

Н. А. АПОЯН, Ж. Б. САДЯН, В. Г. САРАФЯН, А. Н. САДАТИЕРОВ

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ТУБАЗИДА, ФТИВАЗИДА И АРМАЗИДА С РАЗЛИЧНЫМИ КОМПОНЕНТАМИ СЫВОРОТКИ КРОВИ

Известно, что производные группы гидразида изоникотиновой кислоты (ГИНК) в животном организме разрушаются различными ферментативными системами [2].

Однако в настоящее время все чаще появляются работы, указывающие на сорбирующую способность белков сыворотки крови лекарственных препаратов, которая, по-видимому, приводит их к полной или частичной инактивации [1, 3].

Исходя из этого, вначале нами изучалось взаимодействие различных разведений сыворотки крови с антибактериальными концентрациями тубазида, фтивазида и армазида на микобактерии. В опытах *in vitro* было взято 2 штамма микобактерий (*Myc. smegmatis*, *Myc. triburgensis*). 3-суточная культура микобактерий была взята в опыт в количестве 50 тыс. микробных тел в 1 мл питательной среды. Препараты растворялись в абсолютном спирте, а затем в питательной среде (2% глицериновый МПБ рН 7,2 и синтетическая среда Сотона рН 7,45). Человеческая сыворотка была разбавлена средой методом двукратного серийного разведения, начиная с 1:2 до 1:16384. Разбавленная сывороткой среда содержала бактериостатические концентрации изучаемых препаратов (20 γ /мл). Контролем к опытам служила разведенная среда без препаратов и содержащая соответствующие разведения спирта. Опыты зачитывались через 6 и 12 дней выдерживания в термостате при t 37°C. Результаты опытов приведены в табл. 1, по которой видно, что тубазид в 2% глицериновом МПБ действует бактериостатически в концентрации 5—2,5 γ /мл, а фтивазид и армазид—в концентрации 10—20 γ /мл.

В синтетической среде Сотона бактериостатические свойства препаратов усиливаются в 2—4 раза.

Введение в среду различных концентраций сыворотки, 1:16—1:8000, без добавления препаратов, не влияет на рост микобактерий. Разведение абсолютного спирта также не влияет на рост микобактерий. Сыворотка в разведении 1:16—1:128 инактивирует бактериостатическое действие тубазида, фтивазида и армазида.

В малых концентрациях она не оказывает никакого действия.

Сыворотка крови представляет сложную среду, в состав которой входят белки, липопротенды, полисахариды и т. д.

Белки сыворотки крови обладают сорбирующей способностью и, по-видимому, могут в той или иной степени инактивировать препараты. Для выяснения этого вопроса нами с помощью метода пересекающего электрофореза на бумаге [3, 4] исследовано взаимодействие тубазида, фтивазида и армазида с ними.

Поскольку фтивазид и армазид растворяются только в абсолютном спирте, был приготовлен спиртовой раствор этих препаратов, тубазид растворяли в воде. Готовили 0,5% растворы препаратов. В качестве контроля вместо препарата наносили абсолютный спирт. Наряду с тубазидом, фтивазидом и армазидом были взяты в качестве контроля известные препараты—антибиотики, дающие комплексы с белками сыворотки как *in vitro*, так и *in vivo*: стрептомицин, пенициллин и налещин. (Налещин—натриевая соль гемисукцината левомицетина—синтезированный в ИТОХ АН АрмССР О. Л. Мнджояном и Б. И. Штейман, является растворимой формой левомицетина [5]). Опыты ставились многократно. Пересекающий электрофорез проводили в вертикальной камере на хроматографической бумаге медленной фильтрации ленинградской фабрики им. Володарского (4×40 см) в веронал-мединаловом буфере рН 8,6 с ионной силой 0,5 μ .

Для исследования изменений, происходящих при пересекающем электрофорезе с белками сыворотки человека, последнюю наносили перпендикулярно направлению электрического поля, а раствор препаратов—параллельно ему. Бумажные полосы с предварительно начерченными линиями старта белков и препаратов смачивали буферным раствором. Количество наносимой сыворотки составляло 0,01 мл, а препаратов—0,03 или 0,05 мл 0,5% раствора.

