биологически активных жидкостей организма человека, в частности, фолликулярной жидкости яичника человека (ФЖ) и фетальной сыворотки крови (ФСК), в качестве добавок к среде культивирования гамет и эмбрионов в программе ЭКО.

ФЖ получали путем трансвагинальной пункции и аспирации доминантного преовуляторного фолликула у женщин репродуктивного возраста, проходивших лечение бесплодия методом ЭКО в Харьковском Центре репродукции человека. Программу проводили по длинному протоколу стимуляции. ФСК получали путем пункции пупочной вены новорожденных с последующим центрифугированием цельной крови. Хранение образцов проводили в жидком азоте. Были выделены три группы: 1 группа - культивирование проводили в среде Menezo B-2 (контроль), 2 группа-в среде Menezo B-2 в сочетании с ФЖ 9:1 (10%ФЖ), 3 группа-в среде Menezo B-2 в сочетании с ФСК 9:1 (10% ФСК). В результате исследований было отмечено, что в средах, содержащих ФЖ и ФСК, переживаемость спермиев, их. активность была достоверно более высокая, чем в контроле. Кроме того, при одинаковой степени зрелости яйцеклеток и частоте оплодотворения во всех группах, число эмбрионов, характеризующихся как Grade 1 (отсутствие фрагментации, ровные бластомеры) во второй и третьей группах достоверно превышало этот показатель в контроле. Частота наступления беременности в экспериментальных группах в два раза превышала контрольные значения. Культивирование гамет, а в последующем - эмбрионов в ограниченном объеме среды, их жизнедеятельность, ведет к образованию перекисных соединений накоплению свободных радикалов. Постепенное истощение антиоксидаитной системы среды культивирования приводит к нарушению прооксидантно-аитиоксидантного баланса и активации ПОЛ, что, в свою очередь, снижает переживаемость гамет, их оплодотворяющую способность, ведет к дегенеративным изменениям в эмбрионах. Введение в среду культивирования гамет и эмбрионов биологически активных жидкостей, обладающих значительной антиоксидантной и антирадикальной активностью, восстанавливает прооксидантно-аитиоксидантный гомеостаз в среде культивирования, создает благоприятный биохимический фон для оплодотворения гамет и нормального развития эмбрионов, что в последующем ведет к более успешной имплантации и развитию беременности в результате лечения методом ЭКО.

BIOLOGICALLY ACTIVE FLUIDS OF HUMAN ORGANISM: CO-CULTURING WITH HUMAN GAMETES AND EMBRYOS IN VITRO

Petrushko M.P., Gerodez A.G., Nikitchenko Yu.V.

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, R&D Institute of Biology of Kharkov National University named by V.N. Karazin
e-mail: sfera@online.kharkov.com

Additional reproductive technologies (insemination with a husband's or donor's sperm, in vitro fertilization (IVF) of oocytes with further embryo transfer into a patient's uterine), requiring a constant improvement of the method and the search of new technologies, been often applied when treating infertility.

The stage of gametes culturing and embryo development is one of the most important stages in IVF program. Researchers are working-out new media, maximally close on their composition to natural fertilization media. These media should have all the necessary components for the activation of capacitary properties and acrosome reaction in spermatozoa, their penetration through an oocyte's transparent membrane, promote to synchronous development of embryos, prevent the development of LPO processes in a culturing medium.

We demonstrated the investigations on the usage of biologically active fluids in a human organism, in particular, follicular fluid of a human oocyte (FF) and fetal blood serum (FBS) as additives in a culturing medium of gametes and embryos in IVF program.

FF was obtained by means of transvaginal puncture and aspiration of a dominant preovulatory follicle in women of reproductive age, treated on the indication for infertility by means of IVF program in Kharkov Center of human reproduction. The program was performed according to a long-term stimulation protocol. FBS was obtained by umbilical vein puncture in new-borns with further centrifuging of a whole blood. The samples were stored in liquid nitrogen.

Three groups were formed: 1 group, in which culturing was performed in Menezo B-2 medium (control), in the 2-nd group we used Menezo B-2 medium in the combination with FF 9:1 (10% FF), in the 3-rd group we performed culturing in Menezo B-2 medium in the combination with FBS 9:1 (10% FBS).

In the result of investigations it was noted, that in the media, comprised FF and FBS, spermatozoa viability, their activity was statistically and significantly higher than in the control. In addition, under the same oocytes maturation and fertilization rate in all groups the number of embryos, characterized as Grade 1 (absence of fragmentation, flat blastomeres) in the 2nd and 3rd groups statistically and significantly exceeded this index in the control. Pregnancy rate in experimental groups exceeded twice the control values.

Gametes and further embryos culturing in a limited medium volume, their activity results in the forming of peroxidative compounds and accumulation of free radicals. Gradual exhaustion of antioxidative system in the culturing medium results in an injury of peroxidative-antioxidative balance and LPO activation, that in a due course, reduces gametes viability, their fertilizing capability, results in degenerative changes in embryos. Introduction into the culturing medium with gametes and embryos of bilogically active fluids, possessing significant antioxidative and antiradical activity, recovers peroxidative and antioxidative homeostasis in a culturing medium, makes a favourable biochemical background- for gametes fertilization and normal development of embryos, resulting in more successful implantation and pregnancy development in the result of treatment with IVF method.

ПРЕВЕНТИВНЫЙ ЭФФЕКТ НОВОГО АНТИОКСИДАНТА Л-2264 ОТНО-СИТЕЛЬНО РАЗВИТИЯ ПЕРВИЧНОЙ ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ У КРЫС

В.В. Полторак, Н.И. Горбенко, О.В. Иванова, В.В. Липсон, Ж.А. Лещенко.

Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я.Данилевского АМН Украины
e-mail: phatophys@ukrniifez.vl.net.ua; serg407@rambler.ru

В последнее время сформулирована гипотеза, которая утверждает на-личие порочного круга между инсулинорезистентностью и оксидативным стрессом, что обосновывает целесообразность использования соединений с антиоксидантными свойствами для улучшения чувствительности перифериче-ских тканей к действию инсулина. Целью работы было установление влияния нового антиоксиданта Л-2264

(гетероциклический амид фенилпропионовой кислоты) на развитие первичной инсулинорезистентности у крыс.

Первичную инсулинорезистентность воссоздавали у 3-х месячных крыс Вистар с помощью подкожных инъекций дексаметазона в дозе 0,125 мг на кг массы тела на протяжении 14 дней. Вещество Л-2264 применяли перо-рально в дозе 200 мг на кг массы тела на протяжении 10 дней, начиная с 4-го дня эксперимента. Контрольная группа по аналогичной схеме получала плацебо. Состояние глюкозного гомеостаза оценивали по показателям базальной гликемии и базальной инсулинемии.

Коэффициенты инсулинорезистентности и функции бета-клеток рассчитывали с помощью математической модели HOMA (Homeostasis Model Assessment). Антиоксидантные свойства вещест-ва Л-2264 оценивали по содержанию МДА в гомогенатах печени.

В результате проведенных исследований установлено, что применение вещества Л-2264 в дозе 200 мг на кг массы тела на протяжении 10 дней пре-дотвращает развитие инсулинорезистентности, о чем свидетельствует сниже-ние базальной гиперинсулинемии по сравнению с группой, получавшей пла-цебо (150,5±10,9 пмоль/л vs 211,5±9,2 пмоль/л). В то же время использование оригинального вещества Л-2264 улучшало чувствительность периферических тканей к действию инсулина, которая была уменьшена вследствие действия дексаметазона. У животных, получавших вещество Л-2264, отмечали значи-тельное падение коэффициента инсулинорезистентности (60,4±5,5 vs 230,4±20,5; $P<0,05$) в сравнении с группой плацебо. Кроме того, применение вещества Л-2264 приводило к торможению ?оксидативного стресса?, индуци-рованного дексаметазоном, снижая содержание МДА в гомогенатах печени и концентрацию НЕЖК в сыворотке крови к уровню интактного контроля ($P<0,05$).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о наличии про-тективного эффекта у нового соединения Л-2264 относительно развития пер-вичной инсулинорезистентности у крыс, что, вероятно, реализуется за счет улучшения глюкозного гомеостаза и оксидативного статуса эксперименталь-ных животных.

Дальнейшее исследование эффективности выше обозначенно-го вещества обосновывает целесообразность его применения с целью коррек-ции инсулинорезистентных состояний, и в том числе, сахарного диабета 2 ти-па.

NOVEL ANTIOXIDANT L-2264 PREVENTS PRIMARY INSULIN RESIS-TANCE IN RATS

V. Poltorak, O. Ivanova, N. Gorbenko, V. Lipson and Z. Leshchenko.

Institute of Endocrine Pathology Problems

Background and Aims: Accumulating evidence suggests a link between increased oxidative stress in diabetes and insulin resistance. The aim of the study was to ex-plore the effect of the new antioxidant L-2264 (heterocyclic amide of phenylpropi-onic acid) on the insulin resistance development in dexamethasone-treated rats. Ma-terials and Methods: Male Wistar rats (3-mo-old) were injected dexamethasone (D) (0.125 mg/kg s.c. 13 days). Control rats (C)

were given vehicle alone. One group of D-treated animals received L-2264 (200 mg/kg) starting 4 days after the first D-injection and another group was given placebo (CD). At the end of the study fasted rats were subjected to the GTT (3 g/kg i.p.). HOMA algorithm was used to estimate insulin resistance (IR). Oxidative status of experimental animals was as-sessed by determination of malonic dialdehide (MDA) contents in liver homogenate. Results: At day 14 after

the first D-injection there were no differences in basal blood glucose levels between all experimental groups. However, basal hyperinsu-linemia was observed in CD rats (211.5±9.2 pmol/l vs C: 67.2±6.2 pmol/l, $p<0.05$). GTT revealed impairment of glucose tolerance in rats after D-administration (AUC/2h over GTT was 1245±52 vs C: 960±48 mmol.l-1, $p<0.01$). L-2264-treatment prevented D-induced glucose intolerance development reducing AUC over GTT by 40 % ($p<0.05$) in comparison with CD rats. After L-2264 administration basal hyperinsulinemia and IR were significantly decreased (all $p<0.05$) in comparison with CD. In addition, L-2264-supplementation reduced NEFA levels in plasma 2.5-fold ($p<0.05$) and suppressed oxidative stress in diabetic animals reducing MDA contents in liver homogenate 2-fold ($p<0.05$) compared to CD rats.

Conclusions: This data indicate that L-2264 prevents development of dexamethasone-induced insulin resistance decreasing hyperinsulinemia, NEFA levels and attenuating lipid peroxidation in rats.

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СЛИЗИ УЛИТОК

В.Н.Попов, И.П.Отурина, И.Н.Юркова, Г.В.Решетник

Таврический национальный университет им.В.И.Вернадского

Известно, что слизь различного происхождения (бактерий, микроводорослей, животных и человека) представляет собой совокупность биологически активных веществ, заметную роль среди которых играют экзогенные полисахариды и гликопротеиды, обладающие противоопухолевыми и радиопротекторными свойствами, а также стимулирующие защитные реакции макроорганизмов и репарационные процессы, что представляет большой интерес для фармации и медицины.

Слизь наземных молюсков является продуктом различных типов желез, выполняющих разнообразные функции, связанные с увлажнением покровов, защитой от механических раздражителей и чрезвычайно агрессивных компонентов микробиотопа и пр. Цель настоящего исследования – изучение антибактериальной активности общей слизи молюсков рода Helix и выделенных из нее экзогенных полисахаридов. В качестве тест-объектов использовались культуры микроорганизмов Staphylococcus aureus, Escherichia coli и Sarcina flavia. Антибактериальная активность определялась различными методами (диффузией в агар, методами «колодцев», желобков, посевом тест-культур штрихом) с использованием стерильной общей слизи.

Экспериментально полученные данные показали, что компоненты исследуемой слизи вызывают статистически достоверную задержку роста выбранных тест-объектов, что особенно четко проявилось при использовании дискодиффузного метода. Следует отметить, что активность слизи не изменялась при хранении ее в холодильной камере в течение нескольких суток.

На следующем этапе исследования общая слизь была разделена на жидкую и более вязкую, из которых отдельно выделяли полисахариды по стандартным методикам (фракция 1 содержала высокомолекулярные полисахариды – 30 мг/л по глюкозе, фракция 2 – полисахариды из более вязкой слизи – 70 мг/л по глюкозе). Антибактериальные свойства полисахаридов исследовали на вышеназванных тест-объектах дискодиффузным методом.

Сравнительное изучение антибактериального действия полисахаридов фракции I и фракции II показало задержку роста микроорганизмов во всех опытных вариантах, причем несмотря на низкую концентрацию полисахаридов фракция I оказывала более выраженный ростингибирующий эффект.

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF GRAPE HELIX MUCUS

V.N. Popov, I.P.Oturina, I.N.Yurkova, G.V.Reshetnick

Tavrida National University named after V.I.Vernadsky

A mucus of different origin (bacteria, microalgae, animals and human beings) is set biologically active substances with antitumour and radioprotective properties and also stimulating protective microorganisms reactions.

The purpose the given research is study antibacterial activity of a general mucus of mollusc of Helix family and extracellular polisaccharides extracted from it. As a test object the cultures of Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Sarcina flavia microorganisms cultures were used.

It is stated that the components of the mucus studied cause the growth retardation of selected test object. Two polisaccharides fraction were extracted from general mucus, they are: fraction 1 (30 mg/dm^3) causing more growth inhibiting effect, and fraction 2 (70 mg/dm^3).

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ ЛЕКТИНОВ БАКТЕРИАЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Потебня Г.П., Танасиенко О.А., Лисовенко Г.С., Титова Г.П., Русанова Л.И.

Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е.Кавецкого НАН Украины
e-mail: iris@onconet.kiev.ua

В последнее время большое внимание уделяется разработке методов противоопухолевой терапии, основанной на направленной активации систем противоопухолевой защиты. Одним из перспективных подходов для решения проблемы предупреждения развития рецидивов и метастазов после хирургического удаления злокачественных опухолей является метод активной специфической иммунотерапии. Это направление, основателем которого на Украине был чл.-корр. НАН Украины Д.Г.Затула, развивается в нашем Институте в течение последних 30 лет. Разработанный им метод повышения противоопухолевой резистентности у экспериментальных животных специфическими вакцинами, полученными путем обработки опухолевых клеток продуктами метаболизма микробной культуры Bacillus mesentericus АБ-56, в настоящее время с успехом применяется и совершенствуется.

Методом аналитической селекции штамма B.mesentericus АБ-56 нами получен новый продуктивный штамм B.subtilis 7025, из культуральной жидкости которого были выделены цитотоксические лектины, способные лишать жизнеспособности опухолевые клетки различного гистогенеза. На моделях экспериментальных опухолей - раке Эрлиха, саркоме-37, меланоме В-16, карциноме Льюис установлена принципиальная возможность получения эффективных противоопухолевых вакцин с помощью указанных лектинов. Показано, что исследуемые вакцины повышают противоопухолевую резистентность у иммунизированных или леченых ими животных, стимулируя лимфоциты-эффекторы противоопухолевых реакций и повышая специфическую цитотоксичность сыворотки крови. При анализе данных о росте опухоли и средней продолжительности жизни леченных животных установлены преимущества вакцин на основе цитотоксических лектинов по сравнению с исходными вакцинами, приготовленными с помощью фильтрата культуральной жидкости B.mesentericus АБ-56. Такие вакцины при введении мышам с привитой опухолью или после хирургического ее удаления способствуют более значительному торможению опухолевого роста в первом случае и существенному уменьшению количества и объема метастазов во втором.

Проведенные ранее исследования продемонстрировали, что иммунизация больных со злокачественными опухолями желудка, толстого кишечника, легких противоопухолевыми вакцинами, приготовленными из аутологичной опухолевой ткани больного и продуктов синтеза B.mesentericus АБ-56, приводит к статистически значимому увеличению продолжительности их жизни по сравнению с больными, которым проведено только хирургическое лечение или сочетание последнего с химиотерапией. Новые экспериментальные данные позволяют надеяться на более высокую эффективность применения противоопухолевых вакцин, приготовленных с помощью цитотоксических лектинов B.subtilis 7025, в комплексной терапии онкологических больных.

MEDICO-BIOLOGICAL ASPECTS OF THE USE OF CYTOTOXIC LECTINS OF BACTERIAL ORIGIN

Potebnya G.P., Tanasienko O.A., Lisovenko G.S., Titova G.P., Rusanova L.I.

R.E.Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, National Academy of Sciences of Ukraine
e-mail: iris@onconet.kiev.ua

Lately much attention is given to the development of methods of anticancer therapy, based on directed activation of anticancer defence system. One of the perspective approaches for solving the problem of prevention of recurrences and metastases development after surgical elimination of malignant tumors is the method of active specific immunotherapy. The founder of this direction in Ukraine was the member-correspondent of the National Academy of Sciences of Ukraine, professor D.G.Zatula. This direction is elaborated during the course of last thirty years in our Institute. Devised by him the method of antitumor resistance increase in experimental animals

by specific vaccines, obtained by treatment of cancer cells with metabolism products of Bacillus mesentericus AB-56, is in successful current use and improvement.

By analytical selection method of strain B.mesentericus AB-56 we obtained a new productive strain B.subtilis 7025. From cultural fluid of it we isolated cytotoxic lectins, capable to deprive viability of tumor cells of different histogenesis. In experimental tumor models Ehrlich's carcinoma, sarcoma-37, melanoma B-16 and Lewis' carcinoma was established the possibility of principle to obtain efficacious antitumor vaccines using appointed lectins. It was shown that investigated vaccines elevate antitumor resistance in immunized or treated is animals. The vaccines stimulated lymphocyte-effectors of antitumor reactions and enhance specific cytotoxicity of blood serum. Analysed data of tumor growth and average length of life of treated animals validated the vaccine advantage on the basis of cytotoxic lectins as comparated with initial vaccines, prepared from filtrate of B. mesentericus AB-56 cultural fluid. Such vaccines administrated to mice with transplanted tumor or after surgical elimination of tumor growth in the first case and essential decrease of number and volume of metastasis in the second.

The earlier performed investigations demonstrated that the immunisation of patients with stomach malignant tumors, large intestine and lung tumors with antitumor vaccines, prepared from authologous tumor tissue of patient and products of synthesis of B. mesentericus AB-56, lead to statistical significant increase of average length of life as compared with patients with only surgical care or combination of the last with chemotherapy. New experimental data permit to hope on more high efficacious of antitumor vaccines use, prepared by means of B. subtilis 7025 cytotoxic lectins, in complex therapy of oncological patients.

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ЛАКТОФЕРРИНА ПОСЛЕ ЛИОФИЛИЗАЦИИ МОЛОЗИВА КОРОВ

Б.П.Сандомирский, С.Е.Гальченко, Е.С.Гальченко, И.В.Слета

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины
e-mail: cryo@online.kharkov.ua

Процес жизнедеятельности клеток и тканей сопровождается перекисным окислением липидов (ПОЛ),. Известен ряд заболеваний, сопровождающихся перегрузкой организма железом, которое может вызывать патологическое развитие этих процессов. Одним из природных хелаторов железа может быть лактоферрин, содержащийся в молозиве коров.

В своей работе мы изучали хелаторные и антиоксидантные свойства лактоферрина из молозива 2-3 суток лактации и влияние на эти свойства лиофилизации молозива.

На модельной системе (реакция Фентона) нами показано, что лактоферрин снижает интенсивность хемилюминесценции в 2 - 3 раза в зависимости от концентрации железа и перекиси и, следовательно, предотвращает инициацию свободнорадикального окисления. На модельной системе, содержащей ионы железа и липопротеиды яичного желтка или гомогенат печени крыс, установлено, что добавление лактоферрина как из нативного, так и из лиофилизированного молозива приводит к значительному уменьшению светосуммы быстрой и медленной вспышек хемилюминесценции. И, следовательно, он снижает концентрацию свободных радикалов в системе и уменьшает способность липидов вовлекаться в процессы пероксидации. Установлено также, что при гипотермическом хранени фрагментов печени крыс активация ПОЛ наблюдается на 24 часа позже, если в среде хранения содержался лактоферрин, по сравнению с хранением в среде без лактоферрина.

Таким образом, лактоферрин из молозива коров и само молозиво может оказаться эффективным средством при патологических состояниях, характеризующихся активацией перекисных процессов.

ANTIOXIDATIVE PROPERTIES OF LACTOFERRIN AFTER BOVINE COLOSTRUM LYOPHILIZATION.

B.P. Sandomirsky, S.E. Galchenko, E.S. Galchenko, I.V. Sleta

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine
e-mail: cryo@online.kharkov.ua

Vital activity of cells and tissues is accompanied by the lipid peroxidation processes (LPO). There are known some diseases characterized by excessive amount of iron in organism, which may cause the pathological development of these processes. Bovine colostrum lactoferrin can be one of native iron chelators.

In this work we have studied the chelator and antioxidative properties of lactoferrin derived from 2-3 days lactation colostrum as well as the effect of colostrum lyophilization on these properties.

It has been shown in the model system (Fenton reaction), that lactoferrin decreases the intensity of chemiluminescence in 2-3 times depending on the Fe^{2+} and H_2O_2 concentrations and, thus, prevent the initiation of free-radical oxidation. It was stated in the model system, containing Fe^{2+} ions and egg yolk lipoproteids or rat liver homogenate, that adding of lactoferrin both from native and lyophilized colostrum leads to considerable decreasing light total of both rapid flaches and also slow ones. Thus, it decreases the free radicals concentration in the system as well as the ability of lipids to be involved into lipid peroxidation processes. It was also established, that LPO activation is observed 24 hours later under hypothermal storage of rat liver fragments, if the storing medium contained lactoferrin, irrespective of the sourse of obtaining, in comparison with the non-lactoferrin medium.

Thus, bovine colostrum derived lactoferrin and bovine colostrum itself may have positive effect in pathological cases, characterized by activation of peroxidation processes.

ВЛИЯНИЕ КОМПОЗИЦИЙ АМИНОКИСЛОТ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ЖИВОТНЫХ К НАРКОТИЧЕСКОМУ ДЕЙСТВИЮ ЭТАНОЛА

Сколыш Е.В., Кузьмич А.Б., Пронько П.С., Дорошенко Е.М.

Институт биохимии НАН Беларуси
e-mail: val@biochem.unibel.by

В настоящее время при рассмотрении проблемы профилактики и лечения заболеваний, связанных со злоупотреблением этанолом, всё больший акцент делается на применение с этой целью биологически активных соединений, в частности некоторых аминокислот и их композиций, способных снижать токсичность этанола и ацетальдегида и оказывать влияние на их метаболизм.

Нами изучено влияние композиций аминокислот, таких как "Тавамин" и "Тривамин", обладающих гепатопротекторным действием при алкогольной интоксикации, на чувствительность крыс к наркотическому действию этанола. В состав "Тавамина" входят таурин, лейцин, валин, изолейцин, "Тривамина" - те же аминокислоты и триптофан. Опытным животным препараты, "Тавамин" в дозах 100 и 250 мг/кг и "Тривамин"- 250 мг/кг, вводили внутрибрюшинно за 20 минут до внутрибрюшинной инъекции 20-% (v/v) раствора этанола в дозе 3.5 г/кг. Контрольные животные вместо препарата получали 0,9-% раствор хлорида натрия.

Определяли продолжительность этанол-индуцированного сна (время от момента утраты до восстановления рефлекса выпрямления), продолжительность латентного периода (время от момента введения этанола до утраты рефлекса выпрямления), концентрацию этанола в крови во время пробуждения. В момент восстановления рефлекса выпрямления у крыс отбирали кровь в объёме 50 мкл из надреза кончика хвоста. Концентрацию этанола определяли по результатам газохроматографического анализа (ГХ, модель 3700, с пламенно-ионизационным детектором).

Во всех опытных группах наблюдалось укорочение латентного периода, эффект "Тавамина" в дозе 100 мг/кг и "Тривамина" был достоверным ($p<0.005$ и $p<0.05$ соответственно). Продолжительность этанол-индуцированного сна также снижалась на фоне действия препаратов. "Тавамин" (100 мг/кг) снижал время сна на 43% ($p<0.005$), "Тавамин" (250 мг/кг) - на 3.4 %, "Тривамин" - на 16.2% по сравнению с контролем. Концентрация этанола достоверно снижалась лишь в группе животных, получавших "Тавамин" ($p<0.05$).

Таким образом, "Тавамин" в дозе 100 мг/кг снижает время этанольного наркоза и концентрацию этанола в момент пробуждения, что позволяет сделать предположение об ускорении элиминации этанола, которое, однако, требует подтверждения в фармакокинетической модели и изучения механизмов действия препарата.

EFFECT OF AMINO ACID COMPOSITIONS ON THE SENSITIVITY OF ANIMALS TO HYPNOTIC ACTION OF ETHANOL

Skolysh E.V., Kuzmich A.B., Pronko P.S., Doroshenko E.M.

Institute of Biochemistry NAS RB
e-mail: val@biochem.unibel.by

At present in considering the problem of treatment and prevention of alcohol-related deseases, an increasing emphasis is placed on the use of biologically active compounds, in particular amino acids and their compositions that can decrease toxicity of ethanol and acetaldehyde and affect on theirs metabolism.

We studed the effect of amino acid compositions, such as "Tavamin" and "Trivamin" possessing hepatoprotective action during alcohol intoxication, on the sensitivity of rats to hypnotic action of the ethanol. The composition of "Tavamin" includes taurine, leucine, valine and isoleucine, the composition of "Trivamin" includes the same amino acids and tryptophan. The experimental animals were treated with at a dose of 250 mg/kg (i.p.) 20 minutes before the injection (i.p.) of ethanol solution (20% v/v) at a dose of 3.5 g/kg. The control animals were treated with 0.9% solution of sodium chloride instead of the drugs.

We determined the ethanol-induced sleep time (the time between the moments of loss and regaining of the righting reflex), lag-time (the time between the moments of ethanol administration and the loss of the righting reflex) and blood ethanol concentration at the awakening moment. At the moment of the regaining of the righting reflex we took 50 µl of blood from the cut of the tail tip in rats. Ethanol concentrations were determined gas-chromatographically (GC, model 3700, with a flame-ionization detector).

In all the experimental groups shortening of the lag-time was demonstrated, the effects of "Tavamin" at a dose of 100 mg/kg and "Trivamin" were significant ($p<0.005$ and $p<0.05$ correspondingly). The ethanol-induced sleep time was also decreased by the administration of the substances. "Tavamin" (100 mg/kg) reduce sleep time by 43% ($p<0.005$), "Tavamin" (250 mg/kg) - by 3.4 %, "Trivamin" - by 16.2% as compared to the control group. The concentration of the ethanol was lowered significanly only in group of animals treated with tavamin at a dose of 100 mg/kg ($p<0.05$).

Thus, tavamin at a dose of 100 mg/kg decrease the time of ethanol narcosis and ethanol concentration at awakening moment that enables to suggest an acceleration of ethanol elimination. But this requires to be confirmed with pharmacokinetics and studying of mechanism of the preparation action.

ПРИМЕНЕНИЕ НАТИВНОГО КСЕНОГЕМОГЛОБИНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ АНЕМИЧЕСКОГО СИНДРОМА.

Сукач А.Н., *Дырявый С.Б., Семенченко А.Ю., Хромушкин К.Н.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины
**5-й городской специализированный роддом*
e-mail: sukach@kharkov.ua

Не мене 40% населения Земли в той или иной степени страдают от анемического синдрома. Проблема безопасного лечения этого заболевания стоит очень остро. Поэтому ежегодно появляются новые препараты, содержащие железо. В силу того, что железо, которое содержится в большинстве предлагаемых препаратов усваивается плохо, ежедневная дозировка этих препаратов очень высока. Избыток железа приводит к дисфункции процессов в желудочно-кишечном тракте и нарушениям нормального функционирования антиоксидантной системы, что в конечном счете понижает сопротивляемость организма к различного рода инфекциям. Следует заметить, что в организме людей отсутствует система выведения избытка железа. Поэтому передозировка железа очень опасна. Исходя из этого была поставлена задача найти эффективное антианемическое средство, не приводящее к возникновению побочных эффектов. Зная, что мед повышает всасываемость веществ в желудочно-кишечном тракте, сохраняет свойства растворенных в нем веществ (не говоря уже о его стимулирующем действии на организм), в качестве консерванта и основного компонента мы решили использовать мед. Чтобы уйти от химической формы железа в виде соли, мы решили использовать природную форму железа – нативный гемоглобин крови животных. При этом концентрация ежедневно получаемого больным железа в нашем препарате (апигеме) соизмерима с природной нормой.[1].

Об эффективности апигема судили по содержанию гемоглобина, эритроцитов и цветовом показателе в периферической крови больных. Препаратами сравнения служили Феррум Лек (железа сахарат) для

внутривенного введения и жидкий гематоген. Под наблюдением находились 260 женщин в возрасте 16-50 лет, страдающих анемией в течение 1-10 лет, вызванной обильными менструальными кровопотерями. При применении апигема уже через 14 дней у всех пациенток отмечалось улучшение самочувствия: перестали беспокоить или стали менее выраженными головная боль и боли в области сердца, исчезла слабость, головокружение, шум в ушах, извращенный вкус. При этом также наблюдалось достоверное улучшение всех показателей гемограммы. Уровень гемоглобина при этом увеличивался на 12-15 единиц. Применение жидкого гематогена у таких больных было малоэффективным – уровень гемоглобина и остальные показатели гемограммы в течение месяца у них повышались незначительно. При применении Феррум-Лека показатели гемограммы достоверно улучшались через 30 дней. При этом также наблюдались побочные явления – тошнота, обмороки, падение артериального давления. Через месяц после лечения апигемом у пациенток наблюдалась нормализация уровня гемоглобина, количества эритроцитов и цветового показателя. Хорошее самочувствие и нормальные показатели периферической крови при отсутствии кровопотерь сохранялись в течение 3-4 месяцев.

Таким образом, использование апигема для лечения анемического синдрома обеспечивает более быстрое наступление клинического эффекта при отсутствии побочных действий, что позволяет применять апигем для лечения и профилактики железодефицитный анемий у широкого круга пациентов.

1. Дирявий С.Б., Сукач О.М., Семенченко О.Ю., Хромушкін К.М. Препарат для лікування залізодефіцитної анемії.// Патент на винахід №24491А, 21.07.98

APPLICATION OF NATIVE XENOHEMOGLOBIN FOR AN ANEMIC SYNDROME TREATMENT.

Sukach A.N., * Dyryavy S.B., Semenchenko A.Yu., Khromushkin K.N.

Institute for Problems of Cryobiology &Cryomedicine NAS of the Ukraine
**5th Kharkov Specialised Maternity House*
e-mail: sukach@kharkov.ua

Not less than 40% of the Earth population suffer from an anemic syndrome in various manifestation degree. The problem of safe treatment of this degree is quite an acute. Therefore new preparations, comprising iron, appear every year. Due to the fact that an iron, being the component in the majority of the preparations proposed, has low absorption properties, a daily dosage of these preparations is very significant. An iron surplus results in a dysfunction of the processes in digestive tract and injuries of a normal functioning of an antioxidative system, that reduces an organism resistance to different infections.

It should be noted that in a human organism there is no system for an iron surplus removal. Therefore over-dosage is very dangerous. Proceeding from this fact we have put the task to find an efficient anti-anemic preparation, not resulting in the appearance of side effects. Considering the fact that honey increases an absorption of the substances in a digestive tract, keeps the properties of diluted in it substances, as well as possesses a stimulating effect on an organism, we decided to use honey as a preservative and the main component. As an iron source we used a natural iron - native hemoglobin derived from the animals' blood. Thereat the concentration of daily iron dose in our preparation (APIHEM) is the similar to a natural norm [1].

The APIHEM efficiency was determined on the hemoglobin and erythrocytes content, as well as colour index in the peripheric blood of patients. Ferrum-Lek (iron succharate) for an intravenous injection and liquid hematogen were the preparations for comparing. 260 women aged from 16-50 years old, suffering from an anemia during 1-10 years, caused by a significant blood loss during menstruation, were under observation.