Наилучшее разделение белков сыворотки мы получили при проведении электрофореза в течение 7 часов при градиенте потенциала 8 в/см и силе тока 0,1—0,3 ма на 1 см поперечного разреза бумажной полосы. По окончании электрофореза бумажные полосы высушивали при комнатной температуре и окрашивали электрофореграммы бромфенол-синим. Не связавшийся с белками краситель отмывали 2% раствором уксусной кислоты.

При проявлении контрольных электрофореграмм обнаружено четкое разделение белков сыворотки крови человека на 4—5 фракций: альбумины, α -, α' -, β -, γ -глобулины. Разгон этих фракций в среднем составлял 6—7 см. При рН 8,6 все эти белки в электрическом поле движутся по направлению к аноду, поскольку в этих условиях они обладают отрицательным зарядом.

Изучаемые противотуберкулезные препараты тубазид, фтивазид и армазид почти не обладали электрофоретической подвижностью. В связи с тем, что изучаемые препараты почти не передвигались в электрическом поле, их наносили на анодную сторону на расстоянии 0,3—0,5 см от центра, чтобы при разделении белков сыворотки все фракции пересекали его.

Как видно из рис. 1, при взаимодействии препаратов с белками сы-

воротки крови тубазид дает искажение и замедление электрофоретической подвижности альбуминовой, α - и β -глобулиновой фракций сыворотки, фтивазид и армазид не изменяют картину электрофоретического разделения и сходны с контролем. Увеличение концентрации препаратов с 0,03 до 0,05 мл заметной разницы не выявило.

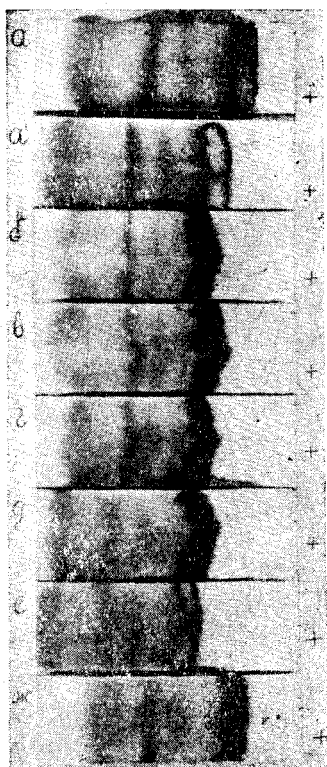


Рис. 1. Пересекающий электрофорез препаратов с сывороткой человека: а—сыворотка; а'—сыворотка + абсолютный спирт; б—сыворотка и пенициллин; в—сыворотка и стрептомицин; г—сыворотка и налечин; д—сыворотка и тубазид; е—сыворотка и фтивазид; ж—сыворотка и армазид.

При взаимодействии стрептомицина, пенициллина и налечина с белками сыворотки крови наблюдается искажение полос в области альбуминовой, α - и β -глобулиновой фракций, неизменной оставалась фракция γ -глобулина, что согласуется с данными, описанными Губерниевым и Силаевым [3]. Для более детального изучения взаимодействия препаратов с отдельными фракциями сыворотки нами были использованы 4,3% раствор кристаллического бычьего и человеческого альбумина. Условия эксперимента описаны выше. Результаты совпадают с данными, полученными при электрофорезе сыворотки крови. Как видно из рис. 2, под воздействием тубазида наблюдается резкое искажение полос бычьего и человеческого альбумина, а фтивазид и армазид не изменяют картину и сходны с контролем, где наносится только раствор альбумина или альбумин + абсолютный спирт. При наложении препаратов на линию старта сверх кристаллического бычьего или человеческого альбумина наблюдается замедление электрофоретической подвижности альбумина (рис. 3), как бычьего, так и человеческого.