After the APIHEM usage within 14 days all the patients felt better: head ache and aches in a heart area became less manifested, weakness, dizziness, noise in the ears, the perverted taste disappeared. There at a statistically significant improvement of all hemogram indices was also noted. Hemoglobin level thereat increased by 12-15 units. Application of liquid hematogen in such patients was slightly efficient: hemoglobin level and other hemogram indices within one months augmented slightly. When using Ferrum-Lek parameters of the hemogram were a statistically significant improvement in 30 days. Thus side effects - a nausea, faints, fall of arterial pressure also were observed. In one month after treatment with APIHEM normalization of hemoglobin level, erythrocytes number and colour index were observed in patients. Good feeling and normal peripheric blood indices at the absence of blood losses remained within 3-4 months.

Thus, the APIHEM application when treating an anemic syndrome provides an earlier clinical effect without side effects, that allows to use APIHEM for treatment and prophylactics of iron-deficinet anemias in a wide spectrum of patients.

1. Dyryavy S. B., Sukach A. N., Semenchenko A. Yu., Khromushkin K. N. Preparation for the treatment of iron-deficient anemia.// Patent for invention N 24491A, 21.07.98

НОВЫЙ РАСТИТЕЛЬНИЙ ИНДУКТОР ИНТЕРФЕРОНА

Тимошок Н.А., Спивак Н.Я.

Инситут микробиологии и вирусологии НАНУ
e-mail: vibyda@bitp.imv.kiev.ua; timoshok@serv.imv.kiev.ua

В последнее время растительные индукторы интерферона привлекают внимание многих исследователей в связи с их низкой токсичностью и возможностью перорального применения.

Целью настоящей работы явилось изучение биологической активности производного оксибензиламина- Саврац, который содержит фрагмент структуры низкомолекулярного природного полифенола -госсипола.

Известно, что динамика продукции продукции и уровни ИФН в значительной мере зависят от способа, дозы и кратности введения индукторов ИФН. Для установления оптимальной интерфероиндуцирующей дозы Саврац вводили мышам разними способами в различных концентрациях - от 5 до 2000 мг/ кг.

Максимальные титры ИНФ отмечаются в сыворотке крови мышей при введении индуктора в дозе 100 мг/кг. При внутрибрюшинном введении препарата титры ИФН достигают 350 ед/мл, при пероральном применении индуктора в этой дозе уровень продукции сывороточного ИФН равен 250 ед/мл. Достаточно высокие титры ИФН отмечаются при внутримышечном введении препарата Саврац в дозе 100 мг/кг (400 ед/мл). Обращает на себя внимание, что при подкожном введении препарата высокие уровни продукции ИФН в сыворотке крови регистрируются при дозе индуктора, равной 10 мг/кг, что позволяет снизить количество вводимого вещества в 10 раз.

Динамика продукции ИФН в организме экспериментальных живоных при разных способах введения Саврац. При изучении продукции ИФН в ответ на введение одной и той же дозы Саврац разными способами выявлено , что динамика процесса имеет определенные различия. При внутрибрюшинном и пероральном введении препарата пик образования ИФН в крови животных наблюдается стабильно через 48 ч, а при внутримышечном - через 96 ч , т. е . сдвигается на 2 сут (рис .1). Максимальные титры ИФН , регистрируемые при внутрибрюшиннном и внутримышечном введении, составляют 320 и 400 ед/мл соответственно. При пероральном введении уровень образовавшегося ИФН (250 ед/мл) почти в 2 раза ниже , чем при парентеральном способах введения Саврац. При подкожном введении Саврац отмечается пролонгированный характер продукции ИФН- высокие титры циркулирующего ИФН регистрируются от 24-го до 96 -го часа, т.е. в течение 4 дней.

Таким образом, новый препарат растительного происхождения Саврац способен вызывать продукцию ИФН в организме эксериментальных животных при различных путях введения.

NEW PLANT INDUCER INTERFERON

Timoshok N. O., Spivak N. Ya.

Institute of Microbiology and Virology NASU
e-mail: vibyda@bitp.imv.kiev.ua; timoshok@serv.imv.kiev.ua

In recent time a large number of researchers pay great attention to plant interferone inductors due to their low toxicity and possibility of oral application.

This paper describes our results concerning the investigations of the Savrats -an oxybenzylamine derivative containing a fragment of the gossypol molecule- a natural low molecular mass polyphenol.

The dynamics and levels of the IFN- producing activity depend mostly on the inducers, their doses, mode of administration, and number of their application. To determine the optimal IFN- inducing Savrats dose, its different doses (5-2,000 mg/kg of body weight) were given to mice by different administration ways.

Maximal IFN titers are seen in murine sera if the Savrats dose injected is 100 mg/kg. Following intraperitoneal administration the IFN titers are as high as 350 U/ml, the peroral administration gives lower ones - up to 250 U/ml. The intramuscular injection lead also to rather high serum IFN titers - about 400 U/ml. It is noteworthy the subcutaneous drug injection assure also high serum IFN levels, the inducer doses being as low as 10 mg/kg instead of 100 mg/kg; so it is possible to decrease the inducer dose by 10 times.

Minimal effective Savrats doses were taken to study the dynamics of the IFN production in experimental animals.

This dynamics was investigated following different ways of the drug administration. The dynamics is not the same depending on different modes of the same dose introduction. Following intraperitoneal and peroral Savrats administration the IFN peaks in murine sera are always seen in 48 h; however, following intramuscular drug injection such peak appears in 96 h, i.e. two days later. The maximal IFN titers registered following intraperitoneal and intramuscular injection are 320 and 400 U/ml, respectively. The IFN levels induced following peroral administration (250 U/ml) are almost twice lower comparing to its concentrations reached by drug parenteral injection. The subcutaneous injection of the Savrats lead to prolonged IFN induction, high titers of the circulating IFN being registered in 24 - 96 h post injection, i.e. during 4 days.

So our data show the Savrats, a new drug of the plant origin, is able to induce the IFN synthesis in experimental animals following different administration modes.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО МАСЛА ИЗ ЧЕРНОЙ СМОРОДИНИ, ПОЛУЧЕННОЙ ЗА РАЗЛИЧНЫМИ ТЕХНОЛОГИЯМИ, НА ТРОМБОПЛАСТИНОВУЮ АКТИВНОСТЬ СЕРДЦА В УСЛОВИЯХ ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА

Тихая Н.Б.

Киевская медицинская академия последипломного образования им. П.Л.Шупика

Известно, что ягоды черной смородины содержат рядом с другими химическими составными и жирное масло (Гродзинский А.М., 1992; Тихая Н.Б.,2001). Липофильная фракция черной смородины содержит значительное количество фармакологично активной гамма-линолевой кислоты (Нестерова О.В. и пр., 1996). Препарат с маслом из черной смородины в Российской Федерации запатентованный как способ для лечения хронического простатита (Нестерова О.В. и пр., 1997). Фармакологическое действие этого нового масла изучено очень мало, а его влияние на тканевые факторы свертывания крови совсем не изучалось. Мы изучали действие масла из черной смородины, полученной за различными технологиями экстракции, на тромбопластиновую активность сердца в условиях иммобилизационного стресса. Известно, что последний имеет отрицательное влияние на целый перечень физиологических и биохимических показателей живого организма. Иммобилизационный стресс вызывает также гиперкоагуляционное состояние и повышает активность тканевых факторов свертывания (Липкан Г.М. и пр.,2001) . Опыты были проведенные на белых крысах с средней массой 220-270 г. Модель иммобилизационного стресса вызывали по описанной в научной литературе методике. Привязывая животных на 24 часа к деревянному станку. Маркерным показателем действия стресса было возникновение на слизистой оболочке желудочка животных язв и эрозий. В опыте брали участие только животные со значительными поражениями слизистой оболочки желудочка.

Масло из черной смородины, лечебно-профилактическое действие которого изучалось, получали за различными технологиями:1) CO_2 - экстракцией, 2) Хладоном-12 на установке для экстракции сжиженными газами (Кудрицкая С.Є.,1990; Ветров П.П ,1983;Ветров П.П. и пр., 1981). 3) Экстракцией органическим растворителем хлороформом с откачкой последнего в вакуум-экстракторе. Полученные мясляные препараты вводили на протяжении месяца в дозе 10 мг/кг (курсовая доза приравнивалась 300 мг/кг) в перерасчете на бета-каротин и каротиноиды, каждодневно, технологиями масла не отличались по своему действию и одинаково хорошо нормализовали активность тромбопластина сердца.

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ПОЛИМЕРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ «АРГЛАБИНА»

Тихонова Е. В., Буркеев М.Ж.*, Курманалиев О.Ш.*, Адекенов С.М.

Институт фитохимии МОН РК, г. Караганда, Казахстан
**Карагандинский государственный университет им. Е.А. Букетова МОН РК*,

В последнее время исследования в области создания новых противоопухолевых препаратов направлены на разработку лекарственных веществ, которые, кроме избирательного влияния на опухолевые клетки, имели бы значение в коррекции сдвигов в организме, предшествующих и сопутствующих возникновению и развитию новообразования, т.е. увеличивали бы противоопухолевую резистентность организма. К этим требованиям наиболее близко подходят препараты растительного происхождения.

"Арглабин" – это новый противоопухолевый препарат на основе сесквитерпенового γ-лактона, выделенного из полыни гладкой (Artemisia glabella Kar. et Kir.). Поэтому актуальной является задача получения полимерных матриц, связанных с противоопухолевым препаратом "Арглабин", способных направленно доставлять лекарство и контролировать его высвобождение.

Объектом исследования нами выбран этилакрилат, характеризующийся малой растворимостью в воде. Связывание «Арглабина» с полимером осуществлялось в процессе эмульсионной полимеризации этилакрилата. Было показано, что длительность полимеризационного процесса существенно не влияет на выход конечного продукта. Изменение соотношения мономер: «Арглабин» от 5:1 до 30:1 при равных временных промежутках незначительно увеличивает выход конечного продукта и степень связывания с лекарством. Оптимальным соотношением, отвечающим ранее описанным требованиям, явилось 20:1.

Специфическую токсичность наночастиц, ассоциированных с "Арглабином", изучали методом МТТ на опухолевых клетках линии Х 653. Эксперименты показали, что наночастицы, ассоциированные с "Арглабином", превосходят по специфической активности как гидрохлорид диметиламиноарглабина, так и нативный "Арглабин". Резкое снижение выживаемости опухолевых клеток может быть обусловлено свойством полимера потенцировать эффект "Арглабина".

Таким образом, нами впервые эмульсионной полимеризацией синтезированы наночастицы и нанокапсулы на основе этилакрилата с противоопухолевым препаратом «Арглабин». Изучена зависимость степени связывания "Арглабина" с данной полимерной матрицей от условий реакций и соотношения исходных компонентов. Исследована возможность деструкции полиэтилакрилата, в условиях, моделирующих биологические. Изучена противоопухолевая активность полученных полимерных комплексов.

BIOLOGICALLY ACTIVE POLYMERIC COMPLEXES OF «ARGLABIN»

E.V. Tikhonova, M. Zh. Burkeev, O. Sh. Kurmanaliev, S. M. Adekenov

Institute of Phytochemistry MES Republic of Kazakhstan
**Karaganda state university named after E.A. Buketov MES Republic of Kazakhstan*

Recently researches of new anti-tumor drugs are oriented on development of substances, which would have shown as selectivity and would increase anti-tumor resistance of organism as well. To these requirements, most close are preparations of plant origin.

“Arglabin”-is a new anti-tumor medicine based on sesquiterpene γ-lactone, obtained from Artemisia glabella Kar et Kir. In connection with this reception of polymeric matrices for targeted transportation of the anti-tumor compound “Arglabin” is actual.

In course of our study, we investigated ethylacrylat, hardly dissolved in water. The inclusion of “Arglabin” into polymer matrices has been carried out through emulsion polymerization of ethylacrylat. It has been shown that the duration of reaction greatly does not influence upon product quantity. Modification of correlation monomer : ”Arglabin” from 5:1 till 30:1 in the same time gap does not greatly increase yield of product and the rate of ”Arglabin’s” binding with polymer. The optimal correlation is found to be 20:1.

Specific toxicity of nanoparticles associated with “Arglabin” was studied by MTT method on X 653 type tumor cells. Through the experiment, it was established that the specific toxicity of nanoparticles associated with “Arglabin” exceeds than hydrochloride of dimethylaminoarglabln and native “Arglabin”.

Thereby for the first time, nanoparticles and nanocapsules of ethylacrylat with “Arglabin” have been synthesized by means of emulsion polymerization. The rate of “Arglabin’s” binding with polymer matrices depending on the reaction’s conditions and initial component’s ratio has been studied. The possibility of destruction of polyethylacrilat in conditions identical to biological has been investigated. The anti-tumor activity of synthesized polymeric complexes has been studied.

ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПРЕПАРАТА ИЗ СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА И ВОЗМОЖНОСТИ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ПАТОЛОГИИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

В.В.Ткач, А.В.Кубышкин

Крымский государственный медицинский университет им. С.И.Георгиевского
e-mail: diltek@pop.cris.net

Разработке препаратов для лечения заболеваний нервной системы придается самое пристальное внимание. Особого внимание заслуживают препараты природного происхождения, некоторые из которых, такие как «Церебролизин», получили всемирное признание. В проведенной работе приводятся данные о способе получения препарата из спинномозговой жидкости крупного рогатого скота и возможности его использования для лечения экспериментальной эпилепсии.

Лекарственное сырье (спинномозговую жидкость – СМЖ) получали путем субокципитальной пункции у коров, фиксированных в специальном станке. От одного животного получали 100-150 мл спинномозговой жидкости, которую собирали в стерильные пластиковые пакеты или флаконы. Далее полученное сырье криоконсервировали до накопления необходимого объема. После извлечения сырья из низкотемпературного холодильника сырье размораживалось при комнатной температуре и подвергалось центрифугированию в рефрижераторной центрифуге в течении 30 минут при 1800 об/мин. После центрифугирования получали стерильный центрифугат, который подвергается замораживанию в низкотемпературном холодильнике при t -40 –700 С. После 2-3 кратного повторения процедуры размораживания – центрифугирования центрифугат (КСМЖ) фильтровали через стерилизующие фильтры "Миллипор" 0,8; 0,45; 0,22 при давлении 0,2-0,4 атм. или подвергали ультрафильтрации через стерилизующие полые волокна размером не более 15 килодальтон и разливали в ампулы или флаконы. Готовый препарат подвергали гамма-стерилизации.

Опыты по изучению противосудорожных свойств полученного препарата проведены на 120 мышах самцах линии F1 (СВА х С57 BL/6) массой 18-24 г и 10 кошках.

У крыс определяли влияние внутрибрюшинного введения ксеногенной цереброспинальной жидкости (0,2 мл) на генерализованную судорожную активность, вызываемую внутрибрюшинным введением ГАМК-антагониста (коразола, 40 мг/кг массы) и устанавливали противосудорожный эффект ликвора в различные сроки с момента его введения (30 мин, 2, 6, 10, 12 и 48 часов).

Установлен противосудорожный эффект СМЖ, который проявлялся в увеличении латентного периода первых судорог (с 72,0±0,6 с до 204,2±11,4с), предотвращении развития генерализованных приступов, уменьшении тяжести судорог (с 4,8±0,2 до 2,0±0,5 баллов), а также снижении летальности животных по сравнению с контролем.

У кошек определяли биоэлектрическую активность эпилептических очагов, создаваемых в коре путем апликаций стрихнина на фоне использования апликаций СМЖ. При использовании СМЖ отмечалось уменьшение количества генерируемых разрядов в 2-5 раз с последующим угнетением эпилептической активности и сокращении времени существования очага.

Антиконвульсивнное действие СМЖ, вероятно, реализуется за счет влияния ее физиологически активных составляющих: вещества Р, нейротрансмиттеров, эндорфинов, гормонов гипофиза и других нейтропептидов, ферментов, микроэлементов, преимущественно на ГАМКергические структуры ЦНС. Обсуждаются возможные механизмы противосудорожной активности СМЖ и возможности использования в качестве антиконвульсивного средства.

ПРИМЕНЕНИЕ МОДУЛЯТОРОВ ГАМК-ЕРГИЧЕСКОЙ ПЕРЕДАЧИ У БЕРЕМЕННЫХ КРЫС ДЛЯ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ РАЗВИТИЯ СИНДРОМА ПРЕНАТАЛЬНОГО СТРЕССА У ПОТОМКОВ МУЖСКОГО ПОЛА

Ткачук С.С., Пишак В.П., Мыслицкий В.Ф., Ткачук А.В.

Буковинская государственная медицинская академия
e-mail: bma@msa.cv.ua; box@crm.cv.ua

Влияние неблагоприятных факторов на организм матери в течение последнего триместра беременности приводит к развитию у потомков синдрома пренатального стресса, который характеризуется нейроэндокринными нарушениями стресс-реактивности и половой дифференциации

мозга. Поэтому поиск эффективных факторов уменьшения патогенных эффектов стресса в критические периоды онтогенеза является актуальной проблемой современности.

Общеизвестно, что адаптивный или повреждающий эффекты стресс-реакции зависят от соотношения мощности стресс-реализующей и стресс-лимитирующей систем. Одним из наиболее важных компонентов системы ограничения стресс-реакции является ГАМК-ергическая система мозга.

Мы изучили влияние агонистов $ГАМК_A$ и $ГАМК_B$ рецепторов при их интрацистернальном введении на некоторые гормональные показатели выраженности стресс-реакции у контрольных и пренатально стрессированных самцов крыс. Пренатальный стресс вызывали путем жесткой одночасовой иммобилизации самок в течении последнего триместра беременности.

Проведенные исследования с использованием агониста $ГАМК_A$ рецепторов мусцимола и $ГАМК_B$ рецепторов баклофена показали, что у интактных животных в регуляции стресс-индуцированной секреции кортикостерона и пролактина принимают участие оба типа рецепторов, а тироксина – только $ГАМК_B$. У животных с синдромом пренатального стресса введение мусцимола не влияло на индуцированное иммобилизацией содержание данных гормонов. Эффект введения баклофена за направленностью был таким же, как у контрольных животных, а в количественном отношении в отдельных случаях даже более выраженным. Таким образом, результаты показали, что пренатальный стресс, по всей вероятности, приводит к нарушению эмбриогенеза $ГАМК_A$ рецепторов с последующей потерей их способности отвечать активацией на стресс при сохраненной и даже повышенной активности $ГАМК_B$ рецепторов, что согласуется с данными литературы о пренатальном развитии первых и постнатальном - последних.

Полученные результаты стали основанием для изучения влияния введения агонистов ГАМК беременным самкам за 1 час до иммобилизации на показатели стресс-реактивности и половой дифференциации мозга у взрослых потомком мужского пола.

Согласно нашим наблюдениям превентивное введение мусцимола в определенной степени нивелировало нейроэндокринные последствия стресса у потомков, а именно, нарушение полового поведения, уровня ЛГ и половых гормонов в крови, а также кортикостероидного и пролактинового секреторного ответа на стресс-стимулы. Последствия введение баклофена были менее выраженными и носили несколько иной характер.

Полученные изменения мы рассматриваем как результат ограничения агонистами ГАМК адренокортикостероидного ответа на иммобилизацию самок во время беременности, что является косвенным подтверждением ведущей роли глюкокортикоидов в патогенезе синдрома пренатального стресса и считаем, что данные исследования могут стать базисными для разработки патогенетических средств уменьшения проявлений данного синдрома.

THE USE OF MODULATORS OF GABA-ERGIC TRANSMISSION IN PREGNANT RATS TO PREVENT THE DEVELOPMENT OF THE SYNDROME OF PRENATAL STRESS IN MALE POSTERITY

Tkachuk S.S., Pishak V.P., Myslitsky V.F., Tkachuk A.V.

Bucovinian State Medical Academy
e-mail: bma@msa.cv.ua; box@crm.cv.ua

The influence of unfavourrable factors on the mother's organisms during the last trimester of pregnancy results in the development of the syndrome of prenatal stress in the posterity that is characterized by neuroendocrinal disturbances of the stress reactivity and sexual differentiation of the brain. Therefore, a search of effective factors of diminishing stress pathogenic effects during critical periods of ontogenesis is a topical problem nowadays.

It is common knowledge that the adaptive or damaging effects of a stress-reaction depend on the intensivity ratio of the stress-realizing and stress-limiting systems. One of the most important components of the system of the limiting the stress-reactionis in the GABA-ergic system of the brain.

We studied the influence of the agonists of $GABA_A$ and $GABA_B$ receptors on their intracysternal introduction on some hormonal indices of stress-reaction intensity in control and prenatally stressed male rats. Prenatal stress was brought on by means of the hour rigid immobilization of females during the last trimester of pregnancy.

The investigations carried out by us with the use of agonists of $GABA_A$ receptors muscimol and $GABA_B$ receptors baclofen showed that both types of receptors took part in the regulation of the stress-induced secretion of corticosterone and prolactin in intact animals and that of thyroxin - only $GABA_B$. Muscimol introduction to the animals with the prenatal stress syndrome did not influence on the immobilization-induced content of the

gormones. The effect of baclofen inroduction according the directivity was similar as in the control animals, and as far as the quantitative ratio is concerned, it was even more marked in a few cases. Thus, the results have demonstrated that prenatal stress, in all likelihood, result in disturbances of the embryogenesis of the $GABA_A$ receptors with a subsequent loss of their ability to respond with activation to stress with preserved and even elevated activity of the $GABA_B$ receptors. This aggrees with bibliography data about the prenatal development of the former of first and postnatal - of the latter.

The obtained results werw assumed as a basic for the purpose of studyingthe influence of introducting the GABA agonists to pregnant females, one hour prior to immobilization, on the indicesof stress-reactivity and sexual differentiation of the brain in the male adult posterity.

According to our observations, a preventive muscimol introduction levelled the neuroendocrinal consequences of stress in the posterity, to a certain degree, namely, a disorder of the sexual behavior, the blood level of the luteinizing and sex hormones, the corticosterone and prolactin secretory response to stress-stimuli as well. The consequences of baclofen introduction were less marked and were of a diverse character.

The obtained changes are considered by us as the outcome of the limitation of the adrenocorticosteroid response by the GABA agonists to females' immobilization during pregnancy, the latter being an indirect confirmation of the leading role of glucocorticoids in the pathogenesis of the prenatal stress syndrome. We conclude that the investigation finding may become basic ones for the purpose of elaborating pathogenetic means of diminishing the manifestations of the syndrome under study.

КОМП'ЮТЕРНЕ МОДЕЛЮВАННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ 8-АМІНОМЕТИЛЬНИХ ПОХІДНИХ ХРОМОНІВ - ІНГІБІТОРІВ ЦИКЛІН-ЗАЛЕЖНОЇ АДЕНІЛАТКІНАЗИ 2

Яковенко О. Я., Голуб А. Г., Бджола В. Г., Хиля В. П. та Ярмолюк С. М.

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
e-mail: sergiy@yarmoluk.org.ua

Циклін-залежна кіназа 2 (CDK2) є ключовим ферментом контролю клітинного поділу і використовується як мішень для пошуку нових протипухлинних препаратів. Відомо, що похідні хромонів є конкурентними інгібіторами CDK2 по АТФ-зв'язуючому сайту. Нами запропонована вдосконалена методика комп'ютерного аналізу інгібуючої активності органічних сполук в межах гомологічного ряду. Її апробація була проведена на прикладі 3-фенокси-7-гідрокси-8-аміометилхромонів.

Методика базується на імітації термодинамічних флуктуацій рецептора в процесі докінгу (docking), що дозволяє отримувати більш точні просторові координати комплексів рецептора та ліганда. Суть підходу полягає у представленні всієї множини конформаційних станів білка-рецептора в процесі молекулярної динаміки як ряду дискретних конформацій - кластерування (clustering) для подальшого докінгу рецептора та ліганда. Конформаційне поле рецепторної молекули отримано пакетом програм для молекулярнодинамічних розрахунків GROMACS 3.0. Процедура кластерування проведена за допомогою програми g_cluster цього ж пакету шляхом аналізу матриць середньоквадратичних відхилень між конформаційними станами рецептора. В результаті отримано набір конформацій CDK2, які були використані для гнучкого молекулярного докінгу з похідними 3-фенокси-7-гідрокси-8-аміометилхромонів за допомогою програми AutoDock 3.0. Попередньо для аналізованих сполук був проведений біологічний прескринінг на трьох лініях ракових клітин. Прескринінг було здійснено в Американському національному інституті раку в рамках Програми розробки нових терапевтичних засобів для лікування раку. Показники енергії комплексоутворення та дані біологічного прескринінгу було введено в математичну функцію статистичної обробки даних. В результаті знайдено кореляційну залежність між даними комп'ютерних розрахунків та експериментальними даними по біологічній активності похідних хромонів.

Запропонована нами методика на основі теоретично розрахованих характеристик білок-лігандної взаємодії дозволяє попередньо визначити найбільш біологічно активні сполуки в гомологічному ряду хімічних сполук.

COMPUTER MODELING OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF 8-AMINOMETHYL DERIVATIVES OF CHROMONES – INHIBITORS OF CYCLIN-DEPENDENT KINASE2

Yakovenko O. Ya., Golub A. G., Bdzhola V. G., #Khilya V. P., Yarmoluk S. M.

Institute of Molecular Biology and Genetics of NAS of Ukraine
e-mail: sergiy@yarmoluk.org.ua

Cyclin-dependent kinase is a crucial enzyme that controls cell division and is used as a target for discovering of new anticancer leads. It was investigated that chromone derivatives are concurrent inhibitors of CDK2 by ATP-binding site. We propose an improved computer analysis methodology for prediction of activity of organic compounds within homological range. This methodology was tested on 3-phenoxy-7-hydroxy-8-aminomethylchromones.

Methodology is based on simulation of thermodynamic fluctuations of the target receptor during molecular docking. It allows to obtain more accurate spatial coordinates of receptor-ligand complexes for docking of the ligand into receptor. The main point of the approach is an interpretation of multitude of protein conformational states as a range of separated structures (clustering procedure). The conformational field of the receptor molecule was calculated using GROMACS 3.0. Clustering was performed with g_cluster module of the GROMACS package by comparing of mean square deviations of different receptor conformations. It results in a range of CDK2 structures that have been used for docking in AutoDock program with different 3-phenoxy-7-hydroxy-8-aminomethylchromones. Previously, a biological anticancer prescreening for analyzed compounds was carried out in three human tumor cell lines. Prescreening was performed in American National Cancer Institute in the terms of Developmental Therapeutics Program. The values of docked energy and activity in biological tests were input in statistic function. As a result the correlation between theoretically obtained data and experimental activity values of chromone derivatives was found.

Proposed methodology allows to determine the most active compounds within the homological range on the base of theoretically calculated properties of receptor-ligand interactions.

СЕКЦИЯ:

«ЭКСТРАКТЫ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ПИЩЕВЫЕ ДОБАВКИ»

РАЗРАБОТКА ПРОМЫШЛЕННОЙ ТЕХНОЛОГИИ ЛЕЧЕБНЫХ ФИТОЧАЕВ РАЗЛИЧНОЙ НАПРАВЛЕННОСТИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

Безчаснюк Е. М., Георгиевский В.П., Кучер О.В., Оболенцева Н.Т.

Государственный научный центр лекарственных средств
e-mail: lubilost@yahoo.com

Разработка промышленной технологии лечебных фиточаев различной направленности терапевтического действия является перспективным направлением создания лекарственных средств. Указанные препараты могут быть в форме водорастворимых гранул (порошков), измельченных сборов растительного сырья в однодозовых или фильтр-пакетах или в виде твердых капсул.

В лаборатории технологии фитохимических производств ГНЦЛС разработана ресурсосберегающая технология и лекарственная форма гранулированных растворимых фиточаев, охватывающих практически все основные фармакотерапевтические группы.

Фиточай слабительный (патент Украины № 38567 А) - для лечения запоров различной этиологии. Его растительные действующие вещества, входящие в состав коры крушины, листа крапивы, травы тысячелистника, способствуют усилению двигательной активности кишечника.

Применяется в качестве мягко действующего слабительного средства при хронических запорах , энтероколитах с гипомоторным синдромом, недостаточности моторики кишечника, обусловленной длительным пребыванием в постели и другими причинами.

Фиточай грудной (патент Украины № 38566 А)- получен из корней алтея, листьев мать-и мачехи, травы душицы. Применяют его в качестве отхаркивающего противовоспалительного средства при острых и хронических заболеваний дыхательных путей (бронхит, пневмония, бронхоэктазия). Он способствует разжижению и более быстрой эвакуации мокроты.

Фиточай желудочный (патент Украины №- №37828 А)содержит активные вещества из коры крушины, листьев крапивы и мяты перечной, корневищ с корнями валерианы, корневищ аира и может применяться при нарушении функции желудочно-кишечного тракта, диспепсии, гастралгии, заболеваниях печени и желчного пузыря, как успокаивающее средство. Чай активирует перистальтику толстого и тонкого кишечника, увеличивает объем желудочного сока, оказывает умеренное противовоспалительное действие на слизистую желудка, повышает свертываемость крови.

Фиточай желчегонный (патент Украины № 36804 А)- представляет оптимальную комбинацию активных веществ из цветков бессмертника, листьев мяты перечной, травы тысячелистника, плодов кориандра. Его применяют при хронических холециститах, гепатите, дискинезии желчных путей. Он усиливает секрецию желчи и оказывает противовоспалительное и спазмолитическое действие.

Фиточай мочегонный (патент Украины № 37829 А)- получен из листьев толокнянки, березовых почек и корней солодки. Применяется в качестве мочегонного средства при острых и хронических заболеваниях почек и мочевыводящих путей , отеках почечного и сердечного происхождения. Чай усиливает мочеотделение и оказывает противовоспалительное действие.

Фиточай Ромашковый (патент Украины № 42206 А) - содержит сумму биологически активных веществ из ромашки аптечной. Применяется для диетического питания лиц с заболеваниями органов пищеварения (язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки, гастриты с пониженной сохраненной секреторной функцией, гепатиты, холециститы, колиты, энтероколиты), при пониженном аппетите.

DEVELOPMENT OF INDUSTRIAL TECHNOLOGY OF MEDICAL PHYTOTEAS OF DIFFERENT THERAPEUTIC ACTION

Bezchasnyuk E. M., Georgievski V.P., Kucher O.V., Obolentseva N.T.

State Scientific Center of Drugs (SSCD)
e-mail: lubilost@yahoo.com

The development of industrial technology of medical phytoteas of different therapeutic action is a perspective for the creation of pharmaceuticals. These drugs can be in the form of water-soluble beads (powders), crushed blends of plant crude drugs in form of the onedosage package or filter- packages or in the form of firm capsules.

In the laboratory of phytochemical production technology in SSCD the care method and medicinal form of granulouse solvable phytoteas are developed. These phytoteas are covered practically all main therapeutic groups.

Laxative phytotea (patent of Ukraine № 38567 A) – is used for the treatment of constipations of different etiology. Its vegetative active substances from cortex Frangulae alni, folia Urticae diocae, herba Achilleaea millefolii, promote intensification of intestine contractility. It is applied as softly working laxative at chronic constipations, coloenteritis with hypomotor syndrome, failure of an intestine contractility, which is stipulated by prolonged stay in bed and other causes.

Expectorative phytotea (the patent of Ukraine № 38566 A) is obtained from the radices Althaeae, folia Tussilaginis farfarae, herba Origani vulgaris. It is applied as an expectorative anti-inflammatory drug at acute and chronic diseases of respiratory pathways (bronchitis, pneumonia, bronchiectasia). It promotes a colliquation and faster evacuation of a sputum.

Stomachic phytotea (the patent of Ukraine № №37828 A) contains active substances from a cortex Frangulae alni, folia Urticae dioicae, folia Menthae piperitae, rhizomata cum radicibus Valerianae, rhizomata Acori calami. It can be applied at functional disorders of a gastrointestinal pathway, dyspepsia, gastralgia, diseases of a liver and gallbladder, as a calmative. The tea activates a peristalsis of a large and small intestine, enlarges volume of a gastric juice, has moderate anti-inflammatory effect on the stomach mucosa, and increases a coagulability of blood.