Далее нами изучалось взаимодействие препаратов с одним из по-

лисахаридных компонентов сыворотки крови—гепарином, причем пересекающий электрофорез гепарина с изучаемыми препаратами осуществляли принципиально таким же образом, только в этом случае вместо сыворотки используя раствор гепарина в количестве 0,01 мл (ввиду от-

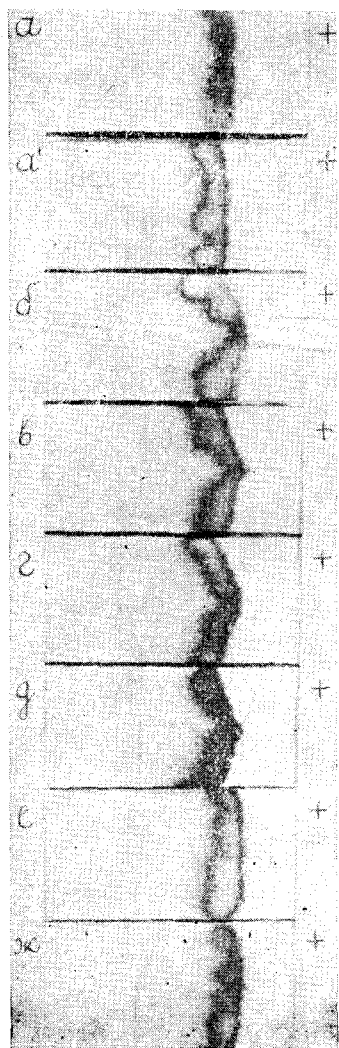


Рис. 2. Пересекающий электрофорез препаратов с бычьим альбумином: а—раствор альбумина; а'—раствор альбумина+абсолютный спирт; б—раствор альбумина и пенициллина; в—раствор альбумина и стрептомицина; г—раствор альбумина и налещина; д—раствор альбумина и тубазида; е—раствор альбумина и фтивазида; ж—раствор альбумина и армазида. Ясно выражена деформация полосы альбумина (б, в, г, д).

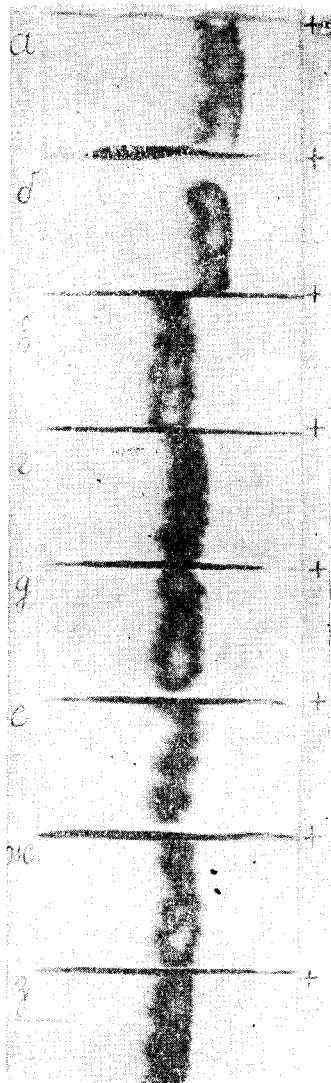


Рис. 3. Электрофоретическая подвижность альбумина в присутствии препаратов: а — раствор альбумина; б — раствор альбумина+абсолютный спирт; в — пенициллин; г — стрептомицин; д — налещин; е — тубазид; ж — фтивазид; з — армазид.

сутствия кристаллического гепарина, нами был использован гепарин фирмы «Гедеон Рихтер». Электрофорез проводили в течение 2 час. при напряжении 400 в (градиент потенциала 10 в/см). Электрофореграммы окрашивали толуидиновым синим.