Cholagogue phytotea (the patent of Ukraine № 36804 A) has an optimum combination of active substances from flores Helichrysi arenarii, folia Menthae piperitae, herba Achilleaea millefolii, fructus Coriandrum sativum. It is applied at chronic cholecystites, hepatitis, dyskinesia of cholic pathways. It enhances a biliary secretion and has anti-inflammatory and spasmolytic effects.

Diuretic phytotea (the patent of Ukraine № 37829 A) is obtained from folia Arctostaphyli uvae ursi, gemmae Betulae and radices Clycyrrhiza glabra. It is applied as a diuretic at acute and chronic diseases of nephroses and urinary pathways, edemas of a renal and cardiac origin. This tea enhances uropoiesis and has anti-inflammatory effect.

Camomile phytotea (the patent of Ukraine № 42206 A) contains the sum of biologically active substances from flores Chamomillae recutitae. It is applied to a dietary feeding of the persons with diseases of digestion organs (round duodenal or stomach ulcer, gastritis with reduced secretory function, hepatitises, cholecystites, colitises, coloenterites), at hyporexia.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СУММАРНОГО РАСТИТЕЛЬНОГО ЭКСТРАКТА, ОБЛАДАЮЩЕГО ВЫТРЕЗВЛЯЮЩИМИ СВОЙСТВАМИ

Белостоцкая Л.И., Гомон О.Н., Чайка Л.А., Безчаснюк Е.М.

Государственный научный центр лекарственных средств (ГНЦЛС)
e-mail: lubilost@yahoo.com

Одной из медико-социальных проблем Украины является алкоголизм и похмельный синдром в связи с выраженными тенденциями к повышению распространенности алкоголизма, масштабами употребления алкоголя в субтоксических и токсических дозах, особенностями алкогольного рынка (чрезвычайно низкий удельный вес слабоалкогольных напитков в структуре потребления, распространенность самогоноварения, большой объем фальсифицированной продукции), а в стадии похмельного синдрома – снижением умственной и физической работоспособности, повышением опасности травматизма. С целью профилактики и лечения явлений похмельного синдрома используют лекарственные средства растительного происхождения, способные купировать алкогольные эксцессы, абстинентные симптомы и нормализовать соматическое состояние больных.

В ГНЦЛС с использованием оригинальной технологии получен суммарный экстракт из сбора 8 официнальных лекарственных растений, предназначенный для устранения похмельного синдрома, и проведено предварительное изучение его вытрезвляющего эффекта на животных и на добровольцах.

В 1-ой серии экспериментов исследовали действие экстракта в тесте этанолового наркоза на нелинейных мышах, регистрируя продолжительность наркотического сна по боковому положению животных. Исследуемый экстракт вводили внутрижелудочно за 40 мин до введения наркотизирующей дозы этанола (0.304 U/кг; внутрибрюшинно). Установлено, что введение экстракта оказывает выраженное антиалкогольное действие, сокращая продолжительность наркотического этанолового сна; $ЭД_{50}$ составляет 0.90 г/кг.

Вторая серия исследования проведена на добровольцах (средний возраст 40,94±1,45 лет) с помощью стандартного теста самооценки САН (Доскин В.А. и др. // Вопр. психологии. – 1973. - N 6. – С. 141-144). В утреннее время добровольцы заполняли бланковый тест оценки самочувствия, активности и

настроения, после чего вечером потребляли алкоголь в дозе 20±4.5 U; повторные заполнения опросника проводились на следующее утро до и через 1-1.5 час после лечения исследуемым экстрактом в дозе 2.8-3.3 г.

Средние исходные баллы добровольцев составляли: самочувствие – 5.24±0.16, активность – 4.78±0.34, настроение – 5.34±0.17, в целом – 5.12±0.18. Следует отметить примерно равное соотношение отдельных показателей, что характерно для здоровых отдохнувших людей. На следующее утро после принятия алкоголя рассчитанные величины составляли соответственно 4.15±0.40, 3.73±0.45, 5.02±0.24, 4.30±0.34, что свидетельствует о снижении самооценки активности (подвижность, скорость протекания функций) и самочувствия (сила, здоровье, утомление). При этом самооценка настроения (эмоциональное состояние) практически не изменялась. Через 1-1.5 час после лечения разработанным экстрактом средний балл для самочувствия – 5.44±0.21, активности – 5.04±0.33, настроения – 5.24±0.52, в целом – 5.24±0.34. Таким образом, лечение экстрактом полностью восстанавливает нарушение самооценки активности и самочувствия до исходного уровня.

У 23.5% добровольцев потребление алкоголя не вызвало каких-либо значимых изменений в тесте САН. Прием экстракта этой группой добровольцев не повлиял и на результаты последующей самооценки.

В целом, полученный экстракт из сбора 8 официнальных растений оказывает выраженное вытрезвляющее действие и является перспективным для разработки эффективного лекарственного средства для устранения похмельного синдрома.

PHARMACOLOGICAL RESEARCH OF TOTAL PLANT EXTRACT WITH SOBERING PROPERTIES

Bilostotska L.I., Gomon O.N., Chaika L.A., Bezchasnyuk E.M.

State Scientific Centre of Drugs (SSCD)
e-mail: lubilost@yahoo.com

Alcoholism and “the morning after the night before” syndrome is one of medical and social problems of Ukraine in connection with the expressed rising tendencies to the rising of alcoholism abundance, scales of the use of alcohol in subtoxic and toxic doses, features of the alcoholic market (extremely low proportion of weak-spirituous drinks in frame of consumption, abundance of home-distilled vodka, great volume of falsified production). The stage of “the morning after the night before” syndrome is characterized by lowering mental and physical efficiency, rise of danger of traumatism. With the purpose of prophylaxis and treatment of the phenomena of this syndrome pharmaceuticals of a plant origin, capable to stop alcoholic kurtosises, abstinent signs and to normalize a somatic state of the patients, are used.

In SSCD with usage of original technology the total extract with sobering properties is obtained from the 8 species of official medicinal plants. The preliminary study of the sobering properties of this extract is conducted on the animals and on the volunteers.

In 1-st series of experiments the effect of the extract was studied in the test of ethanol narcosis on nonlinear mice and the duration of narcotic sleep on a side position of animal was registered. The extract was introduced perorally for the 40 min before administration the narcotic dose of ethanol (0.304 U/kg; intraperitoneally). It was established, that the extract administration reduced the duration of narcotic ethanol sleep, i.e. it resulted in expressed antialcoholic effect; ED_{50} was 0.90 g/kg..

The 2-nd series of research was conducted on the volunteers (mean age 40.94±1.45) with the use of the standard test of a self-rating HAM (health, activity, mood; Доскин В.А. // Вопр. психологии. - 1973. - N 6. - С. 141-144). In the morning the volunteers filled in the test questionnaires for assessment of the initial state of health, activity and mood, then in the evening they consumed alcohol in the dose 20±4.5 U; the repeated completing of questionnaires were conducted the next morning before and 1-1.5 hours after treatment by the studied extract in a dose 2.8-3.3 g.

The mean initial marks of the volunteers were: state of health - 5.24±0.16, activity - 4.78±0.34, mood - 5.34±0.17, as a whole - 5.12±0.18. It should be noted that there was equal interrelation of separate parameters and it is typical for the healthy rested people. The next morning after acceptance of alcohol the calculated values were 4.15±0.40, 3.73±0.45, 5.02±0.24 and 4.30±0.34 accordingly, that testified to the lowering of self-rating of activity (motility, rate of passing of functions) and state of health (force, health, tiredness). The self-rating of mood (emotional state) practically did not change. In 1-1.5 hours after treatment by the extract the mean mark

for state of health was 5.44±0.21, activity - 5.04±0.33, mood - 5.24±0.52, as a whole - 5.24±0.34. Thus, the treatment by the extract completely returns self-rating of activity and state of health to the initial level.

For 23.5% of the volunteers the consumption of alcohol has not caused any significant changes in the test HAM. In this group of volunteers, the extract administration has not affected the results of the subsequent self-rating.

As a whole, the obtained total extract from the 8 species of official plants has the expressed sobering effect and is the perspective basis for creation an effective medicine for elimination of "the morning after the night before" syndrome.

ГРИБЫ – ПРОДУКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ. ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СУХОГО ПОРОШКА ИЗ ГРИБОВ СИИТАКЕ, ВЕШЕНКА И GANODERMA

Винарская Е.И., Кононко И.В., Никонова Н.А., Григоренко Л.Е., Федорик С.М.

Институт гигиены и медицинской экологии им. А.Н. Марзеева АМН Украины
Национальный авиационный университет Украины
e-mail: lgrig@usch.kiev.ua

Среди новых дополнительных источников сырья в качестве потенциального резерва в настоящее время рассматриваются продукты биотехнологии, в частности грибы. Открытие принципиальной возможности глубинного культивирования мицелиальной биомассы высших грибов на мало утилизируемых пищевых средах поставило этот процесс в ряд конкурентоспособных технологических решений.

Пищевая ценность для территории Украины продуктов – сухих порошков из грибов сиитаке (Shi-Take), Ganoderma Lucidum и вешенки обыкновенной (Pleurotus ostreatus) обусловлена содержщимися в них углеводами (50-60%), протеинами, в состав которых входят все ессенциальные аминокислоты (20-25%), пищевыми волокнами (910%), липидами (3-6%), витаминами B_1, B_2, B_{12}, PP, пантотеновой кислотой и минеральными элементами (железо, марганец, калий, магний, кадмиий, медь, цинк, никель).

В месите с тем, принимая во внимание возможность развития адаптационной реакции организма к новому составу и сведения о побочных эффектах, вызванных различными компонентами грибов (расстройство пищеварения, аллергические реакции), мы сочли необходимым провести иммунотоксикологическое тестирование указанных продуктов в дозах 0.5%, 5, 10, 25 и 50% замены белка в рационе в ходе 1-12 месячных экспериментах на белых беспородных крысах.

Полученные результаты свидетельсвуют о том, что дозы 0.5 и 5 % грибного пороошка из вешенки и 5, 10 % из сиитаке не вызывали существенных изменений Т- и В-клеточного иммунитета. Наблюдалось стимулирующее дейсвтие указанных доз вешенки и 25% дозы сиитаке на показатели неспецифической резиситентности (пролиферация и фагоцитарная активность нейтрофильных гранулоцитов крови).

При пролонгировании сроков эксперимента до 6-12 месяцев (сиитаке), а также при увеличении дозы потребляемого продукта до 50% (вешенка) установили различные изменения динамики иммунного ответа (Т-, В-истем и неспецифических факторов защиты), а также развитие реакций сенсибилизациипо замедленному (реакция торможения распластывания макрофагов) и немедленному (тест Шелли) типам. Сухой порошок из гриба Ganoderma Lucidum в аггравированных дозах (10-25%) также вызывал слабо выраженную аутосенсибиизацию как при кратковременном (1 месяц), так и при длительном (6 месяцев) потреблении.

В сявзи с изложенным выше следует рекомендовать производить контроль за дозировкой потребляемых в пищу нетрадиционных продуктов биотехнологии, таких как сухие порошки из мицелиальной биомассы высших съедобных грибов сиитаке, ганодерма и вешенка. Сделано заключение о том, что исследуемые продукты можно использовать в питании человека в качестве добавок, а принимая во внимание их стимулирующее влияние на ряд иммунобиологических факторов в составе лечебно-профилактических продуктов.

Вв

FUNGI - PRODUCTS OF BIOTECHNOLOGY. IMMUNOBIOLOGICAL PROPERTIES OF DRY POWDER FROM MUSHROOMS OF SHII-TAKE, PLEUROTUS OSTREATUS AND GANODERMA LUCIDUM

E.I. Vinarskaya, I.V. Kononko, N.A. Nikonova, L.H. Grigorenko, S.M. Fedorik

A.N. Marzeyev Institute for Hygiene and Medical Ecology of Academy of Medical Sciences of Ukraine, National Aircraft University of Ukraine
e-mail: lgrig@usch.kiev.ua

Among the new additional raw sources at present the products of biotechnology, in particular fungi, are considering as potential reserve. The discovery of principle possibility of deep cultivation of highest fungi mycelium biomass in the poor utilized nutritious media put this process in the range of competitionable technological decisions. The nutritional value of the new for the territory of Ukraine products * the dry powders from the fungi of Shii-Take, Pleurotus ostreatus and Ganoderma lucidum is stipulated by carbohydrates (50–60%), proteins in which composition getting all essential amino acids (20–35%), food fibers (9-10%), lipids (3-6%), vitamins B_1, B_2, B_{12}, PP, panthotenic acid and minerals (Fe, Mn, K, Ca, Mg, Cd, Cu, P, Zn, Ni) that are containing in them. At the same time taking into account the possibility of organism adaptation reactions' development for new composition and data on side effects caused by different fungi components (digestive disturbance, allergic reactions) we considered that it was necessary to conduct the immunotoxicological testing of indicated products in 0,5%, 5,0, 10,0, 25,0 and 50% dozes of protein substitute in diet during 1–12 month's experiments on the white non pedigree rats.

The obtained results testify that the dozes of 0,5 and 5,0% of Pleurotus ostreatus' powder and 5,0 and 10,0% dozes of Shii-Take' one didn't cause the significant changes in T- and B-immunity. The stimulating effect of indicated dozes of Pleurotus ostreatus and of 25% one of Shii-Take for nonspecific resistance (proliferation and phagocytic activity of blood neutrophylic granulocytes) was observed. By the prolongation of experiments' terms up to 6–12 months (Shii-Take) and increase of consuming product' doze to 50% (Pleurotus ostreatus) we established the different violations in immune response' dynamics (T-, B-system and nonspecific defense factors) as well as development of delayd (macrophags' spreading braking reaction) and immediate (Shelly's test) hypersensitivity reactions too. The dry powder of Ganoderma fungi in aggravated dozes (10 and 25%) caused the poorly expressed autosensitization under the short-time (1 month) and long-term (6 months) consumption too. Considering aforesaid it is recommending to check up the dosage of nontraditional products of biotechnology consuming with food, such as dry powders of the highest edible fungi mycelium biomass' of Shii-Take, Pleurotus ostreatus and Ganoderma lucidum. It was concluded that investigated products can be used in human nutrition as additives and considering their stimulating influence for the number of immunologic factors – in composition of medicinal-and-prophylactic products.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ИММУНОФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ НЕКОТОРЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ.

Гладкова Л.В., Литвинова Е.В., Филипповская А.Г., Логвинова Н.П., Деркач А.И., Котов А.Г., Белоконь А.Ф., Кобец Т.А.

Государственный научный центр лекарственных средств (ГНЦЛС)
e-mail: lubilost@yahoo.com; maslov@ire.kharkov.ua

Целью настоящего исследования явилось проведение иммунофармакологического скрининга двух растительных экстрактов, полученных в лаборатории гетероциклических соединений ГНЦЛС.

Экстракт №1 содержит: полисахариды и их мономеры, в частности инулин и фруктаны; фенолкарбоновые кислоты и их производные: эхинакозид; цикориевую, кофеатную, кафаровую и хлорогеновую кислоты, цинарин; флавоноиды: лютеолин, лютеолин-7-глюкозид, кемпферол и его 3-глюкозид и 3-рутинозид, кверцетин и его 3-глюкозид, 3-ксилозид, 3-арабинозид, рутин; ненасыщенные углеводороды, алкиламиды ненасыщенных кислот.

Экстракт №2 содержит: аскорбиновую кислоту, каротин и другие каротиноиды, витамины группы В и К. фитонциды, микроэлементы (железо, медь, марганец, хлорофилл, органические кислотами (муравьиную, кофейную, феруловую и др.); белки, дубильные вещества; ацетилхолин, гистамин и 5-гидрокситриптамин.

Изучена иммуномодулирующая активность на лимфоцитах здоровых добровольцев in vitro; антиоксидантная активность in vitro и in vivo на моделях ГЗТ, антителогенеза, иммунодефицита и аллергопатологий на белых мышах, мышах СВА , морских свинках и белых крысах. Изучался ряд иммунологических и биохимических показателей, а также общесоматические показатели состояния животных, подтверждающие адекватность избранных моделей и эффективность изучаемых растительных экстрактов.

Показано, что экстракт №1 обладает большей степенью иммунокорректирующей активности, оказывая стимулирующее действие на неспецифический и специфический иммунитет, не нарушая баланса между клеточным и гуморальным иммунитетом. При профилактическом введении выявлено иммунопротективное действие экстракта №1 в модели иммунодефицита, кроме того экстракт №1 предупреждает развитие аллергических (аутоиммунных) реакций замедленного и немедленного типа. Оказывает антиоксидантное и гепатопротекторное действие при развитии аллергических (аутоиммунных) реакций.

Экстракт №1 можно рекомендовать как иммуномодулирующее, противоаллергическое, противовоспалительное и общеукрепляющее средство.

Экстракту №2 присуща антиоксидантная и мембранстабилизирующая активность, а также десенсибилизирующее действие у животных с экспериментальной аутоиммуной (аллергической патологией). Антиоксидантное воздействие экстракта №2 при аллергической (аутоиммунной) патологии явилось одной и форм терапии нарушений метаболизма, воздействующей на неспецифические общефизиологические процессы.

Экстракт №2 можно рекомендовать как антиоксидантное, иммуномодулирующее, десенсибилизирующее, противовоспалительное и дезинтоксикационное средство.

COMPARATIVE IMMUNOPHARMACOLOGICAL SCREENING OF SOME PLANT EXTRACTS

Gladkova L.V., Litvinova E.V., Philippovskaya A.G., Logvinova N.P., Derkatch A.I., Kotov A.G., Belokon A.P., Kobets T.A.

State Scientific Center for Drugs (SSCD)
e-mail: lubilost@yahoo.com; maslov@ire.kharkov.ua

The aim of our investigation was to fulfil the immunopharmacological screening of the two plant extracts produced in SSCD by the laboratory of heterocyclic compounds.

Extract No1 consists of polysaccharids and their monomers such as inulin and fructans; phenolcarbolic acids and their derivatives: echinacosit; chicory, coffeeate, caffar, and chlorogen acids, cynarix, flavonoids: luteolin, luteolin-7-glucoside, cempferol and its 3-glucoside and 3-rutixoside quartzetine and its 3-glucoside, 3-xyloside, 3-arabinoside, rutin; unsalturated hydrocarbons, alkylamide of unsaturated acids.

Extract No2 consists of ascorbic acids, carotin, and other carotinoids, vitamin groups B and K; phytoncides, trace elements (iron, copper, manganum), chlorophyl, organic acids (aminic, coffeine and etc.); proteins, tannic agents; acetylcholine, histamine, and 5-hydroxytryptamine.

It was studied the immunomodulated activity on lymphocytes of healthy voluteers in vitro; antioxydate activity in vitro and vivo on GZT models, antitelogeneses, immunodeficiency and allergopathology on white mice, CBA mice, guinea pigs, and white rats. Studying series of immunological and biochemical indices and also general somatic indices of animals condition, confirmed the identity of selected models and the efficacy of studying the plant extracts.

It was shown that extract No1 had the great level of immunocorrective activity, had stimular effect on unspecific and specific immunity did not distroing the balance between cell and humoral immunities. On prophylactic injection revealed immunoprotective effect of extract No1 in immunodificit model, besides extract No1 prevented the development of allergic (autoimmune) reactions slowed-up and immediate types. It had antioxidate and hepatoprotective effects in development allergic (autoimmune) reactions.

Extract No1 can be recommended as immunomodulated, antiallergic, antiinflammatory and general improved agent.

Extract No2 has antioxidate and membranstabilize activity and also desensitizing effect in animals with experimental autoimmune (allergic) pathologies. Antioxidate extract No2 influence in alleric (autoimmune) pathologies was one of therapy of metabolism disorders influencing on nonspecific general physiologic processes.

Extract No2 can be recommended as antioxidate, immunomodulate, desesitizing, antiinflammatory and detoxication agent.

СЕДАТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ НОВОГО РАСТИТЕЛЬНОГО ЭКСТРАКТА

Гомон О.Н., Чайка Л.А., Белостоцкая Л.И., Безчаснюк Е.М.

Государственный научный центр лекарственных средств (ГНЦЛС)
e-mail: lubilost@yahoo.com

Фармакотерапия невротических состояний является актуальной проблемой в связи со значительным ростом психических заболеваний и увеличением в их структуре депрессий, суицидальных действий, алкогольной, медикаментозной зависимости, наркомании. Для лечения невротических состояний широко применяются седативные препараты, в том числе растительного происхождения. Несмотря на успехи синтетической химии, по мнению ВОЗ признаны целесообразными разработка и производство эффективных и достаточно безопасных растительных лекарственных средств на основе опыта народной медицины мира. Наибольшей мировой популярностью среди многокомпонентных лекарственных средств растительного происхождения пользуются сборы и экстракты. При этом сборы остаются наиболее дешевыми, но характеризуются сложностью стандартизации, неточностью дозирования при применении, повышенной опасностью радиационного и микробного загрязнения, неудобством применения, а экстракты – наиболее удобными и стандартизованными из галеновых препаратов, которым отдают предпочтение и врачи, и пациенты.

В ГНЦЛС по оригинальной технологии (положительное решение на выдачу патента по заявке № 2000105832 от 16.10.2000 г.) разработан метод получения суммарного экстракта из 5 видов лекарственного растительного сырья, являющихся официнальными для Украины, и обладающего седативными свойствами.

Задачей настоящей работы явилось комплексное исследование специфических свойств полученного экстракта, которые оценивали в общепринятых в психофармакологии тестах - по влиянию на поведенческие реакции крыс в тесте «открытое поле»; на агрессивность мышей, индуцированную клофелином; на показатели «тиопенталового сна» у крыс.

Установлено, что в тесте «открытое поле» 7-дневное внутрижелудочное введение крысам экстракта в дозе 0,5 г/кг снижает спонтанную двигательную активность на 61%, исследовательскую активность - на 87% и эмоциональную активность - на 100%, т.е. оказывает выраженный депримирующий эффект на поведенческие реакции. Выявлено выраженное антиагрессивное действие разработанного экстракта - при клофелин-индуцированной агрессивности однократное внутрижелудочное введение в дозах 0,25 и 0,5 г/кг мышам за 1 час до инъекции клофелина дозозависимо уменьшает число агрессивных контактов при $ЭД_{50}$ антиагрессивного эффекта 0,31 г/кг. В тесте «барбитурового сна» показано, что экстракт (0,5 г/кг) потенцирует снотворные эффекты тиопентала натрия, сокращает латентный период усыпания в 1,3 раза и повышает продолжительность сна в 2,2 раза относительно нелеченного контроля.

Таким образом, изученный суммарный экстракт из 5 видов лекарственных растений оказывает комплексное седативное действие на ЦНС, обусловленное свойствами биологически активных веществ исходных лекарственных растений (иридоидов, флавоноидов, органических кислот и др.). Он обладает мягким успокаивающим действием, уменьшает психоэмоциональное напряжение, повышенную чувствительность к внешним раздражителям и, связанные с этим, проявления вегетативной дисфункции.

SEDATIVE EFFECTS OF THE NEW PLANT EXTRACT

Gomon O.N., Chaika L.A., Bilostotska L.I., Bezchasnyuk E.M.

State Scientific Centre of Drugs (SSCD), Kharkov, Ukraine
e-mail: lubilost@yahoo.com

The pharmacotherapy of neurotic states is an actual problem in connection with considerable growth of mental diseases and increasing of depressions, suicidal acts, alcoholic, medicamental dependence, drug addiction in their frame. The sedative drugs, including drugs of plant origin are widely applied for treatment of neurotic states. Despite of successes of synthetic chemistry, by the opinion of WHO the creation and production of effective and rather safe plant drugs on the basis of experience of folk medicine are expedient. The use of blends

and extracts is of the greatest world popularity among multicomponent pharmaceuticals of plant origin. At the same time the blends remain the cheapest, but they are characterized by complexity of standardization, inaccuracy of dosing at application, heightened danger of radiation and microbial contamination, inconvenience of application. The extracts are the most convenient and standardized from galenic drugs, and are prefered by doctors and patients.

In SSCD with the use of original technology (the positive conclusion for the patent, application N 2000105832, 16.10.2000) the method of obtaining of total extract from 5 species of medicinal plants is elaborated. All this plants are official for Ukraine and the total extract has sedative properties.

The aim of the present work was the complex research of specific properties of the obtained extract, which were estimated in the tests, generally accepted in a psychopharmacology, - influence on behavioural responses of rats in the test «the open field»; aggressiveness induced by Clophelinum on mice; parameters of «barbiturate sleep» on rats.

It was shown, that in the test «the open field» 7-day's perorally administration of the extract in a dose of 0,5 g/kg reduced a spontaneous motor activity by 61%, exploratory activity - by 87% and emotional activity - by 100%, i.e. it significantly depressed the behavioural responses. The expressed antiaggressive effect of the extract was detected: at Clophelinum-induced aggressiveness single perorally administration of the extract in doses 0.25 and 0.5 g/kg to mice 1 hour prior to an injection of Clophelinum resulted in the dose-dependent manner decrease of the number of aggressive contacts; ED_{50} of antiaggressive effect – 0.31 g/kg. In the test of «barbituric sleep» it was shown, that the extract (0.5 g/kg) increased somnolent effects of Thiopentalum sodium, shortened the latent period in 1.3 times and increased duration of sleep in 2.2 times in comparison with nontreated control.

Thus, the total extract from 5 species of medicinal plants has complex sedative effect on a CNS caused by properties of biologically active substances of the initial medicinal plants. It has mild abirritating action, diminishes psychoemotional tension , hypersensibility to exogenous stimuluses and as a result eliminates manifistation of a vegetative dysfunction.

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ГРИБОВ СИИТАКЕ И ГАНОДЕРМЫ КАК БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК К РАЦИОНУ ПИТАНИЯ

Гулич М.П., Ольшевская О.Д., Ятченко Е.А., Оноприенко Е.Н., Винарская Е.И., Никонова Н.А., Кононко И.В., Григоренко Л.Е., Бисько Н.А.

Институт гигиены и медицинской экологии им. А.Н. Марзеева АМН Украины
Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины
e-mail: lgrig@usch.kiev.ua

В настоящее время во многих странах мира высшие базидиальные грибы рассматривают не только как источник пищевого белка, но и как ценное сырье для получения биологически активных веществ (БАВ), используемых при создании лечебно-профилактических средств широкого спектра действия. В качестве источников сырья используют традиционно съедобные грибы, такие как шампиньон (Agaricus bisporus), сиитаке (Lentinus edodes), вешенка (Pleurotus ostreatus), а также некоторые виды дереворазрушающих грибов, плодолвые тела которых издавна используются в народной медицине, такие как тутовик лакированный - ганодерма (Ganoderma lucidum). В последнее время значительное внимание уделяется исследованиям, направленным на изучение возможности применения высших грибов, как сырья для получения БАВ.

Специалистами Института ботаники им. Н.Г. Холодного НАНУ получены перспективные штаммы продуцентов и созданы приемлемые биотехнологические процессы получения сухого порошка гриболв сиитаке и ганодермы. Гигиеническая регламентация использования высших грибов представляет научный интерес с точки зрения установления пищевой и биологической ценности, выявления биологической активности и адаптогенных свойств, обусловленных их влиянием на организм человека. Мицелий высших грибов сиитаке и ганодермы, не смотря на имеющийся опыт их использования, не может быть исключением, поскольку химический состав связан с условиями культивирования. Установлено, что содержание белка в мицелии высших грибов, полученных методом глубинного культивирования в пересчете на сухую массу, колеблется от 21 до 45%, мицелий содержит достаточное количество углеводов, их сумма в среднем составляет от 20 до 78%. Мицелий является хорошим источником ряда витаминов, особенно горуппы В. Отмечено, что среди метаболитов, продуцируемых высшими грибами сиитаке и ганодерма имеются вещества, обладающие антиоксидантными свойствами, радиопротекторным, противоопухолевым воздействием, способствующие укреплению иммунной системы, снижающие содержание холестерина, уменьшающие свертывание крови. Для решения

вопросов, связанных с использованием сухого порошка грибов сиитаке и ганодермы в качестве биологически активной добавки к пищевому рациону питания, ведущая роль отводится медико-биологическим исследованиям, поозволяющим исключить их возможную опасность. В ходе экспериментального исследования, проведенного на лабораторных животных в течение шести месяцев было отмечено, что изучаемые объекты не оказывали отрицательного влияния на рост и развитие животных. Отсутствовали нарушения функционального состояния печени и почек. Отмечено статистически достоверное увеличение содержания тиоловых групп небелковой природы, свидетельствующие о возрастании антиоксидантного потенциала, носителем которого является дипептид глутатион, содержащийся во фракции SH-групп небелковой природы. Выявлено снижение уровня холестерина в сыворотке крови опытных животных. Установлено положительное дейсвтие на антиоксидантную систему и процессы окисления липидов. Такиа образом, проведенный комплекс исследований экспериментально показал, что сухой порошок грибов сиитаке и ганодермы не оказывали неблагоприятного эффекта на органихзм лабораторных животных, что дает основание рекомендовать их применение как БАВ.

MEDICAL AND BIOLOGICAL ASSESSMENT OF LETINUS EDODES AND GANODERMA LUCIDUM AS BIOLOGICAL ADDICTIVES TO NUTRITION RATION

M.Gulich, O.Olshevska, Ye.Yatchenko, Ye.Onopriyenko,Ye.Vinarska,
N.Nikonova, I. Kononko, L. Grigorenko, N.Bisko

A.N.Marzeyev Institute for Hygiene and Medical Ecology of the Academy of Medical Sciences of Ukraine,
H.G.Kholodny Institute for Botany of the National Academy of Sciences of Ukraine
e-mail: lgrig@usch.kiev.ua

Nowadays in many countries throughout the world the higher funges of the Basidiomycetes class are considered not only as a source of food protein but a valuable raw for the production of the biologically active substances (BAS) using in the creation of medical and prophylactic means of a wide effect range. The traditionally edible funges such as Agaricus bisporus, Lentinus edodes, Pleurotus ostreatus and some other species of wood-attacking funges with the fruit bodies using in the folk medicine such as Ganoderma lucidum are used traditionally as a raw source. Last time a considerable attention has been paid to the researches directed at the study of the possibility of higher funges as a source for BAS production. The perspective strains of the producents have been obtained and acceptable biotechnological processes of Lentinus edodes and Ganoderma lucidum dry powder has been produced by the specialists of the N.G.Kholodny Institute of the Academy of Sciences of Ukraine. The hygienic regulation of the use of the higher funges is of great scientific interest from the point of view of the establishment of food and biological values, revealing of the biological activity and adaptogenic properties stipulated by their exposure on a human health. In spite of the experience of their use the myceliums of higher funges (Lentinus edodes and Ganoderma lucidum) can not be an exception because chemical composition is connected with the cultivation conditions. It has was established the protein content in higher funges mycelium produced by the method of a deep cultivation at the re-count for dry mass fluctuated from 21 to 45%, mycelium contained a sufficient quantity of the carbohydrates, their sum on the average was 21% - 78%. Mycelium is a good natural source of a number of vitamins especially B group. It was determined that among metabolites producing by higher funges Lentinus edodes and Ganoderma lucidum there were the substances with antioxidant properties, radioprotective and antitumoral effects and promoting the strengthening of the immune system, decreasing cholesterol content, decreasing a blood coagulation. For the solution of the problems connected with the use of Lentinus edodes and Ganoderma lucidum dry powder as the biologically active additives to the nutritional ration a leading role belongs to the medical and biological investigations that allow to exclude their possible danger. The results of the experiments had been carrying out on the laboratory animals for six month shown that the objects under investigations didn't affect negatively the growth and development of the animals. There were no disorders in the functional state of liver and kidneys. Statistically authentic increase of the SH-groups of non-protein origin was established. It testified about the increase of the antioxidant potential. Dipeptide glutathione which is contained in the SH-group fraction of non-protein origin is its carrier. A positive effect of lipid oxidation on the antioxidant system was determined. Thus fulfilled research complex demonstrated experimentally that Lentinus edodes and Ganoderma lucidum dry powder didn't affect negatively on the organisms of the laboratory animals. It allows to recommend them for use as BAS.

ПРОБЛЕМЫ ПРМЕНЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК: АСПЕКТЫ ДИСКУССИИ

Гулич М.П., Оьшевская О.Д., Е.Н. Оноприенко, Ятченко Е.А., Емченко Н.Л., Малыжева Т.Д., Белан О.О.

Институт гигиены и медицинской экологии им. А.Н. Марзеева АМН Украины
e-mail: lgrig@usch.kiev.ua

Появление более 10 лет назад в США такого класса продуктов как биологически активные добавки (БАД) было обусловлено неким “социальным заказом” со стороны населания – стремлением их к здоровому образу жизни.

В начале на западе, а теперь и у нашего населения растет сознание и понимание того, что здоровье необходимо сохранять, болезни можно предупредить, а профилактика заболеваний стоит значительно дешевле, чем их лечение. Поэтому, едва появившись в Украине, биологически активные добавки вызвали настоящий бум у населения, стали неотъемлемой частью нашей жизни.

Сегодня при активной поддержке средств массовой информации на рынке Украины предлагается огромное количество различных БАД как зарубежного, так и отечественного производства, которым зачастую приписывают неоправданно чудодейственные свойства. С другой стороны, существует реальная опасность продажи под видом БАД препаратов, которые по сути являются лекарственными средствами. Нередки случаи, когда какая-нибудь фирма регистрирует свой продукт в одной стране как лекарство, а в другой – как БАД. Сегодня БАД согласно Закона Украины “О качестве и безопасности пищевыъ продуктов и продовольственного сырья”, а также “Постановления Кабинета Министров Украины № 1187 от 30.07.1998 г” относятся категории пищевых продуктов специального назначения и регистрируются санитарно-гигиенической службой. В Законе Украины “О качестве и безопасности пищевых продуктов и продовольственного сырья” БАД определяется как “вещества или их смеси, используемые для придания рациону питания специальных лечебных или лечебно-профилактических свойств”. Путаницув оценку статуса БАД вносит то обстоятельство, что в Законе Украины “О лекарственных средствах” к лекарственным средствам отнесены “лекарственные примеси к пищевым продуктам”. Противоречие заключается в том, что вместо термина “добавки” используется теримин “примеси”, а примеси, как известно, - это “чужеродные вещества”, которые не должны присутствовать в пищевыз продуктах.

Такая трактовка БАД отсавляет открытым вопрос: пищевые продукты с лекарственными примесями относятся к к пищевым продуктам, лекарственным средствам или занимают промежуточное положение, приближающее их к лекарствам? Назрела острая необходимость упорядочивания в Украине вопросов экспертизы, регистрации, порядка проведения клинических испытаний, регламентирования показаний к применению дозокомпонентного состава БАД – парафармацевтиков, которые рекламируются с лечебной целью. Для этого необходимо: создать при Министерстве здаровохранения Украины экспертрную комиссию из числа специалистов: гигиенистов питания, фармакологов, клиницистов, токсикологов, представляющих учреждения системы Министерства здравохранения и Академии медицинских наук Украины.

PROBLEM OF BIOLOGICALLY ACTIVE ADDITIVE USE: DISCUSSION ASPECTS

M.Gulich, O.Olshevska, Ye.Onopriyenko, Ye.Yatchenko, N.Yemchenko, T.Malyzheva, O.Belan

A.N.Marzeyev Institute of Hygiene and Medical Ecology of the Academy of Medical Sciences of Ukraine
e-mail: lgrig@usch.kiev.ua

Ten years ago in the USA an appearance of such product class as biologically active additives (BAA) was stipulated by some «social order» of the population. It was a striving for healthy life style. At first in the West and now among our population a consciousness and understanding grow that health should keep, disease may be prevented and prophylaxis of the diseases is cheaper than their treatment. That’s why just appeared the BAAs caused a real sensation among population, became an integral part of our life. Nowadays in Ukraine a great

number of different BAAs of home and foreign production with the unjustified miraculous properties is proposed with the active support of mass media. On the other hand there is a real danger of a sale of the preparations as BAAs that are medicinal agents really. There are infrequent cases when some firm registrates its product as a medicines in one country and as the BAA in the other. Today according to the Law of Ukraine «On the Quality and Safety of the Foodstuffs and Food Raw» and «Resolution of the Cabinet of Ministers of Ukraine N1187 of 30.07.1998» the BAAs refer to the category of the foodstuffs of special purpose and are registered by sanitary and hygienic service. In the Law of Ukraine «On the Quality and Safety of the Foodstuffs and Food Raw» the biologically active additives are determined as «the substances or their mixtures using for the addition of special medicinal or medicinal and prophylactic properties to the nutritional ration». Such a circumstance that in the Law of Ukraine «On Medicinal Agents» «medicinal admixture to the foodstuffs» referred to the medicinal agents carries in a confusion into the assessment of the BAA status. But there is no determination of «medicinal admixtures to the foodstuffs» in the Law. A contradiction is that a term «admixtures» is used instead of «additives» and as it is known the admixtures are the «stranger substances» that must not be in the foodstuffs. Such an interpretation of the BAA leaves a problem unsolved: if the medical admixtures belongs to the foodstuffs, medicinal agents or they are in the intermediate position approaching them to the medicines? An acute necessity of the regulation of the questions for the examination, registration, an order of the carrying out of the clinical examinations, regulations of the use of dose-component BAA composition (parapharmaceutics that are advertised for medical purpose) has been riped.

For that it is necessary to create a Commission of the experts with the participation of different specialists (food hygienists, pharmacologists, clinical physicians, toxicologists representing the institutions of the Ministry of Public Health and the Academy of Medical Sciences of Ukraine) in the Ministry of Public Health of Ukraine.

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК С КОМПОЗИТНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ СЕЛЕНА И ХРОМА НА БИОХИМИЧЕСКИЙ ГОМЕОСТАЗ У ДЕТЕЙ С ЭНДОКРИННОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

Гурло Н.А., Гурло А.Н., Величко М.Г.

Институт биохимии НАН Беларуси, Детский санаторий "Неман-72".
e-mail: stand@mail.ru

В отделении реабилитации для восстановления биохимического статуса детей с измененным гормональным фоном проведено комплексное лечение с введением в диету "Нутрикон-хром", "Нутрикон-селен", изготовитель "НАМИ-Арус", Новосибирск. Для оценки эффективности вводимых веществ учитывали показатели, характеризующие биохимический гомеостаз детей в начале лечения и через 20 дней от момента проведения оздоровительных мероприятий. Диагностический этап включал в себя скрининг и уточняющую диагностику. На скрининговом этапе проводилась обязательная оценка уровня малонового диальдегида, активности аланин- и аспартат- аминотрансфераз, лактатдегидрогеназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в капиллярной крови адаптированными высокочувствительными методами с целью выявления нарушений обмена веществ.

Обследовано 180 детей в разные сезоны года (2-4 квартал 2001 года). Нутрикон-селен и Нутрикон-хром применяли 3 раза утром, в обед и вечером до еды по 1/2 чайной ложки. Продолжительность приема 20 дней. Группа сравнения составляла 90 человек, которые получали традиционно рекомендуемое лечение.

У всех детей в процессе лечения отмечалось улучшение общего самочувствия, уменьшилось количество МДА, снизилась активность ЛДГ, увеличилось количество гемоглобина и кровенаполнения капилляров. При скрининге ЭКГ отмечалась нормализация сердечного ритма, обусловленная нарушением функции автоматизма синусового узла, исчезали активные эктопические комплексы и ритмы, подъем сегмента S-T, что подтверждает свойства данных препаратов, как стимуляторов метаболических процессов в организме, свидетельствует об антиоксидантных свойствах и позволяет ограничить традиционную терапию. Основные показатели вегетативных реакций, регистрировавшиеся методом кардиоинтервалографии и проведением клиноортостатической пробы, приходили к должным нормативным величинам в 87% случаев.

Таким образом, применение данных препаратов в комплексном лечении детей с измененным гормональным фоном может рассматриваться как средство профилактики прогрессирования гормонального дисбаланса у детей.

INFLUENCE OF BIOLOGICALLY ACTIVE ADDITIVES With complex by CONTENTS a SELENIUM And CHROMIUM ON BIOCHEMICAL HOMEOSTASIS in organism a children With ENDOCRINE PATHOLOGY

Gurlo N.A., Gurlo A.N., Velitchko M.G.

Institute of biochemistry NAC Belarus, Baby- sanatorium "Nieman-72".
e-mail: stand@mail.ru

In the branch of rehabilitations for recovering a biochemical status a children with the changed hormonal by the background is conduct complex treatment with the introduction to the diet "Nutricon-chromium", "Nutricon-selenium", manufacturer "NAMI-Arus", Novosibirsk. For the evaluation of efficiency of introductory materials took factors into account, characterizing biochemical homeostasis children at the beginning of initially treatment and in 20 days from a moment of undertaking the sanitary actions. Diagnostic stage comprised of itself comparison and elaborate diagnostics. On comparative stage was conduct obligatory evaluation of level MDA, alanine transaminase and asparagine transaminase, lactatedehidrohenase, glucose-6-phosphatedehidrohenase in capillary shelters by adapted high sensitive methods for the reason revealing the breaking of exchange of materials.

Examine 180 children in different seasons of year (2-4 quarters 2001 year). Nutricon-Selenium and Nutricon-chromium used 3 times in the morning, in the dinner and at night before meal on 1/2 teaspoon. Length of acceptance 20 days. Group of comparison formed 90 persons, who got traditionally, recommended treatment.

In organism a children in the process of treatment was note improvement general feel, is reduce amount MDA, is reduce activity LDH, is enlarge amount of hemoglobin and blood full capillaries. Under comparative ECG was note normalization of warmhearted rhythm, stipulate by breaking a function automatists sinus node, disappeared an active ectopic complexes and rhythms, ascent of segment S-T, that confirms characteristics given preparations, as facilitators of metabolic processes in the organism, witnesses on antioxidant characteristics and allows to limit a traditional therapy. Leading indexes of vegetative reactions, register by the cardiointervalgraphic method and undertaking an orthostatic test came to due normative values in 87% events.

Thereby, using given preparations in the complex treatment a children with the changed hormonal by the background can be consider as a preventive maintenance facility of progressing hormonal disbalance in organism a children.

К ВОПРОСУ О ГОСУДАРСТВЕННОМ РЕЕСТРЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК

Л.М. Даник , А.Е. Подрушняк

Институт экогигиены и токсикологии им.Л.И.Медведя
e-mail: rina@medved.kiev.ua; granmail@mail.ru

Последние годы характеризуются стойким ухудшением состояния здоровья населения Украины, что во многом связано с алиментарным фактором , а именно : изменением структуры и качества питания, дефицитом аминокислот, витаминов, микро- и макроэлементов, полиненасыщеных жирных кислот и др.

Дефицит нутриентов способствует имунной недостаточности, снижению резистентности организма к инфекциям и вредным факторам окружающей среды, снижению работоспособности. Особенно губительна нехватка жизненноважных пищевых веществ в условиях, когда потребность в них возрастает при проживании в экологически неблагоприятных условиях, стрессах, у беременных и кормящих женщин.

В сложившейся ситуации наиболее эффективным путем решения проблемы коррекции структуры питания населения является широкое применение биологически активных добавок. Они не только восполняют дефицит недостающих в рационе веществ, но и поставляют в организм соединения, повышающие сопротивляемость тех или иных органов и систем к действию различных неблагоприятных факторов. БАД при их адекватном применении являются средством оздоровления организма, снижения заболеваемости, повышения эффективности лекарственной терапии, продления активного долголетия. Отличительной чертой БАД является их достаточная ефективность на фоне низкой или полного отсуствия токсичности в силу природного происхождения их компонентов.

Сегодня жителям Украины предлагают свою продукцию более 200 фирм-производителей биологически активных добавок.В то же время отсутствие общедоступной информации о свойствах различных БАД, условиях их применения, недостаточное знание медицинских и фармацевтичеких работников показаний к их применению и , зачастую, недобросовестная реклама БАД затрудняет, а иногда и мешает населению нашей страны сделать правильный выбор.

Следует отметить , что во многих странах, в том числе в России , издается государственный реестр биологически активных добавок.

В настоящее время возникла необходимость создания официального ежегодного издания, содержащего полную информацию о БАД, зарегистрированых на территории Украины.В реестре будет содержаться информация о названиях биологически активных добавок, их производителях, регистрационном номере, сроках действия, форме упаковки. Предполагается классификация БАД согласно эффектам их действия, перечень биологически активных компонентов БАД. А также справочник биологически активных добавок, где будут представлены сведения относительно состава БАД, рекомендаций по их использыванию, противопоказаний к применению, формы выпуска, условий реализации, срока годности.

Реестр будет составлен на основании первичных документов Министерства здравоохранения Украины – заключений государственной санитарно-гигиенической экспертизы.

Государственный реестр биологически активных добавок станет ежегодным дополняемым изданием, позволяющим получать необходимую информацию о БАД не только специалистам (разработчикам, производителям, работникам минздрава и госсанэпидемслужбы), но и населению.

TO THE QUESTION OF THE STATE LIST OF BIOLOGICALLY ACTIVE ADDITIVES

L.M. Danik, A.E. Podrushniak

Institute of ecohygiene and toxicology by L.I.Medvedia
e-mail: rina@medved.kiev.ua; granmail@mail.ru

Last years are characterized by a stable deterioration of state of health of the population of Ukraine, that in many respects is connected to the nutritional factor, namely: by change of frame and quality of nutrition,deficiency of amino acids, vitamins, micro- and macronutrients, polyunsaturated fatty acids etc.

The deficiency of nutrients promotes reduction resistance of an organism to infection and harmful factors of environment, reduction of work capacity. Especially destructive the shortage of life important alimentary materials in conditions, when the need in them grows as living in ecologically unfavorable conditions, stresses, for the pregnant and nursing mothers.

In thoose circumstances most effective way to solve problem of population food structure correction is wide using of the biologically active additives. They not only fill up the shortage of materials in a ration, but also deliver in an organism compounds, which raise resistibility of organs and systems against actions of the various negative factors. BAA at their adequate using is a remedy of invigoration of an organism, morbidity reduction, rising medicinal therapy efficiency, prolongation of active longevity. Distinguishing feature BAA is its sufficient effectiveness at the same time with low level or absence of toxicity because of natural origin of it components.

Today more than 200 firms - producers of the biologically active additives offer their production for Ukraine inhabitants. At the same time absence of popular information about properties of various BAA, conditions of their use , unsufficient knowledge of the medical and pharmaceutical workers about indications of their using and, frequently, unfair BAA advertising complicates, and sometimes prevents population make a right choice.

It is necessary to note, that in many countries, including Russia, the state list of the biologically active additives is published.

Now there is a necessity of creating official annual edition holding complete information about BAA registered in Ukraine.The list will contain information about names of the biologically active additives, their producers, registration number, periods of validity, form of packing. Also supposed BAA classification according to effects of their using. And reference book of the biologically active additives, where will be performed information about BAA mixture , recommendations and contra-indications about using, form of release, conditions of realization, period of validity.

The list will be formed on the basis of the primary documents of the Ukraine Ministry of Health - conclusions of state sanitary - hygienic commision of experts.

The state list of the biologically active additives becomes the annualy added edition giving necessary information about BAA not only for experts (developers, producers , officials of Health Ministry and sanitary - hygienic service), but also for population.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АПИФИТОПРОДУКТОВ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ И РЕАБИЛИТАЦИИ ЛИЦ, ПОДВЕРГШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ.

Дробинская О.В., Якименко Д.М., Степанов Ю.В., Чайка В.А.

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченка; Институт клинической радиологии НЦРМ
e-mail: biochem@biocc.univ.kiev.ua

Перспективным для лечения и профилактики заболеваний у лиц, подвергшихся влиянию ионизирующего излучения является комплексное использование продуктов природного происхождения. Они имеют ряд положительных фармакологических свойств, у них естественные биологические пути трансформации и выведения, что сводит к минимуму возможность побочных эффектов и делает их пригодными для длительного применения. Кроме того они обладают мощными иммуномодулирующими и регенеративными свойствами. Пищевые добавки из этих продуктов высококалорийные и легко усваиваются, что имеет немаловажное значение в связи с часто встречающейся патологией желудочно-кишечного тракта у лиц, пострадавших в результате аварии на ЧАЭС. Большую ценность для терапии различных заболеваний представляет пчелиный мед в состав которого входит лизоцим - модулятор иммунологических реакций. Специального внимания заслуживают комплексные апифитопродукты, приготовленные на основе меда, содержащие белки, витамины, биологически активные вещества (флавоноиды, тритерпеновые сапонины), антиоксиданты, ферменты и минеральные вещества, которые создают оптимальные условия для регенеративных процессов. К таким препаратам относятся "Флора-7" и "Мелисан-3", разработанные в Институте пчеловодства им. П.И.Прокоповича ААН Украины, основными компонентами которых являются мед, цветочная пыльца, настойка календулы, ликвиритон и экстракт прополиса. Проведено изучение влияния монотерапии указанными препаратами на показатели перекисного окисления липидов (малонового диальдегида) и активность антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы и каталазы) в крови больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС (40 человек). После курса приема препарата "Флора-7" было установлено статистически достоверное снижение концентрации малонового диальдегида на 25% и повышение активности ферментов антиоксидантной защиты- супероксиддисмутазы и каталазы в среднем на 24%. Полученные результаты свидетельствуют, что препарат "Флора-7" оказывает стимулирующее воздействие на антиоксидантную систему защиты организма, направленную на детоксикацию продуктов свободнорадикального окисления, что приводит к снижению концентрации малонового диальдегида. Результаты проведенных исследований показали, что после курса приема препарата "Мелисан-3" все изучаемые показатели были в пределах контрольных величин. Ликвиритон и экстракт прополиса, которые входят в состав этого препарата способствуют заживлению язвенного дефекта, что отражает ряд положительных фармакологических свойств этого апифитопродукта. Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что апифитопродукты нормализуют показатели перекисного окисления липидов и стимулируют активность антиоксидантной системы, а эффективность лечения этими препаратами больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, подвергшихся влиянию ионизирующего облучения можна сопоставить с традиционными схемами лечения.

THE USAGE OF APIPHYTOPRODUCTS IN COMPLEX TREATMENT AND REABILITATION OF PATIENTS WHO WERE EXPOSED TO IONIXING RADIATION.

Drobinskaya L., Yakimenko D., Stepanov U., Chaika V.

Kiev University named after T. Shevchenko
Institute of clinical radiology
e-mail: biochem@biocc.univ.kiev.ua

Complex usage of natural products is very perspective in treatment and preventive maintenance of the diseases of those patients who were exposed to ionixing radiation. It has some positive pharmacological characteristics, naturally biological ways of transformation and lifting-off them, which minimize side effects and

make them suitable for the long usage. Moreover they have high-end immunomodulating and regenerating characteristics. Food components made of these products are high-calorific and digestible, which is of great importance because of wide-spreading pathology of gastrointestinal tract in victims of the Chernobyl accident . Honey is of the great value for the therapy of the different diseases . One of its components is lyzocim - modulator of immunological reactions. Complex apiphytoproducts are of the special attention; they are made of honey, contain proteins, vitamins, biologically active components , antioxidants, ferments and mineral components, which make optimal conditions for regenerative processes. Such preparations are Flora-7 and Melisan-3 , developed in the Institute of apiculture named after P.Prokopovitch, main compounds of which are honey, anther dust, calendula, likviriton and extract of propolis. The analysis of the monotherapy effects of the preparations indicated above was carried out concerning lipid peroxidation (malonic dialdehyde) and activity of antioxidant enzymes - superoxidedismutase and catalase in patients with duodenal ulcer, who took part in the elimination of the effects of the Chernobyl accident (40 persons). After the course of treatment with Flora-7 was defined true decrease of malonic dialdehyde concentration on 25 % and activity of antioxidant enzymes - superoxidedismutase and catalase was 24% higher. The results obtained show that Flora-7 actuates the antioxidant protecting system directed at detoxication of products of free radical oxidation , resulted in decrease of malonic dialdehyde concentration. The results obtained show that after the course of treatment with Melisan-3 all studied activities were in the limits of control quantities. Likviriton and extract of propolis facilitate healing of the ulcer defect, reflecting positive pharmacological characteristics of this apiphytoproduct. The results obtained allow to make a conclusion that apiphytoproducts normalize the characteristics of lipid peroxidation and stimulate the activity of antioxidant system and effectiveness of the treatment of patients with duodenal ulcer having been exposed to ionizing radiation may be juxtaposed with traditional schemes of the treatment.

«СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ВИТАМИНОЛОГИИ В УКРАИНЕ»

Г.В. Донченко

Институт биохимии им. А.В. Палладина НАН Украины
e-mail: dongv@biochem.kiev.ua

Важнейшим направлением функциональной биохимии природных низкомолекулярных биологически активных соединений (БАС) является изучение молекулярных механизмов их метаболизма и функционирования в клетках, поиск путей регуляции этих процессов в организме человека и животных, разработка биотехнологических и химических способов получения новых препаратов указанных соединений с целью их эффективного практического применения.

Согласно современным представлениям процессы усвоения, всасывания, транспорта и реализации внутриклеточного биологического действия БАС происходят с участием специфических белков-акцепторов. Целенаправленный поиск, выделение и исследование функционирования таких белков позволил в последние 10-15 лет приблизиться к пониманию молекулярных механизмов коферментного и некоферментного биологического действия исследуемых в нашем отделе витаминов A, D_3, E, B_1, PP и коферментов (никотинамидных и тиаминфосфатов), расширить спектр их практического применения и выйти на создание новых препаратов метаболического действия на основе БАС, витаминов и их биологически активных производных и метаболитов («Евит-1», «Соевит-Е», «Каротин-М», «Метавит» и др.).

Успешное развитие витаминологии в Украине зависти от решения ряда проблем, которые выносятся на обсуждение Конференции:

ухудшение условий питания и экологических условий с увеличением воздействия стрессовых факторов приводит к увеличению потребности организма в обеспечении БАС;

снижение витаминного статуса (полигиповитаминозы) лежит в основе развития широкого спектра нарушений метаболизма, что приводит к развитию патологических состояний, лечение которых фармакологическими средствами не может быть эффективным без устранения первопричин (гиповитаминозы) развития патологий;

на данном этапе в Украине практически не проводится изучение витаминного статуса организма человека, отсутствует государственная программа по обеспечению населения и животноводства витаминами и БАС, витаминизации пищевых продуктов, по созданию комплексных способов диагностики, профилактики и лечения полигиповитаминозов, по разработке новых комплексных профилактических и лечебных витаминных и БАС-активных препаратов для повышения стойкости организма человека и животных к действию негативных факторов окружающей среды и для продления жизни человека;

Украина, по существу, не имеет своей витаминной промышленности, не имеет необходимой промышленной базы для производства исходных субстанций для синтеза большинства витаминов, и на сегодня в основном обеспечивается дорогостоящими зарубежными поливитаминными препаратами, недоступными основной массе населения;

не создана государственная система обязательного контроля на содержание БАС в препаратах и фитодобавках, которые заполнили внутренний рынок Украины; практически идёт целенаправленное уничтожение внутреннего производителя;

практически полностью отсутствует координация в Украине исследований и научно-технических работ с участием квалифицированных специалистов в области создания новых технологий получения и применения БАС.

Указанные проблемы выносятся на обсуждение участников нашей конференции.

«THE STATE AND PROSPECTIVES FOR DEVELOPMENT OF VITAMINOLOGY IN UKRAINE»

G.V. Donchenko

A.V. Palladin Institute of Biochemistry of NAS of Ukraine
e-mail: dongv@biochem.kiev.ua

The study of mechanisms of metabolism and functioning in cells, the search for ways to regulate this processes in organisms of man and animals, to develop biotechnological and chemical ways of obtaining the new drugs with the aim of their effective practical use are the main directions for functional biochemistry of natural low molecular biologically active substances (BAS).

According to modern views the processes of attenuation, absorption and realization of intracellular biological action of BAS occur with the employment of specific acceptor proteins. The aimed search, obtaining and investigation of functioning of such proteins allowed in the last 10-15 years to approach the new understandings molecular mechanisms of coenzyme and non-coenzyme biological action of vitamins A, D_3, E, B_1, PP and coenzymes (nicotinoamids and thiaminphosphates) studied at our department and, to increase the field of their practical use and to approach the creation of new biologically active complexes of metabolical action based on BAS, vitamins and their biologically active derivatives and metabolites ("Evit-1", "Soevit-E", "Carotene-M", "Metavit" and other).

The successful development of vitaminology in Ukraine depends on solving the number of problems, which are proposed for discussion at the Conference:

the worsening of nutritional conditions and ecological conditions with the increase of stress factors' impact leads to increase in organism's needs in BAS providing;

the lowering of vitamin status (polyhypovitaminoses) underlies the development of wide spectra of metabolism disorders, which lead to the development of pathologies, that cannot be cured effectively by pharmacological means without the termination of pathologies' sources (polyhypovitaminoses);

currently in Ukraine the studies of human organism's vitamin status are not practically conducted. The state program for assurance of population and agriculture with vitamins and BAS, for vitaminisation of nutritional products, for developing of new compelx diagnostic methods to prevent and cure hypovitaminoses, for development of new complex preventing and curative vitamin and BAS drugs to increase the endurance of human and animal organisms to the effect of negative environmental factors and to lengthen human life span is practically absent;

Ukraine has virtually no inner vitamin industry, no industrial base needed to produce the initial substances for synthesis of most vitamins, and currently is mostly provided with costly foreign polyvitamin preparations, which are unavailable for the most parts of its population;

the state program for mandatory control for BAS content in preparations and fitoadditives, which overwhelmed the home market, hasn't been created; in reality it is conducted the aimed elimination of home producers;

the coordination in Ukraine of studies and scientific work with the employment of qualified specialists in the field of developing new technologies of obtaining and use of BAS is virtually absent.

The specified problems are proposed for the discussion among the participants of our conference.

РОЛЬ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ ДОБАВКИ БИОТРОФ 4 НА ЭТАПАХ РЕАБИЛИТАЦИИ ДЕТЕЙ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

Кобец Т.В., Василенко Ю.Ю., Хишам Исмаил,Чекунова Л.К..

Крымский государственный медицинский университет им. С.И.Георгиевского.
e-mail: kobez@yandex.ru

В настоящее время, в периоде экологического неблагополучия, перед человечеством остро стоит вопрос поиска эффективных методов коррекции функций организма в том числе с помощью природных биологически активных добавок (БАД), регулирующих метоболизм. С этой целью учеными Крыма были разработаны продукты серии «Биотроф».Целью нашего исследования явилось изучение роли «Биотроф 4» в комплексной реабилитации детей с заболеваниями органов дыхания в остром периоде заболевания и в периоде относительного благополучия здоровья.

Нами были обследованы дети с обструктивным бронхитом (34), бронхиальной астмой (25), часто болеющих острыми респираторными заболеваниями (39) на базе Республиканской клинической детской больницы и санаториев «Изумрудный» , г.Евпатория и «Опушки», Симферопольский район. В комплексе реабилитационных мероприятий дети получали Биотроф 4 (в стационаре дети без аллергии), в санаториях все дети, в том числе и с аллергией. В каждой группе для сравнения было обследовано по 25 детей не получавших Биотроф 4. Всем детям исследовали клеточный, гуморальный и неспецифический иммунитет. Иммунологические нарушения были выявлены у исследуемых детей не только при обострении респираторных заболеваний, но и в периоде относительного благополучия здоровья. Необходимо отметить, что дети получавшие Биотроф 4, во всех сравниваемых группах, быстрее достигали клинического улучшения, нормализации биохимических и иммунологических показателей. Причем наиболее благоприятное влияние Биотроф 4 оказывал на клеточный и неспецифический иммунитет, в то время как на гуморальный практически не влиял. У детей со всеми формами респираторных заболеваний, не получавших БАД после выписки из стационара и в санатории иммунологические показатели улучшались однако не достигали контрольных значений. Это позволило нам рекомендовать применять Биотроф 4, больным с респираторными заболеваниями без аллергии, в периоде обострения и для профилактики респираторных заболеваний, особенно при массовых вспышках вирусных инфекций, а детям с аллергией для профилактики вирусных инфекций. Проведенное исследование позволило нам также рекомендовать Биотроф 4 детям направляющимся летом на курорт в Крым из отдаленных регионов, для повышения резистентности организма и сокращения периода адаптации в санатории.

THE ROLE OF THE BIOLOGICALLY ACTIVE ADDITIVE BEOTROPH 4 AT STAGES OF REHABILITATION OF CHILDREN WITH RESPIRATORY DISEASES

Kobets T.V., Vasilenco Yu.Yu., Hisham Ismail,Chekunova L.K

Crimea medecal Univercity
e-mail: kobez@yandex.ru

Now, in the period of ecological trouble, before mankind is sharp there is a question of effective methods of correction of organism's functions including with the help of the natural biologically active additives (BAA), regulating metabolism. With this purpose the scientists of Crimea developed products of a series "Beotroph" .The purpose of our investigation was to study of a role " Beotroph 4 " in complex rehabilita-tion of children with respiratory diseases in the sharp period of disease and in the period of relative well-being of health. We surveyed children with obstructive bronchitis (34), bronchial asthma (25), frequently ill with sharp respiratory diseases (39) on the basis of Republican clinical children's hospital and sanatoriums "Emerald",. Evpatoria and "Trimmings", Simferopol area. Children without an allergy received Beotroph 4 in the hospitals, like the complex of rehabilitation measures . In sanatoriums all children, including with an allergy, received Beotroph 4. In each group for comparison was surveyed till 25 children not receiving Beotroph 4. All children were subjected to the investigation of the cellular, humoral and nonspecific immunity in the dynamics. Immunology infringement were revealed at researched children not only with the aggravation respiratory diseases, but also in the period of relative well-being of health. Children receiving Beotroph 4 in all compared groups reached

normalization biochemical and immunology parameters, clinical improvement, faster. The most beneficial effect Beotroph 4 rendered on the cellular and nonspecific immunity, while on humoral practically did not influence. In children with all forms of respiratory diseases which were not receiving BAA after the extracting from hospital and sanatoriums immunology parameters were improved however did not reach control meanings. It has allowed us to recommend Beotroph 4 to children with respiratory diseases without allergies, to apply in the period of an aggravation and to preventive maintenance of respiratory diseaseses, especial at mass flares of virus infections. The research has allowed us also to recommend Beotroph 4 children directed in the summer for a resort in Crimea from the remote regions, for increase stability of the organism and reduction of the period of adaptation in sanatoriums.

К ПРОБЛЕМЕ ВЫБОРА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК К ПИЩЕ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ЖЕЛЕЗА

В.М.Коденцова, О.А.Вржесинская

Научно-исследовательский институт питания Российской академии медицинских наук
e-mail: spirichev@ion.ru

Для профилактики и лечения железодефицитных состояний применяют биологически активные добавки (БАД) и ферротерапию с использованием лекарственных препаратов, имеющих в своем составе различные формы железа (неорганические и органические соли, неионное, элементное, гемовое) в сочетании с витаминами или без их добавления. Железо относится к металлам переменной валентности и при его избытке может усиливать нежелательные процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ), что, в свою очередь, может инициировать различные патогенетические процессы, включая сердечно-сосудистые заболевания, невропатологии, онкозаболевания. Учитывая, что в сыворотке крови основной вклад в общую антиоксидантную активность вносят сывороточные белки: церулоплазмин и трансферрин, концентрация которого снижается при железодефицитных состояниях, можно предположить, что при назначении содержащих железо БАД к пище может ухудшаться антиоксидантный статус организма. В задачу исследования входило оценить влияние различных железосодержащих БАД на антиоксидантный статус организма.