Таблица 1

Бактериостатическая активность препаратов на рост микобактерий в питательной среде с сывороткой и без сыворотки

Штамм	Питательная среда	Бактериостатическая активность препарата, γ/мл			Разведение сыворотки, инактивирующее бактериостатическую активность препарата, 20 γ/мл		
		тубазид	фтивазид	армазид	тубазид	фтивазид	армазид
Myc. smegmatis	2% глицириновый МПБ	5—10	10—20	10—20	1:32	1:128	1:64
	Сотон	1,25	5	1,25	1:16	1:64	1:32
Myc. friburgensis	2% глицириновый МПБ	2,5	10	10	1:128	1:64	1:128
	Сотон	1,25	5	1,25	1:32	1:128	1:32

Изучение взаимодействия гепарина с изучаемыми препаратами выявило ускорение электрофоретической подвижности его по сравнению с контролем.

Ускорение электрофоретической подвижности гепарина, по-видимому, говорит о его взаимодействии с препаратами из группы производных ГИНК.

Исходя из изложенного, по-видимому, можно сделать вывод, что тубазид, фтивазид и армазид вступают во взаимодействие с отдельными компонентами сыворотки крови. Это положение требует дальнейшего более тщательного исследования.

Институт тонкой органической химии
АН АрмССР

Поступило 26.II 1969 г.

Ե. Հ. ԱՓՈՅԱՆ, Ժ. Բ. ՍԱՅԱԴՅԱՆ, Վ. Գ. ՍԱՌԱՅՅԱՆ, Ա. Ն. ՍԱԴԱՏԻԵՐՈՎ

ՏՈՒՐԱԶԻԴԻ, ՖՏԻՎԱԶԻԴԻ ԵՎ ԱՐՄԱԶԻԴԻ ՓՈԽԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱՐՅԱՆ
ՇԻՃՈՒԿԻ ՏԱՐԲԵՐ ԿՈՄՊՈՆԵՆՏՆԵՐԻ ՀԵՏ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուսումնասիրված է մարդկային արյան շիճուկի տարբեր նոսրացումների ազդեցությունը իզոնիկոտինաթթվի հիդրազիդների խմբի պրեպարատների հա-
փաբակտերիալ ակտիվության վրա (տուբազիդի, ֆտիվազիդի և արմազիդի ազ-

դեցությունը *Myc. smegmatis* և *Myc. friburgensis* վրա)՝ կրկնակի սերիական նոսրացումների մեթոդով:

Հաստատված է, որ շիճուկը 1:16—1:128 նոսրացումների դեպքում ինակտիվացնում է վերը նշված պրեպարատների հակաբակտերյալ ազդեցությունը:

Էլեկտրոֆորեզի հատելիտության մեթոդով թղթի վրա պարզվեց, որ ուսումնասիրվող պրեպարատները (տուբազիդ, ֆտիվազիդ, արմազիդ) դանդաղեցնում են ալբումինային ֆրակցիայի էլեկտրոֆորետիկ շարժողությունը, նվազեցից տուբազիդը ձևափոխում է արյան ինչպես ալբումինային, այնպես էլ գլոբուլինային ֆրակցիաները: Տուբազիդը, ֆտիվազիդը և արմազիդը դանդաղեցնում են հեպարինի էլեկտրոֆորետիկ շարժողությունը:

Ենելով վերը նշվածից, ըստ երևույթին, կարելի է եզրակացնել, որ ուսումնասիրվող պրեպարատները փոխազդեցության մեջ են մտնում արյան շիճուկի տարբեր կոմպոնենտների հետ և այն պահանջում է հետազա ավելի մանրազնին ուսումնասիրություն:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Блинов Н. О., Хохлов А. С. Антибиотики, т. XII, в. 3, 261, 1967.
2. Гребенник Л. И. Фармакология и токсикология, 6, 735, 1963.
3. Губерниев Л. М., Силаев А. Б. Биохимия, т. 28, 3, 1963.
4. Кивман Г. Я., Порфирьева Р. П., Косолапова А. В. Вопросы медицинской химии, т. XII, в. 6, 594, 1966.
5. Мнджоян А. Л., Тер-Захарян Ю. З. Изв. АН АрмССР, биол. науки, 15, 4, 13, 1962.