Проведен сравнительный анализ влияния 5-6-недельного приема различных форм железа и наличия других компонентов (витамины, ЭДТА и др.) в составе БАД к пище на содержание малонового диальдегида в сыворотке крови проживающих в Москве детей 4-15 лет со сниженным уровнем гемоглобина крови (< 120 г/л). При относительно удовлетворительной обеспеченности витамином С (дефицит у 11% обследованных) у большинства детей (67%) выявлялась сочетанная недостаточность витаминов группы В (70%) и каротиноидов (85%), оцениваемая по их содержанию в сыворотке крови. Адекватно обеспечены всеми витаминами были лишь 2% из 96 обследованных детей.

Показано, что ухудшение антиоксидантного статуса чаще наблюдается при приеме железа совместно с другими минеральными веществами. При одинаковых дозах фумарата железа (Fe^{2+} 15-18 мг/сут.) в БАД ухудшение антиоксидантного статуса детей наблюдалось чаще при приеме препарата, включавшего медь (2 мг), цинк (15 мг), марганец (1 мг), йод (150 мкг), молибден (20 мкг) и хром (20 мкг), несмотря на повышенное в 2-5 раз по сравнению с рекомендуемым потреблением содержание в нем витаминов-антиоксидантов (С, А, Е).

Наличие комплексона ЭДТА (20 мг/сут.) или серина (129 мг/сут.) и высоких доз фолиевой кислоты (0,5 мг/сут.) и витамина B_{12} (0,3 мг/сут.) в БАД, содержащих сульфат железа (Fe^{2+} 20-34 мг/сут.), а также дополнительный прием поливитаминов не только не ухудшали показатели антиоксидантного статуса организма, но и сопровождались снижением концентрации малонового диальдегида в сыворотки крови 50-80% обследованных. Таким образом, отрицательное влияние приема железа на показатели ПОЛ уменьшается на фоне дополнительного приема витаминов, в частности, витаминов группы В. Преимуществом совместного с железом приема витаминов является также то, что это позволяет одновременно ликвидировать существующий дефицит витаминов, который, в свою очередь, относится к факторам риска развития железодефицитных состояний.

В целом, полученные результаты указывают на то, что при выборе препарата следует учитывать не только его эффективность по улучшению показателей обеспеченности железом, но и его безопасность, т. е. отдавать предпочтение БАД к пище, не повышающим интенсивность процессов ПОЛ.

TO THE PROBLEM OF THE SELECTION OF BIOLOGICAL ACTIVE ADDITIVES FOR IRON INSUFFICIENCY CORRECTION

V.M.Kodenzova, O.A.Vrzhesinskaya

Institute of Nutrition at Russian Academy of Medical Sciences
e-mail: spirichev@ion.ru

Biological active supplements and some drugs that contain different forms of iron (heme, organic and inorganic salts, elemental, nonion) with or without one or several vitamins, are usually administrated for iron deficiency prophylaxis and therapy. Iron in excess is an active participant in the reaction, which results in the production of free radicals and oxidative damage, that may be associated with increased oxidative product formation and the initiation of various pathogenic processes such as cardiovascular disease, neuropathologies, and cancer.

Taking into consideration that the main contribution to common antioxidant activity makes such serum proteins as ceruloplasmin and transferrin, which concentration decreases under iron deficiency, the most reasonable is to propose that iron containing supplements administration makes worse the body antioxidant status. The aim of this research was to estimate different iron containing supplements influence on antioxidant status.

The comparative investigation of the influence of 5-6-weekly intake of the different iron forms and some components (vitamins, EDTA e.a.) in the supplements composition on malone dialdehyde serum content of 96 children 4-15 years old living in Moscow with decreased hemoglobin level (less 120 g/l) has been carried out. Most of the children (67 per cent) had the combined deficiency of B group vitamins (70 per cent) and carotenoids (85 per cent) while they were sufficiently supplied with vitamin C (deficit 11 per cent). Adequately supplied with all vitamins were only 2 per cent of children.

Antioxidant status deterioration has been found more often under the combined iron and other minerals intake. Children's antioxidant status worsening took place more often under the similar iron fumarate intake (Fe^{2+} 15-18 mg/d.) combined with copper (2 mg), zinc (15 mg), manganese (1 mg), iodine (150 μg), molybdenum (20 μg), and chromium (20 μg) despite 2-5 fold raised vitamins-antioxidant content (C, A, E) as compared with recommended daily allowances.

The presence of complexone EDTA (20 mg/d) or serine (129 mg/d) and folic acid (0.5 mg/d) and vitamin B_{12} high doses in iron sulfate (Fe^{2+} 20-34 mg/d) containing supplements as well as the additional multivitamins intake not only deteriorated antioxidant status indexes but lead to malone dialdehyde serum content decrease in 50-80 per cent of the examined children. Thus, negative influence of iron intake on oxidative damage indices decreased under additional vitamins administration in particular vitamin B group. Liquidation of existing vitamin deficit which may be considered as risk factor of iron deficiency development is one of the benefits of the combined iron and vitamins intake.

Thus, the data obtained indicate that safety, exactly lipid oxidation promotion prevention, along with effectivity of iron status improvement must be discounted under supplement selection.

МЕХАНИЗМ ВОЗДЕЙСТВИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА ОРГАНИЗМ С УЧЕТОМ ЯВЛЕНИЯ САМОРЕГУЛЯЦИИ.

Коробчанский,В.А., Мацкивский В.И., Чернышев С.И

Акционерное общество «Научно-технологический институт транскрипции, трансляции и репликации»
e-mail: vim@nti.insuranc.com.ua; helen@nti.insuranc.com.ua

При исследовании биологической активности химических веществ необходимо знать характер деятельности одной из функций жизнедеятельности организма – саморегуляции. Нами экспериментально установлены и теоретически обоснованы механизмы формирования закономерности развития качественно отличающихся общих специфических и неспецифических адаптационных процессов, которые взаимосвязаны и генетически предопределены в реакциях организма на действие факторов внешней среды. Эти процессы зависят от уровня и интенсивности воздействия.

В основе явления лежит функция саморегуляции, отличающаяся при низких, средних и больших нагрузках воздействующего фактора и формирующая три основные биологические функции организма: гомеостаз, адаптацию и выживание. При низких (пороговых воздействиях) саморегуляция направлена на активацию процессов с поддержанием гомеостаза в состоянии «норма». При средних (умеренных воздействиях) - на формирование квазистационарного «стрессового» состояния с характеристиками повышенной надежности функционирования организма. При больших (экстремальных воздействиях) - на формирование биологической активности с использованием всех резервов организма и включения адаптационных процессов для поддержания функции выживания даже в патологическом «терминальном» состоянии. Причем переход из состояния «норма» в состояние «стресса» сопровождается повышенной параметрической чувствительностью и по своей природе является бифуркацией типа «складка», переход же из состояния «стресса» в состояние «терминальное» также сопровождается повышенной параметрической чувствительностью, но по своей природе является бифуркацией типа «седла». Функция саморегуляция протекает в организме постоянно. Она достигается за счет адаптационно-компенсаторных реакций, которые подразделяются на три типа, первая из которых входит в эволюционно-детерминированную систему защитных механизмов организма и определяет генетически обусловленные видовые особенности, вторая -формируется в результате индивидуального адаптационного опыта, которая закрепляется в тканевой и нервной памяти, а третья - формируется в результате неспецифических срочных реакций на новое воздействие и организовывается в процессах деятельности эндокринной и вегетативной нервной систем».

Научное значение установленного явления состоит в создании нового физиологического направления теории адаптационных реакций организма, в частности, функционального описания биологических систем на уровне организма. Показано, что в формировании адаптационных процессов с обеспечением защитных реакций основную роль играет саморегуляция организма, проявляющаяся в реакциях трех типов, характер которых зависит от биологической активности (силы и интенсивности) воздействующего фактора, исходящей из внутренней или внешней среды. Разработанная концепция базируется на философских представлениях построения и функционирования живых систем и имеет методологическое значение, так как является выражением качественно-количественного принципа в биологии.

Практическое значение состоит в том, что появляется возможность управлять неспецифической и специфической резистентностью организма за счет регуляции силы внешнего воздействия (дозы, интенсивности и ритма) на защитные механизмы с контролем эффективности воздействия по одному из показателей состояния организма. На основе рассмотренного явления разработаны методы диагностики, профилактики и коррекции стрессовых и терминальных состояний, возникающих в процессе трудовой, учебной и игровой деятельности, в частности, вторичных иммунно-дефицитных состояний организма, которые, помимо указанных направлений, могут быть использованы для коррекции состояния человека в экстремальных условиях. В настоящее время созданы и используются принципиально новые способы оценки утомляемости, внимания, профессиональной адаптации и стойкости организма, защищенных авторскими свидетельствами и патентами в виде изобретений, а также новые способы оценки токсичности водной среды.

THE EFFECT MECHANISM OF BIOLOGICALLY ACTIVE MATERIALS UPON AN ORGANISM, TAKING INTO ACCOUNT THE SELF-REGULATION PHENOMENA.

V.A. Korobchansky, , V.I. Matskivsky, S.I. Chernyshov

"Research and Technological Institute of Transcription, Translation and Replication ", JSC
e-mail: vim@nti.insuranc.com.ua; helen@nti.insuranc.com.ua

It is necessary to know the activity nature of an organism habitability function, that is the self-regulation, while conducting the research of chemical agents' biological activity. The formation mechanisms of the development regularity of qualitatively distinguished common specific and nonspecific adaptive processes, which are interdependent and generically preconceived in the organism reactions on environmental factors affects are experimentally established and theoretically justified by us. These processes depend on the level and intensity effect.

The function of self-regulation, distinguished at low, medium and large loads of the affecting factor and forming the three basic biological functions of an organism, that is a homeostasis, acclimatization and survival, is in the phenomenon basis. The self-regulation is directed on an activation processes with maintenance of a homeostasis in the condition "standard" at low (threshold effects). At average (moderate effects) - on a pseudo-steady "stressful" condition formation with the characteristics of an organism heightened operational reliability. At large (extreme effects) on a biological activity formation with the organism all reserves usage and the

adaptive processes actuation for the survival function maintenance even in a pathological "terminal" condition. And the transition from a condition "standard" into the condition "stress" is accompanied by heightened parametric sensitivity and inherently is bifurcation such as "tuck", the transition from the condition "stress" into the condition "terminal" is accompanied also by heightened parametric sensitivity, but inherently is the bifurcation such as "saddle". There is the self-regulation function in an organism permanently. It is reached at the expense of adaptive-compensate reactions, which are subdivided into three types, the first of which enters into the evolution-determined system of an organism protective mechanisms and determines the generically stipulated specific features, the second is formed as a result of the personal adaptive experience, which is solidified in tissue and nervous memory, and the third is formed as a result of nonspecific urgent reactions on a new effect and is organized during the activity of endocrine and vegetative nervous systems".

The scientific value of an established phenomenon consists of a new physiological direction creation of an organism adaptive reactions theory, in particular, the functional description of biological systems at an organism level. It is shown, that in adaptive processes formation with the defense reactions maintenance of the organism self-regulation, showing in reactions of three types, the nature of which depends on a biological activity (force and intensity) of the affecting factor, coming from internal or environment, plays the main role. The designed concept is based upon the philosophical representations of alive systems construction and operation and has the methodological value, as it is the expression of qualitative and quantitative principle in biology.

The practical value lie in the fact, that there is a capability to control an organism nonspecific and specific resistance at the expense of the external affect regulation force (dose, intensity and rhythm) upon the protective mechanisms with the effect efficiency control on one of an organism condition indexes. The diagnostic, preventive maintenance methods as well as correction stressful and terminal states arising during labor, educational and playing activity, in particular, an organism secondary immune-deficient condition, which can be used for the person state correction in extreme conditions, except the indicated directions, are designed on the basis of the reviewed phenomenon. Currently the essentially new ways of an organism fatigability, attention, professional acclimatization and stability estimation, protected by the authors' certificates and patents, like the inventions, are created, and also the new ways of the water environment toxicity estimation are used.

ОПТИМИЗАЦИЯ САНАТОРНОЙ РЕАБИЛИТАЦИИ СОМАТОФОРМНЫХ РАССТРОЙСТВ С ПОМОЩЬЮ ПАРАФАРМАЦЕВТИКОВ.

Мирошниченко Н.В., Трегубова Н.А., Иванченко Т.Н., Мирошниченко А.И., Никитин Н.Н.

Крымский медицинский университет им. С.И. Георгиевского, Таврический национальный университет им. В.И.Вернадского, санаторий «Горный»

Факторами риска развития соматоформных расстройств считаются работа во вредных, интенсивных условиях труда, с психоэмоциональной нагрузкой, в условиях нерегулярного нерационального питания. На фоне ухудшения экологической обстановки в последние годы большой интернес вызывают биологически активные добавки, способные восполнить дефицит организма в эссенциальных соединениях и повысить устойчивость его к вредным факторам внешней среды.

Учитывая вышеизложенные проблемы, нами был разработан реабилитационный комплекс саногенеза работников атомных станций Украины, который внедрен в санатории «Горный», Южный берег Крыма. На фоне базовой климато- психо-музыко-бальнео-терапии, пациенты получили лечебно-профилактический продукт «ТРОФОСАН-4», производства ООО «Биоком» Крым.

Содержащиеся в нём активные компоненты влияют на метаболизм, повышают защитную функцию организма Биологически активные вещества –энзимы, фосфолипиды, эссенциальные аминокислоты, макро и микроэлементы (Ca, Fe, K, Mg, Co, и др.), группа витаминов B, A, E, Д, PP, цито- и соматомедины консервируются в медовой среде ,обладают: антибактериальным противоанемическим, иммунокоррегирующим, ранозаживляющим действием, а также оказывают благоприятное влияние на вегетативный статус организма, купируют болевые симптомы (цефалгии, гастралгии), улучшают пищеварение, снимают симптомы «хронической усталости», восстанавливают запасы энергии и выносливость

Были обследованы 48 человек с соматоформными расстройствами. Исследования проведены в санатории «Горный», на клинической базе кафедры нетрадиционной медицины Крымского государственного медицинского университета (ректор профессор Бабанин А.А.). Все больные были обследованы по единой схеме: клинико- психопатологическое экспериментально-психологическое обследование, реоэнцефалография, электрокар-диография, электропунктурная диагностика по модифицированному методу Р.Фолля.

У больных был использован, продукт «ТРОФОСАН-4», применяемый за 30 минут до еды по ½ чайной ложки, 3 раза в день, запивая 100 мл. теплой кипяченой воды, ежедневно, курс лечения - 20 дней. Сеансы психотерапии: аутотренинг с включением формул коррекции соматоформных расстройств, проводились ежедневно в 10.00 часов, курс лечения 10 дней.

Все больные переносили лечение удовлетворительно, аллегических реакций и отказов от терапии не было.

Соматоформные расстройства притерпели более существенные изменения: головная боль после лечения сохранилась у 26,1% больных, слабость у 8,6%, раздражительная слабость у 8,7%, тревожность 21,7% и 44%, нарушение сна в 13,1%.

После проведенного лечения у больных с применением в комплексном лечении, продукта «ТРОФОСАН-4» установлен регресс субъективных жалоб, редуцировались цефалгии, тревога и фобии, была установлена положительная достоверная динамика динамика гемодинамики по данным реоэнцефалографияи и электрокардиография, показателей ЭПДФ. Изменения показателей электрокожного сопротивленияи в биологически активных точках вегетативной нервной (ВНС) системы говорят в пользу гармонизации её парасимпатического и симпатического отделов. Использование продукта «ТРОФОСАН-4» в сочетанной терапии у больных соматоформными расстройствами оптимизирует лечебный комплекс. ЭПДФ и другие методы динамического наблюдения за вегетативной реактивностью и эмоциональным состоянием дают возможность контролировать адекватность терапии и делать ее прогноз.

OPTIMIZATION OF SANATORIUM REHABILITATION SOMATOPHORMIS BY FRUSTRATION WITH THE HELP OF PARAPHARMACEVTIC.

Miroshnichenco N., Tregubova N., Ivanchenco T., Miroshnichenco A., Nicitin N.

The Crimean medical university by it. S. Georgievscy, Tavrica national university by it. V.Vernadsky, sanatorium "Mountain"

As risk factors of development somatophormis of frustration are considered work in harmful, intensive working conditions, with psychoemocional by loading, in conditions of an irregular irrational feed. On a background of deterioration of ecological conditions last years large interest cause the biologically active additives capable to fill deficiency organism in essencial connections and to raise stability it to the harmful factors of external environment.

Taking into account the above-stated problems, us was developed reabilitation a complex sanogenes of the workers of nuclear stations of Ukraine, which is introduced into sanatoriums a "Mountain", Southern coast of Crimea. On a background base of therapy at climato-, psycho music-balneo- of therapy , the patients have received a treatment-preventive product "Trofosan-4" , manufacture "Biocom" of Crimea.

The active components, contained in it, influence on metabolism, raise protective function organism biologically active substances -ensims, phospholypids, essencial acids of amin, macro and microelements (Ca, Fe, K, Mg, Co, etc.), group of vitamins C, A, E, Д, PP, cito - and somatomedins are preserved in honey environment and also render beneficial effect on vegetativ's the status, treatment algyc symptoms, improve digestion, remove symptoms " of chronic weariness ", restore stocks of energy and endurance

48 men with somatophormis by frustration were surveyed. The researches are carried out in sanatoriums "Mountain", on clinical base of faculty of nonconventional medicine of the Crimean state medical university (rector the professor Babanin.A.). All patients were surveyed under the uniform circuit: clinic-psychopatologic experimental, psychological inspection, reo-, electrocardagraphy, 'lectropuncturs diagnostics on the modified method R.Voll.

At the patients the product "Trofosan-4" , used for 30 minutes up to meal on of a tea spoon, 3 times per day, 100 ml was used. Warm water, daily, rate of treatment - 20 days. Sessions, psychotherapy with inclusion of the formulas of correction somatophormis of frustration, 10 days were carried out daily at 10.00 of hours, rate of treatment.

All patients transferred treatment satisfactorily, allergyc of reactions and the failures of therapy were not.

Somatophormis of frustration more essential changes: the headache after treatment was kept at 26,1 % of the patients, weakness at 8,6 %, irritable weakness at 8,7 %, uneasiness 21,7 % and 44 %, infringement of dream in 13,1 %.

After the carried out treatment at the patients with application in complex treatment, product "Trofosan-4" the recourse of the subjective complaints is established, were reduced cephalgia, the alarm and phobia, was established positive authentic changes hemodinamic on the data reo and electrocardiographic, parameters EPDV. The changes of parameters electroskin opposition in biologically active points vegetativ's nervous of system

speak for the benefit of garmonisation parasimpatic and simpatic of departments. Use of a product "Trofosan-4" in complex of therapy at the patients somatophormis by frustration optimizes a medical complex. EPDF and other methods of dynamic supervision for vegetativ's reactivity and emotional condition enable to supervise adequacy to therapy and to make its forecast.

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ «ТРОФОСАНА».

Мирошниченко А.И.,Никитин Н.Н.,Крапивенко Е.Ф., Мирошниченко Н.В.

Таврический национальный университет им. В.И.Вернадского
Крымский медицинский университет им. С.И. Георгиевского
ООО Биоком

Хронический стресс, депрессия, онкологические и сердечно-сосудистые заболевания, СПИД и другие новые инфекции – это далеко не полный перечень "болезней цивилизации",которые оставил нам ушедший XX век. Загрязнение окружающей среды промышленными отходами, радиоактивными выбросами ослабевают естественные защитные силы организма,что приводит к затяжному течению болезней и,часто, к длительному малоэффективному лечению. В последнее десятилетие достоверный рост числа токсических и аллергических осложнений вследствие большого техногенного влияния негативных факторов, применения современных синтетических фармакологических средств – с одной стороны и несомненные успехи народной медицины,обусловили широкое применение натуральных продуктов и их композиций в виде биологически активных пищевых добавок,обладающих выраженными физиологическими и фармакологическими свойствами на организм .

Сотрудники Крымского ООО «Биоком» создали и внедрили серию натуральных продуктов лечебно-профилактического действия на медовом носителе - «Трофосан» (ТУУ 19191474.001-93-Трофосан), прошедших широкие клинические исследования в клиниках и НИИ Украины, России, Беларуси, а также бальзамов «Гемосан» (ТУУ 1914002–02–Гемосан). Концепция, заложенная в их разработку, заключается в том, чтобы с их помощью обеспечить основные органы и системы необходимым максимальным количеством природных регуляторов в том составе, в котором они имеются в здоровом организме. Для сохранения природного состава биологически активных веществ разработчики отказались от технологии экстракции и работают с тонкими гомогенатами тканей крупного рогатого скота, имеюшие пищевые ГОСТы, которые обрабатываются по специальной методике и консервируются в медовой среде. Активными компонентами «Трофосана» являются энзимы,фосфолипиды,факторы тканевой регенерации,гемопоэза,иммунокорекции,все незаменимые аминокислоты,ряд макро- и микроэлементов,практически все группы витаминов,цито- и соматомедины. Они оказывают физиологическое воздействие непосредственно на те органы и ткани, из которых биорегуляторы выделены, помогая восстанавливаться пораженным и активируя работу здоровых клеток и органов. Поэтому действие «Трофосанов» многогранно, они эффективны при любой патологической или физиологической дисфункции и подтверждено широким клиническим опытом применения.

Доказано, в частности, что протеолитические ферменты Трофосанов участвуют не только в неспецифическом гидролизе белковых молекул,но и оказывают физиологическое регуляторное влияние на имунный гоиеостаз,свертывание крови и фибринолиз,образование и распад биопептидов,контролирующих тонус сосудов,артериальное давление,деятельность мозга. Клинический спектр применения обусловлен также иммунокоригирующим действием, способностью усиливать функциональную и цитотоксическую активность макрофагов и Т-лимфоцитов, элиминировать патологические среднемолекулярные и циркулирующие комплексы, улучшать микроциркуляцию и реологические свойства крови,повышать проницаемоть тканей и тканевых барьеров,то есть влиять на основные звенья компенсаторно-приспособительных и защитных механизмов организма.

Клинические исследования показали, что Трофосаны полностью соответствуют основному терапевтическому принципу: надежность и эффективность при общей хорошей переносимости, практически отсутствии противопоказаний и несовместимости с другими лекарственными средствами, физиотерапевтическими процедурами, курортным лечением.

Результаты ряда клинических испытаний лечебно-профилактических продуктов серии Трофосан изложены в методических рекомендациях для врачей под названием –Применение продуктов «ТРОФОСАН» для оптимизации терапии и профилактики распространенных заболеваний,которые разработаны ХМАПО,КГМУ им. С.И. Георгиевского, НПП ООО Биоком и утверждены МЗ Украины в июне 2000 года.

MEDICAL - BIOLOGICAL ASPECTS "TROFOSAN" APPLICATION.

Miroshnichenco A., Nicitin N., Krapivenco E., Miroshnichenco N.

The Crimean medical university by it. S. Georgievscy
Tavrica National V.Vernadsky Uuniversity.
Sanatorium "Mountain"

The chronic stress, depression, onco- and is intimate – angio-diseases, AISD (ARV) and other new infections is a not complete list " of illnesses of a civilization ", which has left to us left XX century. The pollution of an environment by industrial wastes, radioactive emissions is weakened by natural protective forces organism, that results in long current of illnesses and, frequently, to long not much effective to treatment. Last decade authentic growth of number tocsic and allergic complications owing to large technics of influence of the negative factors, application of modern synthetic pharmacological means - on the one hand and the doubtless successes of national medicine, have caused wide application of natural products and their compositions as the biologically active food additives having expressed physiological and pharmacological properties on organism.

The employees manufacture "Biocom" of Crimea. Simferopol have created and have introduced a series of natural products of treatment-preventive action on the honey carrier - "Trofosan" (TCU 19191474.001-93- "Trofosan", past wide clinical researches in clinics and SII of Ukraine, Russia, Byelorussia, and also balms "Gemosan" (TCU 1914002-02-Gemosan). The concept incorporated in their development, consists in, that with their help to ensure the basic bodies and systems with a necessary maximum quantity of natural regulators in that structure, in which they are available in healthy organism . For preservation of natural structure of biologically active substances the developers have refused technology extraction and work with thin gomogenat's of fabrics of large horned cattle, with food State's standarts, which are processed on a special technique and are preserved in honey environment. Active components "Trofosan" are ensims, phospholypides, the factors of fabric regeneration, gemopoes, immunocorection, all irreplaceable, essencial acids of amin, number macro- and microelements, practically all groups of vitamins, цито- and somatomedin's. They render physiological influence directly on those bodies and fabrics, from which the bioregulators are allocated, helping to be restored struck and activating work of healthy crates and bodies. Therefore action ""Trofosans" a namder of oncl, they are effective at anyone pathological or physiological дисфункции and is confirmed by wide clinical experience of application.

Is proved, in particular, that ferments proteolitic Trofosan" participate not only in not specific hydrolis nucleo of molecules, but also render physiological regulare influence on immunological gomeostas, curtailing of blood and phybrinolis, formation and disintegration biopeptids, supervising tonus of vessels, arterio pressure, activity of a brain. The clinical spectrum of application is caused also immunological correction by action, ability to strengthen functional both citotocsics activity macrofagos and T-lymphocits, elemineychion pathological molecuIs average and circulating complexes, to improve microcirculation and reological of property of blood, to raise penetrate of fabrics and fabric barriers, that is to influence the basic parts adaptacion and protective mechanisms organism.

The clinical researches have shown, that "Trofosan" completely meet basic therapeutic to a principle: reliability and efficiency at general good endure, practically absence of contra-indications and incompatibility with other medicinal means, physicaltherapeutic by procedures, resort treatment.

The results of a number of clinical tests of treatment -preventive products of a series "Trofosan" are stated in the methodical recommendations for the doctors under the name application of products Trofosan" for optimization of therapy and preventive maintenance of the widespread diseases, which are developed ChMA, The Crimean Medical S.Georgievscy State University, manufacture "Biocom" of Crimea. Simferopol. also are authorized MD of Ukraine in June, 2000.

ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ И КОСМЕТИЧЕСКИЕ ПРОДУКТЫ ИЗ ЧЕРНОМОРСКИХ ОРГАНИЗМОВ

М.В.Нехорошев, А.Г.Коломиец, Н.В.Поспелова, В.Н.Иванов

Институт биологии южных морей НАН Украины
e-mail: ibss@ibss.iuf.net grey@ibss.iuf.net

Здоровье людей определяется, в основном, высоко сбалансированным питанием и эффективной работой иммунной системы. У некоторых народов, например, у японцев, высокая продолжительность жизни обусловлена широким использованием в повседневном рационе и в качестве лечебно-профилактического питания морских (но не рыбных) продуктов.

Черноморские организмы, такие, как моллюски, водоросли и другие объекты марикультуры, могут стать постоянным, специфичным и значительным источником веществ, обладающих радиопротекторными и иммуностимулирующими свойствами. В Институте биологии южных морей НАНУ из мидий, устриц, цистозиры выделены новые антиоксиданты, каротиноиды. Имеется заключение медицинских заведений о возможности использования их в качестве радиопротекторов, иммуномодуляторов для снятия токсических эффектов, вызванных интенсивной химиотерапией.

Представляется перспективным использование натуральных биологически активных веществ, сочетающих свойства лечебных пищевых протекторов, органических и минеральных добавок в ситуации, которая сложилась в результате Чернобыльской аварии. Из культивируемых мидий был приготовлен препарат, обладающий высокой противоопухолевой активностью (Заявка на Патент Украины № 2000052993 от 25.05.2000). При ежедневной подкожной инъекции мышам в течение 5 дней препарат подавлял рост трех солидных опухолей (Са-755, опухоль Льюис, акатол) на 61-75%. Механизм специфической активности не связан с непосредственным влиянием на опухоль, так как эксперименты не выявили прямого цитотоксического эффекта.

Особый интерес как лечебно-профилактический продукт представляют мидии. Нами были разработаны рецепты для приготовления пресервов мидий с сохранением их лечебных свойств (Пресервы из черноморских мидий в соусах и заливках, ТУ 15 Украина 49-94).

Из черноморской бурой водоросли цистозиры, семейство Cystoseira, были получены такие продукты, как морской чай и желе (альгиновая кислота, приготовленная специальным способом) (Заявка на Патент Украины № 96114186 от 11.11.96).

Предлагается также технология получения в больших количествах каротиноида фукоксантина (Патент Украины № 26996).

Разработанные нами дезактивирующий шампунь и крем также получены на основе бурых водорослей (Патент Украины № 39130).

MEDICAL-PROPHYLACTIC AND COSMETIC PRODUCTS FROM THE BLACK SEA ORGANISMS

M.V.Nekhoroshev, A.G.Kolomiyets, N.V.Pospelova, V.N.Ivanov

Institute of Biology of Southern Seas of NAS of Ukraine
e-mail: ibss@ibss.iuf.net grey@ibss.iuf.net

Health of the people is basically defined by highly balanced food and effective work of immune system. At some peoples, for example, at the Japanese, the high lifetime is caused by wide usage of marine (but not fish) products in a daily ration and as medical-prophylactic food .

The Black Sea organisms, such as molluscs, seaweed and other objects of an aquaculture, can become a constant, significant on volume source of substances, having radioprotective and immunifacient properties. In Institute of Biology of Southern Seas of NASU the new antioxidants, carotinoids are isolated from mussels, oysters, cystoseira. There is a conclusion of medical institutions about an opportunity of usage them as radioprotectors, immunizators for taking down toxic effects caused intensive chemotreatment.

It is represented to be perspective to use natural biologically active substances combining properties of medical food protectors, organic and mineral additives in a situation, which has developed in effect of Chernobyl accident. The compound of lipid nature possessing high antitumour activity (the Patent Application of Ukraine № 2000052993, 25.05.2000) was prepared from cultivated mussels. At a daily hypodermic injection to mice within 5 days the compound inhibits growth of three solid tumours (Ca-755, tumour Lewis, akatol) on 61-75 of %. The mechanism of specific activity is not related to immediate effect on a tumour, as the experiments have not revealed the direct cytotoxic effect.

The special interest as the medical-prophylactic product is presented with mussels. We developed the recipes for preparation of mussels preserves with conservation of their medical properties (Preserves from the Black Sea mussels in sauces, TS 15 Ukraine 49-94).

From the Black Sea brown seaweed cystoseira, family of Cystoseira, such products as marine tea and jelly (alginic acid processed in specific way) (the patent Application of Ukraine № 96114186, 11.11.96) were prepared.

The technology of preparation of carotinoid fucoxanthin (Patent of Ukraine № 26996) can be offered also.

The desactivating shampoo and cream also have been prepared on the basis of brown seaweed (Patent of Ukraine № 39130).

РАСТИТЕЛЬНЫЕ ПРЕПАРАТЫ - ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ГЕРОПРОТЕКТОРЫ

Никитченко Ю.В.[1], Падалко В.И.[1], Дзюба В.Н.[1], Бондарь В.В.[1], Алехин А.А.[2], Таран А.А.[3]

[1] - НИИ биологии Харьковского национального университет,
[2] - Ботанический сад Харьковского национального университета
[3] - Сахалинский ботанический сад ДВО РАН
e-mail: padalko@univer.kharkov.ua

Поиск новых природных мембранопротекторов антиоксидантного действия и разработка на их основе эффективных малотоксичных геропротекторов представляются актуальными, так как свободнорадикальное перекисное окисление липидов (ПОЛ) является ведущим фактором старения и развития возрастных заболеваний.

С этой целью нами были исследованы антиоксидантные свойства экстрактов и настоев из 190 видов растений (65 семейств). Было выявлено 10 экстрактов, антиокислительная активность которых была соизмерима с таковой кверцетина и превосходила антиокислительную активность α-токоферола. Установлено, что эти экстракты обладали также более выраженной антирадикальной активностью и мембранопротекторным действием. Экстракт Rhodiola rosea обладал гепато- и кардиопротекторными свойствами (патент № 2022561 на изобретение "Противоишемическое средство"). Исследование влияния этого экстракта на продолжительность жизни мух Drosophila melanogaster показало существенное (22%) увеличение средней продолжительности жизни насекомых. Максимальная продолжительность жизни самцов мух увеличивалась менее выраженно (на 13%). Внесение в питательную среду экстракта Rhodiola rosea приводило к существенному снижению содержания продуктов ПОЛ и повышению антиокислительной активности липидных экстрактов гомогенатов тканей этих дрозофил по сравнению с контрольными. Показано также, что активность антиоксидантных ферментов (каталаза и Se-зависимая глутатионпероксидаза) у мух, получавших экстракт Rhodiola rosea, была значительно выше, чем в контроле. Эти данные свидетельствуют, что экстракт Rhodiola rosea способен увеличивать продолжительность жизни, по-видимому, за счет увеличения надежности ферментативной и неферментативной антиоксидантной системы и уменьшения уровня продуктов ПОЛ. Способность увеличивать среднюю продолжительность жизни мух и предстоящую продолжительность жизни крыс показана в нашей работе и для экстарктов Orthilia secunda и Aronia melanocarpa, обладающих выраженными антиоксидантными свойствами.

В целом, представленные данные свидетельствуют о целесообразности использования наиболее эффективных растительных экстрактов при разработке лекарственных средств для профилактики преждевременного старения и предупреждения и лечения возрастных заболеваний, в патогенезе которых процессы свободнорадикального окисления липидов играют существенную роль.

PLANT PREPARATIONS AS POTENTIAL GEROPROTECTORS

Nikitchenko Yu.V.[1], Padalko V.I.[1], Dzuba V.N.[1], Bondar V.V.[1], Alekhin A.A.[2], Taran A.A.[3]

[1] - *Institute of Biology of Kharkov National University,*
[2] - *Botanical Garden of Kharkov National University*
[3] - *Sakhalin Botanical Garden of Far-East Department of Russian Academy of Sciences*
e-mail: padalko@univer.kharkov.ua

Search of new natural membrane protectors with antioxidant effect and elaboration on their base effective low-toxic geroprotectors are very topical since free radical lipid peroxidation (LPO) is the leading factor of aging and development of aging diseases.

With this purpose we studied antioxidant properties of extracts and potions from 190 species of plants (65 families). There were revealed 10 extracts with antioxidative activity comparable with antioxidative activity of quercetinum and exceeding α-tocopherol's one. These exrtacts were established to possess more pronounced antiradical activity and membrane protective action. Extract of Rhodiola rosea has hepato- and cardio-protective properties (patent № 2022561 for invention "Anti-ischemic remedy"). Investigation of this extract effect on life-span of flies Drosophila melanogaster has revealed essential (22%) increase of mean life-span of insects. The maximum life-span of male flies was increased less marked (by 13%). Inclusion of Rhodiola rosea extract in nutrient medium resulted in significant decrease of LPO products content and increase of antioxidative activity of lipids extracts from tissues homogenates of these drosophilas in comparison with control ones. Antioxidant enzymes activity (catalase and Se-dependent glutathione peroxidase) was also shown to be essential higher in flies that obtained Rhodiola rosea extract than in control. These data testify to the fact that Rhodiola rosea extract is capable to increase life-span apparently owing to increase of reliability of enzymatic and non-enzymatic antioxidant system and decrease of LPO products content. The capacity to increase the mean life-span of flies and the forthcoming life-span of rats was also shown in our study for Orthilia secunda and Aronia melanocarpa extracts, which possessed marked antioxidant properties.

As a whole the presented data give evidence concerning the expediency of use of the most effective plant extracts for elaboration of medicines for prophylaxis of premature aging and for prevention and treatment of aging diseases, in the pathogenesis of which free radical lipid peroxidation play an essential role.

БАД В ПРОФИЛАКТИКЕ И КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ОЖИРЕНИЯ.

Орлова С.В., Василевская Л.С., Карушина Л.И., Белоусова А.С.

Кафедра клинической нутрициологии Российского Университета Дружбы Народов
e-mail: altera_hld2000@yahoo.com

Компания "Альтера Холдинг" и кафедра клинической нутрициологии Российского Университета Дружбы Народов разрабатывает формулы биологически активных добавок для коррекции рационов питания в профилактике различных заболеваний.

Совместно с Клиникой лечебного питания НИИ питания РАМН разработаны методы определения двух форм ожирения (алиментарной и церебральной) и дифференцированные подходы к коррекции веса пациентов.

В настоящее время проводится учет соматипов человека по доминантным железам внутренней секреции: щитовидной железе, гипофизу, надпочечникам и яичникам (у женщин), каждая из которых вырабатывает определенные гормоны. Влияющие на тип метаболизма, внешность, характер.

Все это позволяет разрабатывать индивидуальные программы по снижению веса с применением специальных диет и различных биологически активных добавок.

Предлагается поэтапное снижение веса: первый этап включает стабилизирующий метаболизм, диету с определенным набором продуктов для каждого соматипа и калорийностью. Второй этап включает программу регулирующую метаболизм с небольшим увеличением количества потребляемых калорий и третий этап предусматривает поддержание метаболизма в организме до стабилизации веса.

В комплексную программу включены наборы биологически активных добавок для каждого соматипа.

Для андроидного или адренального соматипа рекомендуется «Гарцизан», снижающий аппетит, сорбирующий и выводящий жиры нормализующий моторную функцию кишечника. Для тиреоидного соматипа предлагается биологически активная добавка «Слим Комплекс», нормализующая синтез гормонов щитовидной железы. Для гипофизарного или лимфоидного соматипа рекомендуется «Редуцил», содержащий кроме лекарственных растений, витаминов, минеральных веществ снижающих аппетит, нормализующих содержание сахара в крови, регулирующих жировой обмен, целых ряд аминокислот, препятствующих развитию осложнений избыточного веса. Для гинекоидного соматипа рекомендуется «Гарцизан». В программы по снижению веса для различных соматипов входят также биологически активные добавки к пище нормализующие моторную функцию кишечника, регулирующие жировой обмен, комплексы витаминов, аминокислотный комплекс, добавки улучшающие микрофлору кишечника (если она нарушена), нормализующие работу желудочно-кишечного тракта.

Кафедрой клинической нутрициологии в настоящее время разработаны более 100 формул для профилактики и лечения различных нозологических форм заболеваний. Многие формулы получили клинические подтверждения, некоторые из них проходят апробацию.

УЧАСТИЕ ВИТАМИННОЙ ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ “АММИВИТ” В РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЛИМФОИДНЫХ КЛЕТОК.

Остапченко Л.И., Гадилия Е.П., Михайлик И.В., Меркулов С.П., Кучеренко Н.Е.

Киевский национальный университет им. Т.Г. Шевченко
e-mail: biochem@biocc.univ.kiev.ua

Сегодня особенно актуален поиск фармакологических препаратов природного происхождения, которые были бы нетоксичными, оказывали пролонгированное действие на человеческий организм и характеризовались широким спектром биологических эффектов. Наше внимание привлекает пищевой витаминный концентрат “АММИВИТ”, который представляет собой экологически чистый натуральный продукт, содержащий все 12 витаминов группы В, витамин С, основные аминокислоты и микроэлементы в оптимальных для организма соотношениях, что обеспечивает его высокую биологическую активность и антиоксидантные свойства.

На разных биологических моделях нами было изучено влияние препарата “АММИВИТ” на некоторые параметры, характеризующие функционирование лимфоидных клеток. Показано, что препарат обладает антивирусной и интерфероногенной активностью. Введение препарата сразу после заражения вирусом герпеса 1-го типа приводило к увеличению выживаемости животных по сравнению с контролем в 1,8 раза. Обнаруженнный защитный эффект повышался более чем в два раза при введении “АММИВИТа” per os до заражения. Исследование интерфероиндуцирующей способности “АММИВИТа” в условиях in vitro на культуре фибробластов L-41 с использованием вируса везикулярного стоматита позволило установить, что его введение вызывает повышение титров интерферона, которые по своим значениям приближаются к таковым для стандартного лейкоцитарного интерферона человека (IFN-α).

Нами было также установлено, что кроме антиоксидантных свойств препарат “АММИВИТ” обладает радиозащитными свойствами. Известно, что ионизирующее излучение вызывает значительные нарушения метаболизма белков и липидов. Обнаружено, что введение исследуемого препарата подопытным животным приводит к нормализации биохимических показателей крови (содержания общих липидов, фосфолипидов, холестерола и его эфиров, содержания общего белка, альбуминов, глобулинов, фибриногена, продуктов метаболизма азота и др.), которые были нарушены после действия радиации в дозах 0,5 и 1 Гр. Показано, что “АММИВИТ” принимает участие в регуляци процессов перекисного окисления липидов в лимфоидных клетках крыс в условиях облучения в сублетальных

дозах. Так, введение препарата крысам перед облучением приводило к нормализации уровня малонового диальдегида в лимфоцитах селезенки и тимуса. Подобное регулирующее действие "АММИВИТа" может быть связано с повышением не только радио-, а также общей резистентности организма.

Полученные результаты указывают на важную роль витаминного препарата "АММИВИТ" в регуляции функциональной активности лимфоидных клеток и организма в целом, что позволяет рассматривать его как перспективный фармакологический и профилактический препарат природного происхождения.

THE INVOLVEMENT OF THE VITAMINIZED FOOD COMPONENT «AMMIBIT» IN THE REGULATION OF FUNCTIONAL ACTIVITY OF LYMPHOID CELLS

Ostapchenko L.I., Gadilia O.P., Mihailiik I.V., Merculov S.P., Kucherenko N.E.

Kyiv National T.Shevchenko University
e-mail: biochem@biocc.univ.kiev.ua

Looking up of pharmacological drugs of a natural origin today is specially actual. They must be non-toxic, render prolonged action on a human organism and be characterized by a wide range of biological effects. Our notice attracts a food vitaminized concentrate "AMMIBIT", which represents an ecologically pure natural product containing all 12 vitamins of B-group, vitamin C, basic amino acids and microelements in optimal for an organism proportions. Such "AMMIBIT" composition ensures its high biological activity and antioxidant properties.

The influencing of a drug "AMMIBIT" on some parameters that characterize the lymphoid cells functioning was studied in different biological models. The preparation was shown to have antiviral and interferonogenic activity. The injection of the drug at once after contagion with herpes type I virus caused the increase of animal survival rate in 1,8 times. Such defensive effect was increased more than twice when "AMMIBIT" had been introduced per os before contamination. The interferon inducing capacity of "AMMIBIT" was studied in vitro on fibroblasts L-41 culture using vesicular stomatitis virus. It was established that the injection of the preparation leads to an increase of interferon titers that approached to those for a standard human leukocyte interferon (IFN-α).

It was also shown that "AMMIBIT" preparation has radioprotective properties except for its antioxidant properties. The ionizing radiation is known to cause considerable disturbances in lipid and protein metabolism. It was revealed that the introducing of an investigated drug to the experimental animal results in normalization of blood biochemical index (contents of total lipids, phospholipids, cholesterol and its ethers, the content of total protein, albumins, globulins, fibrinogen, nitrogen metabolism products, etc.) which were disturbed after irradiation in 0,5 and 1 Gy doses. "AMMIBIT" was demonstrated to participate in lipid peroxidation regulation in rat lymphoid cells upon the effects of irradiation in sublethal doses. The introducing of a drug to rats before irradiation result in normalization of malonic dialdehide level in spleen and thymus lymphocytes. The similar regulating action of "AMMIBIT" can be connected not only with the increase of radioresistance, but also with total resistance of an organism.

The obtained results point the relevant role of a vitaminized drug «АММИВИТ» in regulation of functional activity of lymphoid cells and the whole organism. It allows considering it as a perspective pharmacological and preventive drug of a natural origin.

ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПИЩЕВЫХ ДОБАВОК ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ С КИСТОЗНЫМИ ПОРАЖЕНИЯМИ ПОЧЕК.

Е. В. Островская, О.В. Островская.

Республика Беларусь, г. Гродно, больница скорой медицинской помощи.
e-mail: val@biochem.unibel.by

В связи с высокой заболеваемостью населения Республики Беларусь кистозными заболеваниями почек, возникает необходимость, не только ранней диагностики данных заболеваний, но и повышения эффективности лечения с использованием биологически активных соединений. Нарушение процесса перекисного окисления липидов и снижение содержания витаминов-антиоксидантов имеют особое значение в ухудшении метаболизма почек. Кистозные поражения почек – это одна из предполагаемых

причин нарушения обмена веществ. Установлено, что при развитии патологического процесса происходит активация свободно радикального окисления фосфолипидов, что является одним из основных механизмов нарушения обменных процессов и повышения степени эндогенной интоксикации организма.

Цель проводимого исследования: улучшение результатов комбинированного лечения больных с кистозными поражениями почек при помощи препарата «Веторон» – водный раствор бета – каротина с витаминами С и Е, разработанным научно – производственным предприятием АКВА – МДТ – для коррекции нарушений обменных процессов. Эффективность проводимого лечения оценивалась по клиническим (в частности ультразвуковым) и биохимическим методам.

Обследовано и пролечено 95 больных в возрасте от 26 до 81 года, за период с января 1998 года по февраль 2002 года с кистозными заболеваниями почек. Ультразвуковая картина оценивалась на аппаратах – SONO ACE 3200 (Medison Co ltd/), SIM 5000 plus. В крови и содержимом кист (пунктате) определяли активность билирубина, креатинина, мочевины, пиридоксальфосфатзависимых ферментов - аланин и аспартатаминотрасферазы (АЛТ и АСТ) аппаратах – SOLAR PV 1251C; RA – 50 Chemistry Analyser. Распределение больных по группам (с солитарной кистой правой почки – (26), левой –(43), всего - (69) –1 группа, с кистами обеих почек (17) – 2 группа,3 группа – поликистоз (7)) проведено на основании ультразвуковых исследований и клинических данных. Каждая из групп была подразделена на 2 подгруппы: подгруппа «А» – больные, которые с классической медикаментозной терапией принимали «Веторон», подгруппа «Б» - не принимающие «Веторон». В подгруппе «Б» наблюдался быстрый, прогрессирующий рост кист, у некоторых (5%) кисты малигнизировались. В подгруппе «А» рост кист значительно замедлился и не наблюдалось нагноения, деструкции, озлокачествления образований. Размеры кист контролировались каждые три месяца на УЗИ. Ультразвуковая картина у пациентов подгруппы «А» не ухудшалась: контуры кист были четкими, ровными, содержимое однородно, гомогенно. Следует отметить, что, так называемые, осложненные многокамерные кисты (с гнойным или тканевым содержимым, с наличием септ, перегородок) также останавливали свой рост и не отмечалось последующего поражения другой почки, когда у больных, подгруппы «Б», как правило, с развитием болезни поражались обе почки, что приводило к озлокачествлению или ХПН. Помимо УЗ – картины значительно улучшились биохимические показатели крови. До приема препарата во всех группах обследуемых отмечалось значительное повышение мочевины, креатинина, билирубина, АЛТ и АСТ. В 1-ой группе – у 25%; во 2-ой – у 28%; в 3-ей – у 25%. После месячного приема биологической добавки показатели гомеостаза значительно улучшились. Отмечалось повышение активности ферментов у значительно меньшего числа больных: 1-ая группа – 15%, 2-ая группа – 12%, 3-яя группа – в 16% случаев.

На основании проведенных исследований целесообразно рекомендовать дополнительно к проводимой терапии прием биологически активной добавки «Веторон» у больных с поражениями почек на всех стадиях заболевания, в качестве комплексной терапии, для более эффективного лечения, нормализации биохимических показателей крови и приостановления патологического процесса.

EXPERIENCE OF THE FOOD-ADDITIONS USAGE BY TREATMENT OF PATIENTS WITH THE CYST KIDNEY AFFECTION

E.V.Ostrovskaya, O.V.Ostrovskaya
Republic of Belarus, Grodno, Hospital for the first aid
e-mail: val@biochem.unibel.by

Connected with the high morbidity of cyst kidney affection of inhabitants of the Republic of Belarus a necessity appears not only to have an early diagnostics of these diseases but to increase the effectiveness of the treatment using the biological active combinations. The breach of the process of the peroxide lipid oxidation and the decrease of the content of vitamin –antioxidants are of particular importance at the deterioration of the cyst metabolism. The cyst kidney affection is one of the supposed reasons of the breach of metabolism. There is established that at the development of the pathologic process takes place an activation of the free radical oxidation of phospholipids that is one of the main breach mechanism of metabolism and increasing of the grade of the endogenous intoxication of organism.

The purpose of the conducting tests: improvement of the results of the combined treatment of patients with cyst kidney affection with the help of preparation “Vetoron” – water solution of ß-carrotin with vitamins C and E - developed by the scientific-industrial enterprise AKWA – MDT for correction of the metabolism breach. The effectiveness of the treatment has been estimated in accordance with the clinical (specifically with ultra-sound) and biochemical methods.

There were examined and treated 95 patients at the age from 26 till 81 in the space of time from January 1998 till February 2002 with the cyst kidney affection. The ultra-sound picture was estimated with the devices SONO ACE 3200 (Medison Co Ltd), SIM 5000 plus. In blood and in the contents of cyst (punctate) there was estimated the activity of bilirubin, creatinin, urea, piridoxalphosphat- dependent ferments – alanin and aspartataminotranspherasa (ALT and AST) with the divices SOLAR PV 1251C; RA – 50 Chemistry Analyser.

The distribution of patients to groups (with solitary cyst of the right kidney – (26), left kidney – (43), total – (69) – 1st group, with the cysts of the both kidneys (17) - 2nd group, with polycystose (7) - 3rd group – was made on the basis of ultra-sound tests and clinical data. Every group was distributed to 2 sub-groups: the sub-group "A" – the patients who together with the drug therapeutics took "Vetoron", the sub-group "B' – did not take "Vetoron". In the sub-group "B" there was observered a guick progressively growth of cysts, by some of patients (5%) the cysts have malignized. In the sub-group "A" the cyst growth became considerably slower and there was not observed any suppuration, destruction, becoming malignant of formations. The cyst sizes were controlled every 3 months with USI. The ultra-sound picture by the inhabitants of the sub-group "A" was not worse , the cyst outlines were clear, plane, the contents was uniform, homogeneous. It should be noted that so called complicated polycell cysts (with suppurative or tissue content, with availability of septs, partitions) stopped their growth and it was not noted any posterior affection of another kidney while by patients of the sub-group "B" , as a rule, with the development of disease the both kidneys were affected and that led to malignizing or chronical Kidneyinsufficiency.

Apart from ultra-sound picture the biochemical indices of blood were considerably better. Before taking of preparation in all groups of examined patients it was mentioned the considerable growth of urea, creatinin, bilirubin, ALT and AST. In the 1st group – at 25%, in the 2nd group – at 28%, in the 3rd group – at 25%. After taking food-additions during one month the indices of homeostasis were considerable better.

It was mentioned the increasing of ferment activities by considerable less number of patients: the 1st group – 15%, the 2nd group – 12%, the 3rd group – 16%.

On the basis of the made examinations it is advisable to recommend to take additionally to the conducting therapeutics the biological active addition "Vetoron" by patients with the kidney affection in all stages of diseases as a complex therapeutics, for more effective treatment, for normalization of biochemical indices of blood and for stopping of pathologic process.

БЕЛКОВО-ВИТАМИННЫЕ ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ

Пархоменко Ю.М., Супрун С.М., Краева Н.К.

Институт биохимии им. А.В. Палладина НАН Украины
e-mail: yurpark@biochem.kiev.ua

Биотехнологии с использованием различных таксономичних групп микроорганизмов широко используются в развитых странах для получения различных биологически активных соединений. В частности, микромицеты являются ценным источником естественных форм многих биологически активных соединений, свойственных растениям и животным, что создает перспективу для их использованы в производстве пищевых и кормовых добавок. Эти грибы способны синтезировать в повышенных количествах вещества, которые редко встречаются у других микроорганизмов, например, убихинон Q10, ценные полисахариды, хитин и его производные, обладающие повышенными сорбционными свойствами, что придает особую ценность грибной биомассе. Грибной белок по составу аминокислот не уступает животному. В отличие от других таксономических групп микроорганизмов грибные продуценты неприхотливы к условиям выращивания, стойки к экологическим стрессам, технологичны и могут перерабатывать вторичное растительное сырье (отходы пивоварения, сахарного производства, виноделия), трансформируя его в белково-витаминные продукты.

С учетом вышесказанного нами была разработана технология получения белково-витаминных препаратов с использованием нескольких отобранных атоксигенных грибных продуцентов. Разработанные нами условия ферментации в виде технологических рекомендаций переданы на Трипольский биохимический завод для отработки технологии получения грибной биомассы в производственных условиях и получения из нее готовых форм кормовых и пищевых добавок.

В частности, препарат Аминовит (белково-витаминная добавка, гранулы) получен на основе ферментации с использованием двух штаммов Fusarium sambucinum (патент Украины № 93070707 от 30.06.97 г.). Препарат содержит специфический комплекс физиологически активных веществ. Содержание белка в препарате достигает 40%. Среди витаминов преобладают тиамин, пантотеновая кислота, никотиновая кислота, NAD. Препарат содержит также значительное количество витамина Е и

коэнзима Q (убихинона), незаменимые аминокислоты (высокое содержание лизина, триптофана, аргинина), ненасыщенные жирные кислоты (олеиновая, линолиновая, арахидоновая и другие).

Технология производства препарата не требует существенных затрат, экологична. Препарат нетоксичен, прошел испытание как кормовая добавка в звероводческих и рыбоводческих хозяйствах. Показано его стимулирующее действие на развитие и продуктивность живого организма.

Результаты предварительных исследований свидетельствуют о перспективности использования отобранных нами штаммов для получения дешевых пищевых и кормовых белково-витаминных добавок.

MICROMYCETES PROTEIN-VITAMIN COMPLEXES

Parkhomenko Yu. M., Suprun S.M., Kraeva N.K.

A.V. Palladin Institute of Biochemistry of Ukrainian NAS
e-mail: yurpark@biochem.kiev.ua

The biotechnology with using different taxonomic groups of microorganisms are used widely in developed countries for obtaining different biologically active compounds.

In particular Micrimycetes are a source of a large spectrum of biologically active compounds, indispensable for the person and animal. That creates an perspective for its utilisation in industry of the food and fodder additions. These funguses are capable to synthesize in heightened quantities of substances, which one seldom meet for other microorganisms, for example, ubiquinone Q10, valuable polysaccharides, chitin and its derivatives, having heightened sorbate properties, that gives the special value to a fungal biomass. The fungal protein does not succumb animal on a composition of amino acids. Unlike other taxonomic groups of microorganisms micromycetes are unpretentious to conditions of cultivation and can refine secondary vegetative raw, transforming it in products, that contains proteins and vitamins.

Allowing above mentioned we designed technology for obtaining of protein - vitamins complexes with using several selectionated atoxicogenic micromycetes strains. The technology are transferred on Obuhov biochemical plant for working out of technology obtaining of fungal biomass in conditions of plant and obtaining different forms of the fodder and food additions..

We developed the technology of obtaining of proteins and vitamins complexes "Aminovitan" with using Fusarium sambucinum two strains as producants (patent of Ukraine № 93070707 from 30.06.97). The contents of protein in it reaches 40 %. Among vitamins prevail thiamine, pantothenic acid, niacin and NAD. The complex contains also significant amount of vitamin E and coenzyme Q (ubiquinone), irreplaceable amino acids (high contents of a lysine, tryptophan, arginine), non-saturated fatty acids (oleic, linolenic, arachidonic and other).

The technology does not demand essential costs, is ecological. The waste received at processing of vegetative raw (beer and sugar production, winemaking and other) can be utilised for fermentation.

Complex is nontoxic, has investigated as the fodder addition on animal and fish. It has promoting effect on development and productivity of an organism.

So, the results of preliminary researches testify to possibilities of using of the strains, selected by us, for obtaining the cheap food and fodder addition as a source of protein and vitamins..

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ПРОВЕДЕНИЮ ГИГИЕНИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК

А.Е.Подрушняк, Е.В.Цапко, Т.А.Щуцкая

Институт экогигиены и токсикологии им.Л.И.Медведя
e-mail: rina@medved.kiev.ua

Мониторинг питания населения свидетельствует о хроническом дефиците отдельных пищевых веществ в питании человека. Известно, что дефицит содержания витаминов в рационах питания населения составляет в среднем 53-58 %. Наибольший недостаток при этом отмечается в витеминах С, потребление которого составляет 36 % от рекомендуемого уровня, А (46 %) и витаминах группы В (57-64

%). Среди минеральных веществ наиболее часто отмечается дефицит кальция, калия, йода. На низком уровне потребления находятся растительных жиры, клетчатка, пектины.

В связи с этим, важным элементом в рационализации пищевых рационов является разработка новых продуктов питания из традиционного сырья повышенной пищевой ценности. Такие продукты являются источниками многих эссенциальных нутриентов (незаменимых аминокислот, полиненасыщенных жирных кислот, пищевых волокон, витаминов, биоэлементов).

Вторым путем рационализации или повышения пищевой ценности рационов является использование биологически активных добавок к питанию.

Согласно существующему сегодня определению биологически активные пищевые добавки (БАД) - это специальные пищевые продукты, которые содержат в пределах физиологических потребностей человека и/или на уровне их содержания в рационе при условии оптимального питания природные, идентичные природным биологически активные вещества, предназначенные для употребления вместе с пищей или введения в состав пищевых продуктов (рационов питания) с целью пополнения (восстановления) их дефицита, регуляции функций органов и систем организма в пределах физиологических норм, снижения риска заболеваемости.

Биологически активные добавки не следует отождествлять с лечебными добавками к пищевому продукту: лечебная добавка к пищевому продукту (ЛДПП) - это природное, идентичное природному, синтетическое биологически активное вещество, предназначенное для введення (или введенное) в состав пищевого продукта в количестве большем, чем физиологические потребности, в лечебных дозах с целью получения профилактического и/или лечебного эффекта по отношению к конкретной нозоологической форме заболевания.

Применение биологически активных добавок в питании должно быть безопасным, поэтому каждая конкретная биологически активная добавка должна пройти предварительные гигиенические исследования, включающие определение критериев безопасности данного вида продукции по содержанию контаминантов химической и биологической природы; определение содержания нутриентов (витаминов, минеральных веществ), действующих веществ для парафармацевтиков и видов микроорганизмов, входящих в состав пробиотиков, а также проведение клинической апробации для установления (подтверждения) эффективности.

Окончательное заключение о возможности использования БАД в питании и рекомендации по их применению предусматривают безопасное и эффективное использование их, реализацию в контролируемых условиях, что, в конечном счете, гарантирует сохранение здоровья человека.

THE METHODICAL ASPECTS OF HYGIENIC ASSESSMENT OF BIOLOGICAL ACTIVE ADDITIVES

A. Podrushnyak, E. Tsapko, T. Shchutskaya

Institute of Ecohygiene and Toxicology
e-mail: rina@medved.kiev.ua

The nutrition monitoring shows the chronic deficit some nutrients in daily consumption. The vitamins' deficit is 53-58 % (the most deficit is C-vitamin - 36%, A-vitamin - 46 %, B-vitamin group - 57-64 %) from the norms of physiological requirements; also we know about deficit of mineral elements Ca, K, I.

Plant fibers, pectins and vegetable oil (fat) are on low levels consumption too. All this factors shows necessity of creation daily food ration, which include the new kinds products of higher nutrients composition.

This products are the sources of essential amino-acids, (-3 and (-6-fatty acids, plan fibers, vitamins and bioelements.

The second way to enrich the daily nutrient consumption is usage of Biological Active Additives (BAA).

Biological Active Additives - a special products, which contains biological active substances at a levels of physiological requirements of organism, enrich the nutrients deficit and prevent the risk fall ill.

Biological Active Additives is not the same to Treatment Food Additives. The last - is the natural or natural-identical or artificial biological active substances, which include in food products in amount more than physiological requirement with the purpose of treatment effect in concrete form of disease.

The Biological Active Additives in nutrition must be safe; each of BAA needs in hygienic assessments, which include:

- the sanitary-hygienic expertise of BAA according to safety indices (chemical and biological contaminants) for human health;
- determination of the contents of active ingredients (parapharmaceutics), vitamins and mineral elements, estimation the microbiological species of bacteria deals with probiotics;
- estimation the effectiveness of Biological Active Additives.

The conclusion about the possibility to use of Biological Active Additives in nutrition and recommendation for use under control conditions ensure safety and health stronger of population.

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК ОАО «ХОЛДИНГ«ЭДАС»

Сергеев А.В., Шашкина М.Я., Столяренко Н.А.

ОАО «Холдинг «ЭДАС»
e-mail: san5353@mail.ru; dsi@insuranc.kharkov.ua

Процесс эволюции, жизнь человека в период технократического расцвета к концу 20 века коренным образом изменили окружающую среду: химический, физический, психический «климат» обитания. И окружающая нас биосфера, и организм человека лишились прежних привычных, раз- граничивающих, защитных барьеров. В этих условиях неблагоприятные климатические и социаль- ные факторы и стрессы провоцируют возникновение и прогрессию целого ряда соматических забо- леваний. Этому же способствует недостаток витаминов, минеральных веществ, гликопептидов и других биологически активных веществ (БАВ) в продуктах питания. Воздействие всех этих момен- тов приводит к повышению чувствительности клеток организма к действию канцерогенов, радиа- ции, к увеличению возникновения таких наиболее распространенных заболеваний как аллергия, атеросклероз, катаракта, сахарный диабет и злокачественные новообразования, к росту числа слу- чаев хронизации патологических процессов и числа инфекционных заболеваний, извращению реак- ции на фармакотерапевтическое воздействие при лечении. Снижение адаптационных возможностей и неуклонный рост заболеваемости и смертности населения поставил проблему создания средств, повышающих сопротивляемость организма неблагоприятным факторам окружающей среды в разряд самых актуальных. По нашему твердому убеждению такими средствами являются биологически активные добавки (БАД) и гомеопатические лекарственные средства (ГЛС). Проведенные в России эпидемиологические исследования убедительно показали наличие обратной зависимости между количеством потребляемых с пищей витаминов А, С, Е и бета-каротина и частотой возникновения рака. При независимом эпидемиологическом исследовании аналогичные данные были получены и за рубежом. По данным Института питания РАМН до 70-80% населения страдают от недостатка витаминов (в первую очередь, бета-каротина и витаминов А, С, Е), микроэлементов и йода. Гомео- патический Холдинг «ЭДАС» совместно с рядом Научных и Клинических Центров проводит рабо- ту по изучению, разработке и внедрению в практическую деятельность врачей новых методов диаг- ностики и лечения, новых препаратов из группы БАВ и ГЛС. Российский Онкологический Научный Центр совместно с Холдингом «ЭДАС» провел серию исследований по созданию препаратов на ос- нове бета-каротина по заданию МЗ РФ в рамках программы по «Защите населения о воздействия последствий Чернобыльской и других катастроф». Проверка в эксперименте показала, что бета-каро- тин задерживает развитие спонтанных и индуцированных опухолей животных, увеличивает продол- жительность их жизни, защищает хромосомную систему клеток от повреждения мутагенами. Комби- нирование бета-каротина с витаминами С и Е, которые работают в комплексе, дополняя друг друга, позволяет получить защитный эффект при меньших дозах бета-каротина, витаминов С и Е. Препарат, объединивший все эти вещества был назван «КАСКАТОЛ». Этот комплекс обеспечивает природную защиту клеток и тканей на уровне клеточных мембран от повреждения их свободными радикалами кислорода, перекисями липидов и патологических нарушений, индуцированных ими. В эксперименте «Каскатол» показал более выраженную способность задерживать развитие опухолей у животных и повышать продолжительность их жизни. Одновременно он проявлял антимутагенную активность, нормализовал иммунный статус животных.Отдаленные исследования показали его полную безвредность. Исследования препарата в клинике показали его нормализующее действие на гуморальный иммунитет. При курсовом применении «Каскатола» (по 1 драже 3 раза в день в течение 20 дней) у пациентов: в 1,5–2 раза повышалось исходно сниженное содержание В-лимфоцитов; на 54-56%повы- шалось исходно сниженное содержание Т-

лимфоцитов; на 20-26% повышалась исходно сниженная функциональная активность фагоцитов; в 1,2–1,5 раза сокращался уровень циркулирующих иммун- ных комплексов; нормализовалось исходно повышенное содержание IgM. Рандомизированное исследование в группе риска состоящей из 400 добровольцев - злостных курильщиков (со сроком курения до 20 лет) показали, что снижение бета-каротина в плазме у них составляет 1,5-2 раза. Кроме того, отмечается снижение концентрации витамина Е. Через 1,5-2 месяца лечения каскатолом в дозе 2 драже 3 раза в день концентрация бета-каротина в плазме крови возросла в 3-4 раза, нормализовалась концентрация витамина Е. Кроме того, с целью включения «Каскатола» в схему комбинированного лечения онкологических больных, проведены исследования, показавшие высокую эффективность препарата при данной патологии. В настоящее время проводятся разносторонние исследования БАД, выпускаемых Холдингом ЭДАС (эликсиров «ЭДАС» и «ВИТА-ДАР», фитодраже «ЭХИНАЦЕЯ-ЭДАС» и «ШИПОВНИК-ЭДАС») с целью более полного выявления их влияния на организм.

ДЕФИЦИТ МИКРОНУТРИЕНТОВ У СОВРЕМЕННОГО ЧЕЛОВЕКА: ЕГО ПОСЛЕДСТВИЯ ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ И ПУТИ КОРРЕКЦИИ

Спиричев В.Б.

Институт питания РАМН
e-mail: spirichev@ion.ru

Среди пищевых факторов, имеющих важнейшее значение для здоровья, работоспособности и активного долголетия человека, особая роль принадлежит микронутриентам: витаминам и минеральным веществам.

Международная конференция по питанию 1992 г. ФАО/ВОЗ в Риме, указала на широкое распространение дефицита микронутриентов как на важнейшую проблему не только развивающихся, но и развитых стран и подчеркнула необходимость широкомасштабных мер на государственных уровнях для эффективной коррекции этих дефицитов.

Результаты массовых обследований, проводимых Институтом питания Российской Академии медицинских наук однозначно свидетельствуют о крайне недостаточном потреблении витаминов и ряда минеральных веществ (железо, йод, селен, кальций и др.) у значительной части детей и взрослого населения России.

Сходная ситуация характерна и для других стран СНГ. Так, при обследовании в 1992г. работников ЧАЭС и объекта «Укрытие», а также беременных женщин и детей 4-10 лет в г.Славутич недостаточная обеспеченность витамином С была выявлена у 85-94%, а глубокий дефицит - у 60-75% обследованных взрослых и 30% детей. У 74-96% имел место недостаток витамина B_1 (в том числе у 30-75% - глубокий дефицит), у 75-80% - недостаток витамина B_6.

Недостаточное потребление витаминов и жизненно необходимых минеральных веществ наносит существенный ущерб здоровью: снижает физическую и умственную работоспособность, сопротивляемость различным заболеваниям, усиливает отрицательное воздействие на организм неблагоприятных экологических условий, вредных факторов производства, нервно-эмоционального напряжения и стресса, повышает профессиональный травматизм, чувствительность организма к воздействию радиации, сокращает продолжительность активной трудоспособной жизни.

Дефицит витамина С, каротина и других биоантиоксидантов снижает активность иммунной системы, является одним из факторов, повышающих риск простудных, сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний.

Дефицит витаминов у беременных и кормящих женщин увеличивает детскую смертность, является одной из причин недоношенности, нарушений физического и умственного развития детей. Особенно опасен в этом отношении дефицит фолиевой кислоты, наблюдаемый в настоящее время у 70-100% беременных женщин.

Недостаточное поступление витаминов в детском и юношеском возрасте отрицательно сказывается на показателях физического развития, заболеваемости, успеваемости, способствует постепенному развитию обменных нарушений, хронических заболеваний и, в конечном итоге, препятствует формированию здорового поколения.

Недостаточное поступление микронутриентов с пищей – общая проблема всех цивилизованных стран. Она возникла как неизбежное следствие снижения энергозатрат и соответствующего уменьшения общего количества пищи, потребляемой современным человеком.

В этих условиях наиболее разумным и эффективным путем улучшения обеспеченности населения микронутриентами в общегосударственном масштабе является дополнительное обогащение ими продуктов массового потребления.

Учитывая неблагоприятные последствия дефицита микронутриентов для здоровья детского и взрослого населения, специалисты Института питания РАМН разработали ряд высокоэффективных и недорогих (что особенно важно для детских, лечебных учреждений и малообеспеченных слоев населения) лечебно-профилактических продуктов, обогащенных витаминами, каротином и рядом минеральных веществ, производство которых в промышленном масштабе осуществляет научно-производственная фирма «Валетек Продимпэкс».

Среди них:

«Концентрат напитка «Золотой шар» с витаминами и каротином», один стакан которого надежно восполняет недостаточное поступление всех 12 витаминов и бета-каротина с рационом.

«Концентрат напитка «Золотой шар» с витаминами и каротином на фруктозе» с подсластителем аспартамом для больных диабетом и здоровых людей, ограничивающих потребление сахара и калорийность рациона.

«Концентрат напитка «Золотой шар» с витаминами, каротином и железом» для коррекции и профилактики сочетанных железо-витаминнодефицитных состояний и анемии у детей и женщин.

«Концентрат напитка «Золотой шар» с витаминами, каротином, кальцием и магнием» - для эффективной профилактики рахита у детей, нарушений витаминно-минерального баланса у беременных и кормящих женщин, постменопаузного, кортикостероидного и старческого остеопороза у женщин и мужчин.

«Сироп шиповника «Золотой шар» с 12 витаминами, железом и йодом» - для восполнения их дефицита и укрепления здоровья детей дошкольного и школьного возраста.

«Соль пищевая профилактическая» с заменой 30% натрия на калий и магний для профилактики гипертонической болезни, улучшения работы сердца, сосудов и почек.

«Соль пищевая профилактическая йодированная», с заменой 30% натрия на калий и магний, обогащенная йодатом калия до уровня 40 мкг йода на 1 г соли.

Наряду с производством специальных пищевых продуктов, обогащенных недостающими витаминами и минеральными веществами, другим эффективным путем массовой профилактики дефицита микронутриентов является обогащение ими продуктов массового потребления (мука, хлебобулочные изделия, молоко и молочные продукты) с использованием для этих целей полноценных витаминных и витаминно-минеральных смесей (премиксов или обогатителей).

Высокая эффективность этих продуктов в улучшении питания и укреплении здоровья, положительный опыт их использования в массовом оздоровлении детей в экологически неблагоприятных районах, сравнительно невысокая стоимость позволяет рекомендовать их включение в рационы организованных коллективов детского и взрослого населения в качестве наиболее экономичного и высокоэффективного массового оздоровительного мероприятия.

Расширение отечественного производства обогащенных микронутриентами продуктов питания является одной из важнейших задач Концепции государственной политики в области здорового питания населения Российской Федерации на период до 2005г., одобренной Правительством Российской Федерации 10 августа 1998г.

СЕКЦИЯ:

«БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ»

ОБОСНОВАНИЕ КОРРЕКЦИИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ МУСКУСНЫХ УТОК В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Е.А. Данченко, В.В. Калитка

Мелитопольский государственный педагогический институт
Таврическая государственная агротехническая академия
e-mail: drn@mpu.melitopol.net

Одним из направлений интенсификации сельскохозяйственного (с/х) птицеводства является использование антиоксидантных (АО) препаратов. Ранее нами обоснованы наиболее оптимальные сроки введения АО препаратов в рацион с/х гусей как вида с высокой интенсивностью роста и обменных процессов. Работа по оптимизации антиокислительного гомеостаза мускусных уток, как медленно растущего вида гусеобразных, интересна еще и тем, что эти утки являются адаптированным диким видом. Их изучение позволит повысить результативность дичеразведения и эффективность выращивания в неволе редких видов гусеобразных.

Состояние системы АОЗ мускусных уток оценивали по содержанию ТБК-активных продуктов (ТБКАП) в тканях печени и в крови. Одновременно в том же биоматериале определяли супероксиддисмутазную (СОД), каталазную (КТ), и глутатионпероксидазную (ГП) активность, содержание витаминов А, Е, β-каротина. Коррекцию ПОЛ в опытной группе утят проводили биогенным препаратом стибел (СБ) в количестве 1% к массе корма. СБ получали путем конденсации аминокислот и белков соевого шрота с глюкозой в условия реакции Майларда.

У суточных утят, как и у гусят отмечен максимальный уровень ПОЛ: содержание ТБКАП в печени утят этого возраста 211,6±1,0 нмоль/г. В течение первых четырех недель наблюдалось медленное снижение уровня липопероксидации до минимального значения (48,2±3,4 нмоль/г). Формирование контурного пера (VI-VII недели) и начало ювенильной линьки (X-XI недели) характеризовались повышением уровня липопероксидации в печени и крови утят. Именно в эти периоды развития мускусных уток наиболее целесообразно введение АО препаратов в их рацион.

Введение биогенного препарата СБ во время формирования контурного пера снизило содержание ТБКАП в печени в 1,7, а начала ювенильной линьки – 2,4 раза за счет активизации АО ферментов и более всего СОД. Под влиянием препарата СОД-активность в опытной группе, начиная с 7-недельного возраста и до конца эксперимента была достоверно выше контроля. Активизация КТ и ГП под влиянием препарата была непродолжительной и отличалась по времени. Содержание витамина Е в опытной группе к концу эксперимента (15-недель) на 12,6% превысило контроль. Установлено значительное увеличение концентрации витамина А в печени при одновременном резком снижении содержания β-каротина. Введение СБ в рацион, вероятно, стимулирует не только АО ферменты, но и β-каротин-15,15'-диоксигеназу.

Наряду с устойчивым антипероксидным эффектом в опытной группе отмечены большие суточные привесы и масса утят к концу эксперимента (+14,60%). В опытной группе интенсивнее формировалось оперение и на 5% снизился падеж. Таким образом введение СБ в рацион мускусных уток в соответствии с предложенной схемой позволит увеличить эффективность выращивания этой птицы.

THE GROUND OF LIPID PEROXIDATION CORRECTION OF MUSCOVY DUCKS IN EARLY POSTNANAL ONTOGENESIS

Danchenko E.A., Kalitka V.V.

Melitopol state pedagogical university, Tavria state agrotechnical academy
e-mail: drn@mpu.melitopol.net

One of the direction of agricultural poultry intensification is the usage of antioxidant preparation. It's ground the most optimal period for antioxidant supplementation of geese diets, as a species with high intensity of growth and metabolism. The optimization of muscovy ducks antioxidant homeostasis, as a slowly growing species of goose, is interesting that these ducks are adaptive wild species. Their studding will allow to increase the resulting of wildbreeding and breeding effection of rare geese species in captivity.

The state of antioxidant defense system of muscovy ducks evaluated by thiobarbituric acid reactive substances method (TBARS) in liver tissues and blood. Simultaneously, in the same biomaterial were

determined superoxide dismutase (SOD),catalase (CAT),glutathione peroxidase (GPX) activities; content of vitamins ß-carotine. The LPO correction of experimental ducks has been made by biogenesis stibel (SB) preparation (1% by fodder weight). SB was yielded by condensation of soy oil cake aminoacid and proteins with glucose in Mailard´s reaction conditions.

The maximum level of LPO was marked in newly hatched ducklings, just as in daily gooslings. The content of TBARS in duck's liver tissues was 211,6±1,1nM/g at that time. The LPO level declining up to minimal extent (48,2±3,4nM/g) was established during first four weeks.

The feather forming (6-7 weeks) and the beginning of uvenal mouthing (10-11 weeks) is characterize by LPO level increasing in duck's liver tissues and blood. It's worth while to enteract antioxidant preparation into the ration just in the same period of duck's development.

The SB supplementation caused the decrease of TBARS in liver in 1,7 times. During feather forming period and in 2,4 times in uvenal moult period at the expence of antioxidant enzymes activation, especially SOD.

Beginning from the age of 7-th week till the end of experiment SOD a activity in experimental group was respectively higher then the control group under SB preparation influence.

The effect of SB preparation on CAT and GPX activation was short and digger by the time. The vitamin E content in experimental group was higher (12,6%) as compared with the control group at the end of experiment. It was established the significant increasing of vitamin A content ration in liver according to simultaneous decreasing of β-carotene content. It's possible that SB supplementation of duck's diet stimulates not only antioxidant enzymes, but β-carotene-15,15'- dioxygenase.

The high daily gaining rate of ducks (+14,6%) was marked at the end of experiment. The forming feather was make intensive and death rate declined in 5% in experimental group.

So, the SB supplementation of muscovy duck's diet according to preposed scheme will allow to increase the effectivity of this poultry breeding.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТОВ ТЕРМОФИЛЬНОГО МЕТАНОВОГО БРОЖЕНИЯ В СОСТАВЕ ЗАЩИТНО-СТИМУЛИРУЮЩИХ КОМПОЗИЦИЙ ДЛЯ ПРЕДПОСЕВНОЙ ОБРАБОТКИ СЕМЯН ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ.

Драговоз И.В., Крючкова Л.А., Яворская В.К., Волкогон Н.В.

Институт физиологии растений и генетики НАН Украины
e-mail: mamenko@ifrg.freenet.kiev.ua

В последнее время на Украине существенно возросла вредоносность болезней зерновых, возбудители которых передаются семенами или через почву. Протравливание семян – один из основных приёмов в интегрированой защите зерновых колосовых культур от головневых болезней, корневых гнилей, плесневения семян.

Задачей нашего исследования было создание композиции и способа передпосевной обработки семян для обеспечения эфективной защиты растений пшеницы от комплекса болезней при снижении дозы протравителя и повышении интенсивности роста на ранних этапах онтогенеза. Поставленная задача решается путём создания композиции для передпосевной обработки семян пшеницы, которая содержит витавакс 200ФФ, продукты термофильного метанового брожения (ПТМБ) и воду в следующих соотношениях (на 1 кг семян): витавакс 200ФФ – 1,5 мл; ПТМБ – 1,6 - 6,25 мл; вода – до 13 мл, и способа передпосевной обработки, которая предполагает инкрустацию семян предложенной композицией. Нашими предыдущими исследованиями установлена ростстимулирующая активность продуктов термофильного метанового брожения (ПТМБ) отходов спиртодрожжевого производства. Они содержат комплекс витаминов группы В, фитогормоны ауксиновой и цитокининовой природы, аминокислоты, нуклеотиды и другие физиологически-активные вещества, которые стимулируют рост и развитие растений. Показано также, что синтетические цитокинины и витамины группы В повышают устойчивость растений к неблагоприятным условиям среды, ускоряют восстановительные процессы после действия стресовых факторов. Експериментальные данные показали, что композиция обеспечивает высокий уровень обеззараживания семян при половинной норме протравителя (1,5 л на 1 т семян) с одновременным уменьшением негативного действия протравителя на всхожесть и ростовые парамеры пшеницы. Это даёт возможность снизить себестоимость обработки семян и использовать способы протравливания, которые являються экологически более безопасными и экономически выгодными по сравнению с существующими в настоящее время.

THE USAGE OF THERMOPHILIC METHANE FERMENTATION PRODUCTS IN THE COMPLEX OF PROTECTIVE-STIMULATING COMPOSITIONS FOR PRESOWING WINTER WHEAT SEED TREATMENT.

Dragovoz I.V., Kryuchkova L.O., Yavorskaya V.K., Volkohon N.V.

Institute of plant physiology and genetics NAS of Ukraine.
e-mail: mamenko@ifrg.freenet.kiev.ua

There was reported an essential increase of harmful diseases of grain crops in Ukraine, which pathogens are transmitted with seeds or through soil. Seed treatment is one of the basic way of integrated protection of feed grain crops against smut, root rots,and mould seed.

The main obective of our research work was to create a composition and methodof presowing seed treatment to provide the wheat with effective protection against a complex of diseases with decreasing of a fungicide dose and increasing of growth intensity at early stages of an ontogenesis. Problem put by is solved by creation of the composition for presowing seed treatment of wheat that contains vitavax 200FF, thermophilic methane fermentation products (TMFP) and water in the following ratio (on 1 kg of seeds): vitavax 200ФФ – 1,5 ml; TMFP – 1,6 - 6,25 ml; water – up to 13 ml, and methods of presowing seed treatment, which assumes the seed incrustation by the proposed composition. In our previous researches we established growth stimulating activity of thermophilic methane fermentation products (TMFP) from the ethanol-yeast industry waste. They contain a complex of vitamin's B group, phytohormones of auxin and cytokonin nature, amino acids, nucleosides and other physiologicaly - active compounds, which stimulate growth and development of plants. It was also shown, that synthetic citokinins and the vitamin's B group enhance plants resistance to unfavorable conditions of environment, accelerate recovery processes after the stress factors action.

It was shown, that the composition provides a high level of a seed disinfection at a half to norm of the fungicide (1,5 l on 1 t seed) with simultaneous decrease of negative effect of fungicide on germinating capacity and wheat growth parameters. It enables to lower the cost price of seed treatment and to use methods of seed treatment, which are ecologically more safe and economically favourable to compare with existing now.

БИОХИМИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ НАПРАВЛЕНИЙ ПЕРЕРАБОТКИ ПЛОДОВ АЛЫЧИ

Ежов В.Н., Полонская А.К., Горина В.М., Куцелепа Е.М.

Никитский ботанический сад – национальный научный центр

Проведены исследования, направленные на поиск перспективных для производства продукции лечебно-профилактического назначения плодовых растений. Как этап работы, определены направления переработки плодов различных сортов алычи на основе их комплексной биохимической оценки.

Показано, что концентрация сухих веществ в зависимости от сорта алычи варьирует от 18,5% до 23,6%; моно- и дисахаридов - в пределах 8-21%; органических кислот - от 0,7% до 3,3%; аскорбиновой кислоты - от 2 до 7 мг/100г; антоцианов - от 0,3% до 1,0%; пектиновых веществ - от 0,8 до 1,6%. Практически все испытуемые сорта нашли применение в переработке и были рекомендованы для получения экспериментальных партий соков, нектаров, безалкогольных напитков, вина, варенья, конфитюров, пастилы, уксуса и других видов консервной продукции. Оптимизированы технологические приемы, корректирующие вкусовые, ароматические, цветовые характеристики и питательную ценность получаемой продукции, такие как купажирование, настаивание мезги, применение ферментных препаратов мацерирующего и пектолитического действия.

Одним из наиболее важных лечебно-профилактических свойств данного сырья, наряду с биологическими свойствами, обусловленными содержанием пектина, является антиоксидантная активность (АОА), определяемая по термическому окислению олеиновой кислоты (ОК) в сравнении с ионолом (пробу спиртового экстракта плодов вносили в концентрациях 0,2% и 1,0% по отношению к ОК). Показатель АОА для 17 различных сортов алычи варьировал в диапазоне 16-65% при концентрации пробы 0,2% и 51-90% - при максимальной концентрации. Наибольшая активность при минимальной концентрации наблюдалась в сортах Карамельная (65%) и Пурпуровая (61%), что позволит

рекомендовать эти сорта для производства концентрированного лечебно-профилактического продукта с высокими антиоксидантными свойствами.

Таким образом, открываются широкие перспективы для целенаправленного использования такой высокоурожайной и неприхотливой культуры, как алыча, для получения продукции лечебно-профилактического назначения.

THE BIOCHEMICAL SUBSTANTIATION OF VARIOUS DIRECTIONS OF CHERRY-PLUM FRUITS PROCESSING.

Ejov V.N., Polonskaya A.K., Gorina V.M., Kychelepa E.M.

Nikisky Botanical Garden - National Center of Science

The researches, directed on search perspective for production of medical-preventive prescription of fruit plants, are carried out. As a stage of work, the directions of processing fruits of various kinds of cherry-fruit are determined on the basis of their complex biochemical estimation.

It is shown, that the concentration of dry substances depending on kinds of cherry-plum varies from 18,5 % up to 23,6 %; mono- and disaccharin within the limits of 8-21 %; organic acids - from 0,7 % up to 3,3 %; ascorbic acids - from 2 up to 7 mg/100g; antocian - from 0,3 % up to 1,0 %; pectin substances - from 0,8 up to 1,6 %. Practically all probationer kinds have found the use in processing and were recommended for reception of experimental parcels of juices, nectars, nonalcoholic drinks, wines, jam, comfitures, pastilles, vinegar and other kinds of canning production. The technological receptions, adjusting flavoring, aromatic, color characteristics and nutritional value of received production, such as clumping, extracting of mezgi, application of ferment preparations of macering and pectoliting action, are optimized.

One of the most important medical-preventive properties of the given material, alongside with biological properties caused by the contents pectin, is antioxidant activity (AOA), determined on thermal oxidation olein acid (OK) in comparison with ional (test of spirit extract of fruits 0,2 % and 1,0 % in relation to OK). The parameter AOA for 17 various kinds of cherry-plum varied in a range 16-65 % at concentration of test 0,2 % and 51-90 % - at the maximal concentration. The greatest activity at the minimal concentration was observed in kinds Karamelnaja (65 %) and Pyrpyrovaja (61 %), that will allow to recommend these kinds for manufacture of the concentrated medical-preventive product with high antioxidant properties.

Thus, the wide prospects for purposeful use such high-yield and unpretentious culture, as cherry-plum, for reception of production of medical-preventive assignment open.

НЕКОТОРЫЕ ПАРАМЕТРЫ ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА ИВИН НА ПРОРОСТКИ ЗЛАКОВ ПРИ СОЛЕВОМ СТРЕССЕ.

Кабузенко С.Н.

Таврический Национальный университет им. В.И. Вернадского

Возможность применения фитогормонов (цитокинина, гибберелловой кислоты) для повышения солеустойчивости злаковых культур на начальных этапах развития была показана нами ранее [Кабузенко, 1997]. Однако практическое использование этих веществ лимитировано высокой стоимостью и отсутствием их производства на Украине.

Испытание нами ряда препаратов отечественного производства показало высокую эффективность защитного действия 2,6-диметилпиридин-N-оксида (ивина) в условиях засоления на проростки злаков (кукурузы, ячменя, пшеницы).

Нами установлены физиологически активные концентрации препарата, действующие на солевом фоне, и показано, что применение препарата возможно методом замачивания семян и опрыскивания проростков.

В результате замачивания семян повышается энергия их прорастания – до 30% и всхожесть – до 20% на засоленной (0,2% по хлору) почве. Эффект распространяется и на проростки: возрастает их сырая и сухая масса, увеличиваются ростовые показатели.

Физиологической основой действия препарата является увеличение чистой продуктивности фотосинтеза, повышение содержания важнейших анаболитов: белка, сахаров, клетчатки. Происходит также интенсификация подкисляющей активности корней, что может служить критерием солеустойчивости злаков [Воробьёв, 1986].

При опрыскивании проростков эффективны более высокие концентрации препарата, но изменение физиологических параметров идентично.

SOME PARAMETERS OF PROTECTIVE EFFECT OF IVIN ON THE CEREALS' GERMS UNDER THE SALINE STRESS.

Kabuzenko S.N.

Tavrida National University by Vernadsky V.I.

Earlier we showed the opportunity of phytohormone application (cytokinin, gibberellic acid) for the salt stability increase of grain crop at the initial evolution stage [Кабузенко, 1997]. But, high value and lack of production in the Ukraine limit the practical use of these matters.

We tested the number of preparations of domestic manufacture, and it revealed high efficacy of protective effect 2,6- dimethylpyridin-N-oxide (ivin) on the cereals' germs (maize, barley and wheat) in the conditions of pickling.

We determined physiologically active concentrations of preparation, which act against a saline background, and we showed that it is possible to use the preparation by means of sabadilla soak and germ spraying.

Following a sabadilla soak the energy of its germination increases – up to 30% and germinating capacity – up to 20% (0,2% of chlorine) on the saline soil. The effect also extends on germs: their raw and dry mass rises, their growing index increases.

Physiological base of the effect of preparation is the increase of pure photosynthesis production, rise of the content of the important anabolits: albumen, sugars, cellulose. Intensification of acid activity of roots takes place and it serves as a criterion for salt-stability of cereals [Воробьёв, 1986].

Higher concentrations of preparation are effective during germs spraying, but the change of physiological parameters is identically.

ПРИМЕНЕНИЕ ЭКЗОГЕННОГО ЛЕКТИНА СОИ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ СОЕВО-РИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА.

Кириченко Е.В., Титова Л.В., Жемойда А.В., Омельчук С.В.

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины
e-mail: azot@ifrg.freenet.kiev.ua

Соя является перспективной зернобобовой культурой, продуктивность которой в значительной степени обусловлена активностью ее симбиоза с клубеньковыми бактериями. Эффективность бобово-ризобиального симбиоза определяется симбиотическими свойствами ризобий, которые можно изменять, действуя на бактериальную клетку какими-либо веществами. Ранее нами показано, что одним из таких веществ может быть экзогенный лектин растения-хозяина (подана заявка на патент "Спосіб підвищення симбіотичних властивостей повільнорослих бульбочкових бактерій Bradyrhizobium").

В данной работе мы изучали роль лектина сои в предпосевной инокуляции семян с целью повышения эффективности соево-ризобиального симбиоза. В условиях микровегетационного и вегетационного опытов показано, что инкубация в течение 20 часов при 28^0С специфичного сое штамма 634б с экзогенным лектином сои в различных концентрациях влияла на развитие растений сои (надземной части и корня) так и на образование корневых клубеньков. На ранних этапах развития растений (10-ти дневные) в опытных вариантах отмечено увеличение длины растений на 9-20% по отношению к абсолютному контролю и на 11-22% по отношению к штамму-инокулянту. В данный период

наблюдалось опережающее развитие корневой системы растений по сравнению с надземной частью. По мере роста растений акценты в развитии зеленой массы и корня смещались в сторону зеленой массы, что особо отчетливо наблюдалось у 30-дневных растений. Масса надземной части растений опытных вариантов превышала показатели абсолютного контроля на 20-40%, а штамма-инокулянта – на 8-17%.

В вегетационном опыте растения сои опытных вариантов отличались более интенсивным формированием зеленой массы как на раннем этапе развития (на 8-39% больше абсолютного контроля и на 21-28% – штамма-инокулянта) так и на протяжении всего периода вегетации.

Анализируя интенсивность процесса клубенькообразования, можно отметить, что обработка штамма-инокулянта лектином приводила к усилению клубенькообразующей способности штамма на 6-33% в зависимости от концентрации лектина. Эта же закономерность сохранялась и в следующем отборе: в опытных вариантах количество клубеньков было на 42-79% больше, чем в варианте со штаммом без лектиновой обработки.

Таким образом, экзогенный специфичный растению лектин сои при инкубации его со штаммом 634б и дальнейшей инокуляции этим штаммом проростков сои в условиях вегетационных опытов приводил к усилению клубенькообразующей способности штамма и увеличению формирования зеленой массы растениями сои.

APPLICATION OF EXOGENIC SOYBEAN LECTIN FOR INCREASING THE EFFECTIVENESS OF SOYBEAN-RHIZOBIUM SYMBIOSIS

E.V.Kyrychenko, L.V.Tytova, Zhemoyda A.V., Omelchuk S.V.

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine

e-mail: azot@ifrg.freenet.kiev.ua

Soybean is a prospective grain-legume crop, which productivity is mainly preconditioned by the activity of its symbiosis with nodule bacteria. The effectiveness of legume-rhizobium symbiosis is determined by symbiotic properties of rhizobia, which can be changed influencing the bacterial cells by certain substances. It has been shown earlier, that one of such substances can be an exogenic lectin of the host-plant (Patent application “Method of increasing of symbiotic properties of slowlygrowing nodule bacteria Bradyrhizobium “ has been sent).

The role of soybean lectin in presowing inoculation of seeds with the purpose of increasing the effectiveness of soybean-rhizobium symbiosis has been studied in this paper. Microvegetation and vegetation experiments have shown, that incubation of the specific soybean strain 634b with exogenic soybean lectin in various concentration within 20 hours at 28ºC influenced both the development of soybean plants (green mass and root) and the formation of root nodules. At the early stages of plant development (10-days) the increasing of plant length by 9 to 20% in relation to the absolute control and by 11 to 22% in relation to strain-inoculant has been observed in the experimental variants. In this period there has been observed the outstripping development of plant roots in comparison with a plant green part. In the process of growth of plants the accents in the development of green and root mass were displaced to the forming of green mass. It was especially pronounced in 30- days plants.

Mass of the green part of plants of experimental variants exceeded parameters of the absolute control by 20 to 40 %, and strain-inoculant – by 8 to 17%.

The plants of soybean of experimental variants in vegetation experiment were different by more intensive formation of green mass both at the early stage of their development (by 8 to 39% more absolute control and on 21 by 28% – strain-inoculant) and during the whole period of vegetation.

It is shown that preincubation of strain 634b with soybean lectin increased its nodulation ability by 6 to 33% depending on lectin concentration. The same dependence was kept in the following analysis: in experimental variants the quantity of root nodules was greater by 42 to 79%, than that in the variant with the strain without lectintreating.

Thus, preincubation of rhizobia strain 634b with the soybean lectin and the subsequent inoculation of two-days-old soybean seedlings by its suspension, resulted in the enhancement of nodulation ability of bacteria and increasing in formation of green masses of soybean plants.

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСА МИКРОСИМБИОНТ – ЛЕКТИН НА АЗОТФИКСАЦИЮ И ПРОДУКТИВНОСТЬ СОИ.

П.Н. Маменко, С.К. Береговенко, С.Я. Коць

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины
e-mail: mamenko@ifrg.freenet.kiev.ua

Продуктивность сельскохозяйственных культур в значительной степени зависит от обеспеченности их азотом. Бобовые растения в симбиозе с бактериями рода Bradyrhizobium самостоятельно обеспечивают себя этим важным елементом, фиксируя молекулярный азот атмосферы. Процесс формирования бобово-ризобиального симбиоза проходит ряд скоординированных этапов. Их регуляция осуществляется с одной стороны бактериями с другой –растением-хозяином. Одна из важных функций в этом процессе принадлежит лектинам бобовых растений.

Цель настоящей работы заключалась в исследовании влияния комплекса микросимбионт–лектин на формирование симбиотического апарата, азотфиксацию и продуктивность растений сои. Показано, что предварительная инкубация микросимбионта с гомологичным лектином в течение 24 часов положительно влияла на развитие и функционирование азотфиксирующего аппарата. Колличество и масса клубеньков, образованных на корнях растений была на 30-40% выше по сравнению с растениями инокулированными аналогичным штаммом, предварительно не обработанных лектином. При этом азотфиксирующая активность опытного варианта превышала контроль в 2,8 раза.

Установлено также, что обработка семян сои комплексом микросимбионт–лектин также положительно влияет на наростание вегетативной массы и урожай зерна. Вегетативная масса опытных растений была большей контрольных на 10 – 15%, при этом прирост урожая зерна составил 52%.

Таким образом, прединокуляционная инкубация клубеньковых бактерий со специфическим лектином сои стимулирует развитие симбиотической системы, положительно влияет на наростание зеленой массы и повышает урожайность зерна, а также позволяет микросимбионту эффективней реализовать свой симбиотический потенциал.

INFLUENCE OF A MICROSYMBIONTE-LECTIN COMPLEX ON NITROGEN FIXATION AND PRODUCTIVITY OF SOYBEANS

P.N. Mamenko, S.K. Beregovenko, S.Ya. Kots

I*nstitute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine*
e-mail: mamenko@ifrg.freenet.kiev.ua

The productivity of agricultural cultures substantially depends on their provision with nitrogen. The legumes in symbiosis with bacteria Bradyrhizobium species independently provide themselves with this important element, fixing atmospheric molecular nitrogen. The process of legumes-risobial symbiosis formation passes series of the coordinated stages. Their regulation is carried out on the one hand by bacteria and by host-plant on another. One of the important functions in this process belongs to lectins of legumes.

The present work object lie in the research of a microsymbionte-lectin complex influence on symbiotic system formation, nitrogen fixation and productivity of soybeans. It was shown, that preliminary incubation of a microsymbionte with homologous lectin within 24 hours positively influenced on nitrogen fixation system development and functioning. Mass and amount of nodules formed on plants roots was on 30-40 % above in comparison with plants inoculated with similar strain, not pretreated with lectin. Thus the nitrogen fixation activity of experimental variant exceeded the control one in 2,8 times.

It was established, that the soybeans seeds treatment with a microsymbionte-lectin complex positively influenced on accumulation of vegetative mass and corn crop. Vegetative mass of experimental plants exceeded control ones on 10 - 15 %, with the 52 % increase of corn crop.

Thus, preinoculation incubation of nodule bacteria with the specific soybeans lectin stimulates development of the symbiotic system, positively influences on accumulation of green mass and increases yield productivity, and stimulates a microsymbionte to realize its symbiotic potential more effectively.

АРОМАТИЗИРОВАННОЕ ПЛОДОВО-ЯГОДНОЕ ВИНО С ПОВЫШЕННОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТЬЮ

Орехова С.В., Полонская А.К., Ежов В.Н., Работягов В.Д.

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр

В Крыму имеется обширная база для производства плодово-ягодных вин, ароматизированных настоями ингредиентов из крымских эфиромасличных и лекарственных растений, что должно обогатить состав биологически активных веществ в этих напитках, повысить их лечебно-профилактическое значение. Актуальным является научный подход к созданию композиций натуральных растительных ингредиентов для ароматизации, поэтому целью данной работы явилось изучение биохимических основ создания композиции. Для реализации этой цели были решены следующие задачи: дана биохимическая и технологическая характеристика перспективных для пищевой промышленности пряно-ароматических растений; разработаны оптимальные режимы экстракции биологически активных веществ (БАВ); изучены закономерности перехода БАВ в экстракт; изучен компонентный состав эфирных масел экстрактов; разработан состав композиции экстрактов для ароматизации плодово-ягодных вин; разработана технология получения ароматической композиции; апробирована композиция растительных ингредиентов в ароматизации плодово-ягодных вин в промышленности.

Полученная композиция и ароматизированное ею вино, по данным ВЭЖХ, содержит в качестве основных компонентов производные кофейной кислоты, специфические флавоны полыни и флаваноны душицы, которые сохраняют структуру и ту же биологическую активность, что и исходные экстракты растений.

Хроматографический анализ позволил выявить новые ароматические компоненты (α-терпинеола, тимола, карвакрола), значительное увеличение содержания линалоола, которые обеспечивают в совокупности с другими летучими компонентами характерный букет нового вина, который дегустационная комиссия охарактеризовала как “ярко выраженный аромат трав с преобладанием оттенков полыни”.

Высокое качество полученного вина подтверждает такой показатель как энергопотенциал: в ароматизированном вине он был выше, чем в контроле, что позволяет прогнозировать больший лечебно-профилактический эффект. Антиоксидантная активность ароматизированного вина на 12% выше неароматизированного при минимальном внесении образца в реакционную среду, а антимикробная его активность – на 100%.

Таким образом, дана биохимическая, микробиологическая и энергетическая оценка исходному растительному сырью и полученным на его основе экстрактам для научно обоснованного целенаправленного создания композиции ингредиентов заданного ароматического направления, пищевой и биологической ценности.

SCENTED FRUIT-BERRY WINE WITH THE INCREASED BIOLOGICAL VALUE

Orechova S.V., Polonskaya A.K., Ejov V.N., Rabotyagov V.D.

Nikitsky Botanical Garden - National Center of Science

There is an extensive base for manufacture of fruit-berry wines, scented by tinctures of components from Crimean essence and medicinal plants, that have to enrich the structure of biologically active substances in these drinks, increase their medical-preventive importance. The scientific approach to creation of compositions of natural vegetative components for scentetion is actual; therefore the purpose of the given job was the study of biochemical bases of creation the composition. For realization of this purpose the following tasks were solved: the biochemical and technical characteristics perspective for food-processing industry of spicy-aromatic plants is given; the optimum modes of extraction of biologically active substances (BAS) are developed; the laws of transition of BAS in an extract are investigated; the component structure of essential oils of extracts; the structure of a composition of extracts for scentetion of fruit-berry wines is developed; the technology of reception of the aromatic composition is developed; the composition of vegetative components in scentetion of fruit-berry wines in an industry is tested.

The received composition and scented by it wine, on the data of ВЭЖХ, contains as the basic components derivative of a coffee acid specific flavons of wormwood and flavons of dyshica, which save the structure and the same biological activity, as initial extracts of plants.

Chromatographic analysis has allowed to reveal new aromatic components (α-terpineol, timola, karvakrola), substantial growth of the contents of linaloola, which provide in aggregate with other flying components a characteristic bouquet of new wine, which tester commission has characterized as " the brightly expressed aroma of grasses with prevalence of shades of wormwood ".

High quality of received wine confirms such parameter as energy potential: in scented wine it was higher, than in the control, that allows to predict the greater medical-preventive effect. Antioxidant activity of scented wine on 12 % is higher unscented wine at the minimal entering of a sample in reactionary environment, and its antimicrobe activity –on 100 %.

Thus, the biochemical, microbiological and power estimation to initial vegetative raw material and extracts, received on its basis, for the scientifically proved purposeful creation of the composition of components of the given aromatic direction, food and biological value, is given.

ДРОЖЖИ PICHIA GUILLIERMONDII - ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ИСТОЧНИК КОРМОВОГО ВИТАМИНА B_2

Стенчук Н.Н., Куцяба В.И., Федорович Д.В.

Институт биологии клетки НАН Украины
e-mail vasylkutsiaba@yahoo.com

Витамин В2 (рибофлавин, РФ) выполняет важные функции в организме животных. Его дефицит в кормах сказывается на приросте живой массы и продуктивности животных, выживании молодняка. Оптимальное содержание РФ в природных кормах снижает их затраты на единицу животноводческой продукции. Однако производство кормового РФ в Украине отсутствует. Зарубежное биотехнологическое производство РФ базируется на использовании мицелиальных грибов Eremothecium ashbyii и Ashbya gossypii, бактерии Bacillus subtilis, а также дрожжей Candida famata.

В Институте биологии клетки НАН Украины проведены фундаментальные исследования биосинтеза РФ, регуляции этого процесса на биохимическом и генетическом уровнях у дрожжей Pichia guilliermondii. Селекционированы мутанты, накапливающие большие количества РФ в культуре. Сверхсинтез витамина у них был вызван повреждением регуляторных генов флавиногенеза негативного типа действия RIB80 и RIB81. Путём объединения мутаций rib80, rib81, а также мутаций резистентности к аналогам пуринов 8-азагуанину и 4-аминопиразол[3,4-d]пиримидину селекционированы мутанты дрожжей P. guilliermondii, синтезирующие до 0,8 г РФ/л синтетической среды после 6-7 суток выращивания в колбах при 30^0С. Однако в средах, содержащих барду, мелассу и сусло (8:1:1 v/v/v), эти штаммы синтезировали значительно меньшие количества РФ. Один из них скрестили с мутантом генотипа rib80 rib81 и из полученного диплоида выделили мейотические сегреганты, способные на такой среде синтезировать до 0,7 г РФ/л. Очевидно, генотип этих сегрегантов оказался благоприятным для интенсивной экспрессии генов флавиногенеза и синтеза пуринов, как предшественников РФ, de novo, при выращивании их в среде, содержащей отходы пищевой промышленности.

Добавление препарата кормового РФ, полученного при помощи одного из селекционированных штаммов, к корму кур несушек породы Izabrown позитивно повлияло на средний вес яиц. Одна тонна стандартного корма на птичнике содержала 4 г РФ. Увеличение содержания РФ в корме до 8 г/т за счёт нашего препарата привело к возрастанию среднего веса яиц на 2,2 %, а процента отборных яиц – в 2 раза.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности выделенных нами высокофлавиногенных штаммов дрожжей P. guilliermondi для производства кормового витамина B_2 природного происхождения на отходах пищевой промышленности.

YEAST PICHIA GUIILLIERMONDII - PERSPECTIVE SOURCE OF FODDER VITAMIN B2

Stenchuk N.N., Kutsiaba V.I., Fedorovich D.V.

Institute of Cell Biology NAS of Ukraine
e-mail vasylkutsiaba@yahoo.com

Vitamin B2 (riboflavin, RF) play essential role in the metabolism of animal organisms. Its deficit in forages has an effect on the accretion of alive mass and productivity of animals, surviving of young animals. The optimum contents of RF in connatural forages reduces their costs per unit of cattle-breeding production. However, production of fodder RF in Ukraine is missed. Foreign biotechnological production of RF bases on using of fungi Eremothecium ashbyii and Ashbya gossypii, bacteria Bacillus subtilis, and yeast Candida famata.

The basic stydies of RF biosynthesis , regulation of this process on biochemical and genetical levels for yeast Pichia guilliermondii are conducted in Institute of Cell Biology NAS of Ukraine . The strains accumulating great amounts of RF in culture are selected. The overproduction of this vitamin by such strains was determined by damage of RIB80 and RIB81 regulatory genes of a negative type of action. The strains combining rib80, rib81 mutations and mutations of a resistance to purine analogues (8-azaguanine and 4-aminopyrazolo[3,4-d]pyrimidine) in the same genome were obtained. They produced up to 0,8 g of RF/L of synthetic medium when growing aerobically in flasks for 6-7 day at 30°C. However in the medium, containing distillary refuse, molasses and wort (8:1:1 v/v/v), these strains synthesized considerably smaller quantities of RF. One of them have crossed with double strain rib80 rib81 and meiotic segregants capable to synthesis of RF up to 0,7 g /L on such medium were isolated from the obtained diploid. Apparently, the genotype of such segregants was favourable for an intensive expression of RF biosynthesis genes and genes involved in the synthesis of purines de novo, as precursors of RF, at cultivation them in medium supplemented with waste of a food industry.

The addition of fodder RF obtained by one of the selected strains to a forage of Isabrown laying hens had positive effect on egg weights. One ton of a standard forage on poultry farm contained 4 g of RF. Increasing of the RFcontent in a forage up to 8 g per ton after adding our fodder RF has resulted in elevation of average egg weight to 2,2 %, and percent picked eggs -for 2 times.

The obtained results demonstrated that selected RF overproducing strains of P. guilliermondii are a perspective source of fodder vitamin B2 of a connatural parentage, which can be obtained using the waste of a food industry .

ВЛИЯНИЕ ГУМАТА КАЛИЯ НА ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН НЕКОТОРЫХ ДИКОРАСТУЩИХ ОРХИДНЫХ В УСЛОВИЯХ IN VITRO

Теплицкая Л.М., Бугара А.М., Попкова Л.Л.

Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского
e-mail: iio@ ccssu.crimea.ua

При разработке способов микроклонального массового размножения растений большое значение приобретает вопрос использования фитогормонов и биостимуляторов. Как указывают ряд исследователей, действие гумата направлено на активизацию ферментативных процессов растений, увеличение проницаемости клеточных мембран, стимуляцию дыхания, что способствует усилению ростовых процессов. Гумат повышает митотическую активность меристематических участков, стимулирует синтезДНК вядрах клеток. Особенно актуальнойпроблемой является применение биостимуляторов для выращивания трудно размножаемых редких и исчезающих растений в условиях in vitro. Поскольку все представители семейства Орхидных (Orchidaceae Juss) являются редкими растениями и занесены в Красную книгу Украины цель наших исследований состояла в оптимизации питательной среды Knudson C , рекомендуемой для проращивания семян орхидей, добавлением гумата калия.

Объектами исследований служили следующие виды крымских орхидных - Anacamptis pyramidalis (L.) Rich., Platanthera chlorantha (Cust) Reichenb., Orchis picta Loisel, O. mascula(L.)L. В качестве эксплантов использовались семена из нераскрывшихся коробочек. В исследованиях использовали три варианта

среды Knudson C , содержащей 0,05%, 0,1% и 0,2% гумат калия. В качестве контроля служила среда Knudson C без гумата.

Установлено, что добавление в питательную среду Knudson C 0,1% гумата калия оказывало существенный стимулирующий эффект на прорастание семян орхидей. Для всех исследованных видов количество проросших семян составляло 50-75%. При этом сокращался срок прорастания семян с 15 до 12 недель у видов Anacamptis pyramidalis, Platanthera chlorantha и с 28 до 20 недель у видов Orchis picta, O. mascula. Особенно важным являлось сокращение сроков прорастания долгопроращиваемых видов рода Orchis, когда количество проросших семян достигало 50% по сравнению с 10% в контроле. При добавлении 0,05% и 0,2% гумата калия в среду Knudson C количество прорастающих семян увеличивалось посравнению с контролем лишь на 5-7%, а сроки прорастания сокращались на 1-2 недели. Таким образом, экспериментально показано стимулирующее влияние гумата калия на прорастание семян некоторых орхидных в условиях in vitro при добавлении его в питательные среды. Обсуждается вопрос о физиололгическом эффекте гумата калия при массовом ускоренном размножении орхидей флоры Крыма.

INFLUENCE OF THE GUMATE POTASSIUM FOR GERMINATIONS OF SEEDS OF SOME WILD ORCHIDS IN VITRO

Teplitskaya L.M., Bugara A.M., L.L.Popkova

National Taurida V. Vernadsky University
e-mail: iio@ ccssu.crimea.ua

There are 47 spesies of familia Orchidaceae Juss growth in Crimea and all they are entered in the Red Data Book of Ukraine.

The objects for investigation were photosynthetic spesies of orchids – Anacamptis pyramidalis (L.) Rich., Dactylorhiza romana (Seb. et Mauri) Soo, Orchis picta L., O. mascula L. with rose colour of flowers and Ophrys taurica (Agg.) Nevski, O. oestrifera Bieb. with flowers remind insects. As explants were used parts of roots, flower buds and closed sleds ball with seeds.

The best medium are – the medium of Murasige-Skoog for roots and flower buds, and also the medium Knudson “C” supplemented with potassium gumate was optimal for seed germination of the all investigated spesies. In experiment, in 6-12 weeks after seeds sown for Anacamptis pyramidalis, Ophrys taurica, O. oestrifera and 15-28 weeks for Dactylorhiza romana, Orchis picta, O. mascula the germination reached 50-75% (5-10% in control – medium without potassium gumat).

МОЖЛИВОСТІ ГІДРОФІЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН ІЗ ЛЯЛЕЧОК ШОВКОПРЯДА У ТВАРИННИЦТВІ

Трокоз В.О.

Національний аграрний університет

Для забезпечення високого рівня продуктивності та резистентності сільськогосподарських тварин використовуються різноманітні методи. Одним із них є застосування біологічно активних речовин, цінним джерелом яких є лялечки шовкопряда, що за своїм складом не поступаються і багато в чому переважають аналогів. Згідно із запропонованим нами методом, із лялечок шовкопряда було одержано гідрофільний комплекс біологічно активних речовин у вигляді лікувального екстракту, який має оригінальний склад і цінні властивості. Дослідження довели, що такий комплекс можна віднести до класу адаптогенів. Він має високий рівень антитоксичної активності та, проявляючи профілактичний ефект, попереджує розвиток виразкової хвороби шлунка і полегшує наслідки гіпоксичних станів, що реалізується за рахунок підвищення резистентності організму й досить чітко відображається на життєдіяльності тварин.

Встановлено, що лікувальний екстракт із лялечок шовкопряда проявляє досить сильну позитивну дію на організм новонароджених телят і поросят. Це у першу чергу призводить до підвищення їх продуктивності. Наприклад, жива маса здорових телят, які одержували екстракт, у місячному віці була достовірно вищою, ніж у контрольних аналогів, на 9,6 %. Для піддослідних поросят таке перевищення

становило 15 %. Ця різниця пояснюється поліпшенням загального стану тварин та зменшенням рівня захворюваності на диспепсію, який у телят і поросят різних дослідних груп у проведених експериментах був досить високим і становив 20 - 100 %. Однак на 2 – 3-й день після застосування лікувального екстракту в піддослідних тварин диспепсичні явища зникали. У контрольних же тварин традиційні методи лікування розладів травлення результатів майже не давали. За рахунок зниження рівня захворюваності спостерігався кращий ріст і розвиток телят і поросят. Під впливом лікувального екстракту нормалізувався склад крові тварин, стабілізувався вміст еритроцитів, збільшувалася кількість гемоглобіну і спостерігалося деяке підвищення швидкості осідання еритроцитів (у межах фізіологічної норми). Обробка тварин екстрактом приводила до зниження вмісту лейкоцитів крові й підвищення в ній рівня загального білка порівняно з контрольними хворими телятами. Крім того, в результаті виздоровлення знижувалася до норми частота серцевих скорочень і дихання у піддослідних хворих тварин, що свідчить про позитивну загальну дію лікувального екстракту з лялечок шовкопряда. Його застосування відразу ж після народження давало можливість знизити рівень захворювань травної системи у поросят на 42 % та рівень смертності - на 25 %, що сприяло збільшенню живої маси й збереженню молодняку.

Таким чином застосування комплексу біологічно активних речовин із лялечок шовкопряда у вигляді лікувального екстракту, одержаного згідно зі способом, запатентованим в Україні (№ 16965), дає можливість відчутно підвищити продуктивність молодняку сільськогосподарських тварин (середньодобові та абсолютні прирости живої маси) за рахунок покращення імунологічних реакцій, нормалізації гематологічних показників без зміни клінічного статусу організму.

СПОСОБ ОЦЕНКИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ ИММУНОТРОПНОГО ДЕЙСТВИЯ

Ушкалов В.А.

Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины УААН

Одной из наиболее актуальных проблем биологии остается определение критериев оценки биологических эффектов, которые возникают в организме животных (и человека) при воздействии различных биологически активных веществ. Особую актуальность данная проблема приобрела в настоящее время, когда развитие биотехнологии переходит от направления научного поиска в отрасль народного хозяйства. Сейчас разработаны и активно внедряются в производство новые технологии получения биологически активных веществ при переработке сырья растительного и животного происхождения предназначенные для пищевых целей, а также для лечения и профилактики широкого спектра антропозоонозных заболеваний. В частности, в последние годы разработаны новые технологии получения биологически активных веществ иммунотропного действия, предназначенных для индукции состояния невосприимчивости к инфекционным заболеваниям. Эти технологии внедряются при изготовлении соответствующих препаратов нового поколения. В промышленном животноводстве в настоящее время широко применяют биологически активные вещества, и потребитель животноводческой продукции (мясо, молоко и т.п.) должен быть уверен в ее качестве.

В тоже время система оценки качества иммунизирующих препаратов, предназначенных для профилактики инфекционных болезней животных, не всегда позволяет получить адекватную характеристику препарата по ожидаемым параметрам. Такая ситуация приводит к тому, что в результате применения вакцин регистрируются случаи развития побочных реакций вплоть до гибели вакцинированных животных. Кроме того, известно, что применение некоторых вакцинных препаратов, например, в промышленном птицеводстве, обуславливает развитие у животных иммуносупрессивного синдрома. В ряде известных случаев введение вакцинных препаратов приводит к индукции различных по формам, локализации и интенсивности проявления аллергических реакций. Выше указанное подтверждает необходимость определения дополнительных критериев (которые можно было бы использовать наряду с существующими) оценки качества, в частности, безвредности, вакцин для животных.

Значение состояния прооксидантно-антиоксидантных процессов в поддержании функционально-структурного гомеостаза тканей и жидкостей организма животных, послужило отправным пунктом для разработки дополнительного метода оценки безвредности биопрепаратов направленного действия. По нашему мнению, вакцину можно считать безвредной в том случае (патент № 41113), когда введение препарата в рекомендованных дозах не приводит к накоплению в организме экспериментальных животных (телята, коровы, свиноматки, поросята,) токсических продуктов ПОЛ (диеновые конъюгатов, гидроперекиси липидов, малоновый диальдегид), а также не обуславливает снижение надежности

антиоксидантной защиты (антиокислительная активность липидов крови, активность глутатионзависимой ферментативной АОС, перекисная резистентность эритроцитов и др.). Использование дополнительного критерия для оценки безвредности вакцин, наряду с используемыми в настоящее время классическими тестами, позволит еще на этапах лабораторных испытаний прогнозировать возможные повреждающие эффекты данных препаратов. Кроме того, полученные результаты позволят определить целесообразность применения, научное обоснование и разработку так называемых «препаратов сопровождения» (витамины, антиоксиданты и др).

Таким образом, в экспериментах показана возможность решения одной из современных медико-биологических проблем прикладной биотехнологии, а именно – проблему оценки безвредности биопрепаратов.

WAY OF AN ESTIMATION OF BIOLOGICAL EFFECTS OF APPLICATION OF PREPARATIONS SPECIFIC PREVENTIVE MAINTENANCE OF ACTION

Ushkalov V.A

.

Institute of experimental and clinical veterinary medicine of UAAS

One of the most urgent problems of biology still has definition of criteria of an estimation of biological effects, which arise in of organisms of animals (and man) at influence of various biologically active substances. The special urgency the given problem has got now, when the development of biotechnology passes from a direction of scientific search in branch of a national economy. Are now developed and actively new technologies of reception of biologically active substances take root into manufacture at processing raw material of a vegetative and animal origin intended for the food purposes, and also for treatment and preventive maintenance of a wide spectrum of anthropozoonosis of diseases. In particular, last years the new technologies of reception of biologically active substances immunogenic of action intended for an induction of a condition to immunity to infectious diseases are developed. These technologies take root at manufacturing the appropriate preparations of new generation. In animal industry now widely apply biologically active substances, and the consumer of cattle-breeding production (meat, milk etc.) should be sure in its quality.

In too time the system of an estimation of quality for immunization of preparations intended for preventive maintenance of infectious illnesses of animals, not always allows to receive the adequate characteristic of a preparation on expected parameters. Such situation results that as a result of application of vaccines the cases of development of collateral reactions down to destruction which had been vaccinated of animals are registered. Besides it is known, that the application causes some for vaccination of preparations, for example, in industrial poultry farmeny, development at an animal syndrome of immunosupression. In a number(line) of known cases the introduction of preparations for vaccination results in an induction various under the forms, localization and intensity of display of allergic reactions. Above specified confirms necessity of definition of additional criteria (which it would be possible to use alongside with existing) estimations of quality, in particular, of harmlessness, vaccines for an animal.

The meaning of a condition prooxidation-antioxidation of processes in maintenance functional - structural of homeostasis of fabrics and liquids of organism of animals, has served as a basic point for development of an additional method of an estimation of harmlessness of biopreparations of the directed action. In our opinion, it is possible to consider(count) a vaccine harmless in that case (patent № 41113), when the introduction of a preparation in recommended dozes does not result in accumulation in of organism of experimental animals (calwes, cow, pigs,) of products the POL, and also does not cause decrease of reliability antioxidation of protection (antioxidizing activity липидов of blood, activity глутатионзависимой ферментативной АОС, перекисная резистентность эритроцитов etc.). Use of additional criterion for an estimation of harmlessness of vaccines, alongside with the now in use classical tests, will allow for stages of laboratory tests to predict possible damaging effects of the given preparations. Besides the received results will allow to determine expediency of application, scientific substantiation and development so-called " of preparations of support " (vitamins, et al.).

Thus, in experiments the opportunity of the decision of one of modern biological problems of applied biotechnology, namely - problem of an estimation of harmlessness of biopreparations is shown.

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ОХРАНА РЕСУРСОВ ЛЕКАРСТВЕННОГО СЫРЬЯ В УКРАИНЕ

Чопик В.И.

Киевский национальный университет им. Т. Шевченко
e-mail: vl_chopik@mail.univ.kiev.ua

Потенциальные возможности ресурсов лекарственного сырья, являющиеся источником биологически активных веществ, определяются потенциалом отдельных видов и состоянием экосистем. Процесс трансформации природной окружающей среды и, следовательно, уничтожения видов с каждым годом усиливается и приобретает необратимый характер. Сегодня принято считать, что потери биологических ресурсов во второй половине XX века стали настолько глубокими и масштабными, что их восстановление до уровня начала прошлого века потребует не менее миллиона лет. До конца XXI века могут прекратить свое существование от 25 до 50 % из существующих ныне видов растений и животных. Этот процесс можно сравнить по своим масштабам с до конца невыясненных природных явлений, произошедшими в конце третичного - начале мелового периода (65 млн лет), когда исчезли многие группы растений и все животные, чей вес превышал 5 кг.

Серьезные опасения вызывает сегодня состояние биологических ресурсов в Украине в контексте последствий аварии на Чернобыльской АЭС и других отрицательных проявлений технического прогресса. Можно прогнозировать, что через 40-50 лет зависимость Украины от ввоза продуктов растительного и животного происхождения для пищевых, лекарственных, и промышленных нужд окажется большей, чем зависимость от импорта нефти и газа.

В этой связи сохранение и рациональное использование биологических ресурсов является одной из важнейших и наиболее актуальных научных проблем современности.

С целью обеспечения исследований лекарственных препаратов и технологий правительства некоторых стран (например, Коста-Рики) и частные фирмы в США, Германии организовали Институт изучения биологического разнообразия (INBIO), занимающихся поиском полезных видов растений и животных и обеспечивающие этими образцами крупные фармацевтические компании. Например, только одна межнациональная компания «Мерк» тратит ежегодно до миллиона долларов за ознакомление с представленными образцами.

ПРОБЛЕМЫ КОМЕРЦИАЛИЗАЦИИ НАУЧНЫХ ПРОЕКТОВ

ПРОБЛЕМЫ КОММЕРЦИАЛИЗАЦИИ НОВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В МЕДИЦИНЕ

Егорова Тамара Петровна.

e-mail-cktd@mail.ru

Глобализация мировой экономики и скорость технологических изменений включает вопросы охраны интеллектуальной собственности (ИС) в повестку дня общеполитической жизни. Разные страны с различной историей и культурой создают похожие правовые системы для защиты ИС.

Новое законодательство во многих странах очень часто принимают под давлением международных общественных организаций и торговых партнеров, так как эта система играет все более важную роль в транснациональном продвижении инноваций.

В результате неуклонно растет признание ценности и понимание необходимости правового приобретения и использования ИС.

Современные тенденции в работе судов, в развитии законодательства и положении на рынке показывают рост значения ИС как коммерческих активов.

Наличие сильных патентов дает реальную возможность не только закрепить монопольные позиции на рынке, но и получать дополнительные доходы от конкурентов либо как судебную компенсацию за незаконное использование, либо за законное разрешение на основе лицензий использовать охраняемые технологии. (Так, например, в 1991 г. фирма Джонсон энд Джонсон выплатила компании 3 М 116 млн.долл за незаконное производство ленты, устраняющей трещины быстрее, чем пластырь).

При оценке коммерческой привлекательности новой технологии с точки зрения рынка основной упор следует делать на возможность (или желание) потребителя переключиться с существующего продукта на новый, т.е. попытаться понять, в какой мере заявляемые преимущества заставят потребителя покупать новый продукт и отказаться от привычного старого.

Проведение соответствующей оценки фокусируется на выявлении целесообразности и возможности осуществимости новой технологии (или продукта) в промышленном масштабе.

Такая оценка включает рассмотрение нескольких блоков вопросов, среди которых обязательными являются:

- определение емкости рынка

-основные конкуренты (их поставщики и потребители, заинтересованность в конкретном сегменте рынка, для которого предназначен новый продукт, стратегия новых разработок),

-преимущества для потребителей (конкурирующие продукты, характер и уровень нового продукта, возможная мотивация потребителей в приобретении нового продукта),

-защищенность нового продукта или технологии (оценивается легкость копирования, обеспечения правовой защиты и потенциальная «высота забора и ширина территории)

осуществимость идеи (стадия разработки, возможность масштабирования, сложность разрешительных процедур, степень зависимости от действующих экологических и медицинских норм, использование дефицитных компонентов, поставки которых могут быть заблокированы конкурентом).

Поскольку необходимым условием успеха коммерциализации является вхождение и устойчивое существование на рынке, исследование рынка приобретает первостепенное значение, при этом следует исходить из того, что выход нового продукта или нового производителя на рынок возможен только при выполнении хотя бы одного из трех условий:

-рынок не заполнен (спрос превышает предложение),

-рынок заметно расширяется,

-есть шанс вытеснить конкурента.

На основе ситуационного анализа рынка необходимо выработать тактику и стратегию защиты.

В области медицины и пищевых добавок, когда для вхождения в рынок от лидера, избравшего стратегию «первого на рынке», требуется огромное отвлечение ресурсов на апробацию и рекламу, «второй на рынке» имеет важное преимущество более низких издержек. Очень часть «второй» сознательно выбирает созвучное наименование торговой марки и таким образом пользуется установившейся репутацией лидера, при этом в наборе аргументации «второго», даже при худшем качестве, используется вполне правомерное намерение ограничить монополиста (читай «лидера»)

Примером может служить скрытое от посторонних глаз многолетнее единоборство фирм «Колтекс» и «Альтекс» (перевязочные средства длительного многофункционального действия), использовавших в начальной фазе общие авторские свидетельства СССР.

Поэтому для «Первого» очень важно позаботиться о комплексной защите своих прав и построить глубоко эшелонированную оборону, включающую весь арсенал средств, предоставляемых законодательством («китайская стена»)

Нормы гражданского законодательства Украины предполагают три основных типа процедур оформления прав на результаты интеллектуальной деятельности:

- режим авторско-правового регулирования,
- режим патентно-правового регулирования,
- режим коммерческой или служебной тайны (ноу-хау).

Права на конкретный результат интеллектуальной деятельности могут быть оформлены по выбору владельца по любому из этих режимов, если его нормы применимы к охраняемому результату.

Авторское право и патентное право предоставляют их владельцам исключительные права на результат интеллектуальной деятельности.

Их принципиальное различие в том, что авторское право защищает форму конкретного воплощения того или иного результат творческого труда, но не распространяется на содержание, а патентное право – защищает содержание и существо технической идеи независимо от формы воплощения.

Критерии охраны впервые введены в оборот «Основами гражданского законодательства СССР и республик» от 31.05.91 г. (ст.151) и ст.139 ГК РФ , в соответствии с которыми коммерческой тайной признается информация, имеющая действительную или потенциальную коммерческую значимость, неизвестная для неограниченного круга лиц и в отношении которой соблюдается режим конфиденциальности.

Выбирая этот режим охраны, следует помнить, что коммерческая или служебная тайна (ноу-хау) охраняет не саму информацию, а интересы ее владельцев.

Если, например, создатель коммерчески ценной информации вопреки решению организации о сохранении ее в тайне, опубликует статью, раскрывающую важные сведения, то требование возмещения убытков может быть предъявлено только к нему как к физическому лицу со всеми соответствующими ограничениями, а конкурент получит ее законным путем из открытого источника и сможет самостоятельно включать ее в хозяйственный оборот (в отличии от информации, охраняемой патентом или являющейся объектом авторского права, которая не может быть использована без согласия владельца)

Выбор конкретной формы охраны определяется тактикой и стратегией коммерциализации конкретной научно-технической разработки.

Тезисы докладов Международной научно-практической конференции «НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ»

Подготовлено к печати в Крымском научном центре Национальной академии наук Украины и Министерства образования и науки Украины
Дизайн и верстка Мартынюка Виктора Семеноича

ISBN ??????
Подписанов печать 15.04.2002 г. 20 печатных листов.
Тираж 200 экз.

Отпечатано в типографии издательства «Прирамида-Крым»

[i] *Ф. С. Бабичев, В. А. Ковтуненко, "Химия изоиндола", Киев, "Наукова думка", 1983, стр. 104-116.*
[ii] *F. S. Babichev, V. A. Kovtunenko, "Khimija isoindola", Kiev, "Naukova dumka", 1983, p.p. 104-116.*