

Экспериментальная и профилактическая медицина

УДК 678.943+547.461.3+678.048

**Влияние литиевых солей различных производных
аргинина на перекисное окисление липидов в
гомогенатах головного мозга и печени в опытах *in vitro***

**К.Г. Карагезян, О.М. Амирханян, С.А. Казарян, С.С. Овакимян,
К.П. Григорян, В.Х. Мамиконян**

*Научно-технологический центр органической и фармацевтической
химии НАН РА
0014, Ереван, пр. Азатутян, 26*

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, малоновый
диальдегид, свободнорадикальное окисление,
антиокислительная активность

Кислородное голодание является одним из наиболее серьезных осложнений, часто сопровождающихся хроническими и острыми повреждениями головного мозга. Патогенетические основы гипоксии мозговой ткани отличаются достаточной сложностью, чем и определяется разнообразие существующих подходов, в том числе фармакологических, к лечению и предупреждению ее повреждающего действия на указанном уровне. При острых нарушениях мозгового кровообращения используют ряд терапевтических средств, способствующих улучшению снабжения мозга кислородом типа анти-коагулянтов, вазодилататоров, веществ, способных стимулировать выработку энергии (пирацетамы и др.) или снижать кислородные запросы мозговой ткани (барбитураты). Примечательна при этом группа препаратов, включающихся в метаболические процессы, направленные на сохранение энергетического обмена при гипоксии. В этом смысле особый интерес представляют как неорганические соли лития (хлорид, карбонат, бромид), так и органические (γ -аминобутират, γ -оксибутират, никотинат), способные угнетать потребление кислорода срезами и гомогенатами тканей, показанное в экспериментах на лабораторных животных [5], через нарушение процессов окислительного фосфорилирования [7], особенно под действием оксибутирата лития на

окислительный обмен. Независимо от интенсивности энергетических процессов, оксибутират лития угнетает потребление кислорода у разных видов животных, степень выраженности и длительности действия которого зависит от создаваемой концентрации иона лития и анионного компонента в крови и тканях животных [3]. Установлена также кумулятивная способность γ -оксимасляной кислоты в качестве аниона по сравнению с карбонатом и хлоридом лития в отношении лития, особенно в головном мозгу, где он усиливает транспорт и накопление лития. Показано также, что как острая, так и подострая токсичность оксибутирата лития уступает по степени своей выраженности таковым, развиваемым под действием его хлорида или карбоната [4,8]. Вышеизложенное служит основанием рекламировать отмеченные новые производные солей лития с особым акцентированием литиевых солей природных аминокислот, входящих в состав пептидов.

Для выяснения особенностей действия литиевых солей природных аминокислот на течение процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ) нами были отобраны четыре соединения, впервые синтезированные в Институте тонкой органической химии НАН РА в виде литиевых солей производных L-аргинина. Это трет-бутилоксикарбонил-L-аргинина, N^{ω} -тозил-бензилоксикарбонил-L-аргинина, $N^{\alpha}, N^{\omega}, N^{\omega}$ -трикарбобензоксид-L-аргинина и N^{α} -трет-бутилоксикарбонил-L-аргинина.

Материал и методы

Исследования проводились на 12 беспородных белых крысах-самцах, массой 200-220 г, содержащихся на обычном пищевом рационе. После декапитации изолированные головной мозг и печень промывали физраствором, очищали от кровеносных сосудов и гомогенизировали в трисHCl буфере (pH 7,4). Уровень липидных перекисей определяли в неферментативной (аскорбатзависимой) системе переокисления по выходу конечного продукта – малонового диальдегида (МДА), образующего с тиобарбитуровой кислотой комплексное соединение в виде розового хромогена, интенсивность окраски которого регистрировалась спектрофотометрически (при длине волны 535 нм) и соответствовала количеству образовавшейся перекиси [1,2]. Об антиокислительной активности (АОА) испытуемых соединений судили по процентным изменениям количества МДА в опытных пробах по

сравнению с контрольными из расчета на 1 г предварительно определенного количества белка [6].

Результаты и обсуждение

Как явствует из табл. 1, в гомогенатах головного мозга литиевые соли производных L-аргинина проявляют существенную АОА.

Таблица 1

Влияние литиевых солей производных L-аргинина в концентрации 0,01 М на содержание МДА (нм/мг белка) в мозгу белых крыс в опытах *in vitro*

Наименование соединений	Контроль (n=12)	Опыт (n=12)	% разницы от контроля
Трет-бутилоксикарбонил-L-аргинина	6,56±0,22	4,87±0,16	-25,8 P<0,01
N ^ω -тозил-бензилоксикарбонил-L-аргинина	-/-	4,93±0,18	-24,7 P<0,01
N ^α ,N ^ω ,N ^ω -трикарбобензоксид-L-аргинина	-/-	4,03±0,13	-38,5 P<0,001
N ^α -трет-бутилоксикарбонил-ω-нитро-L-аргинина	-/-	4,98±0,18	-24,1 P=0,01

Это особенно касается N^α,N^ω,N^ω-трикарбобензоксид-L-аргинина, под действием которого наблюдается активное ингибирование процесса СРО в виде снижения количества МДА на 38,5 % по сравнению с контролем. Остальные три соединения – трет-бутилоксикарбонил-L-аргинина, N^ω-тозил-бензилоксикарбонил-L-аргинина и N^α-трет-бутилоксикарбонил-L-нитроаргинина проявляют почти одинаковую АОО, уменьшая уровень МДА в пределах 24,1-25,8 %. Аналогичная закономерность прослеживается и в печеночной ткани с некоторым незначительным превалированием в ней ингибирования процесса СРО (табл. 2).

Известно, что степень воздействия на ту или иную функцию организма (развитие, эндокринные функции, активность ферментов в различных биологических системах) зависит от определенной концентрации ионов лития, в связи с чем представляло интерес проследить за изменением процесса СРО липидов при использовании малых доз (0,001М) литиевых солей производных аргинина. Об этом свидетельствуют данные, отраженные в табл. 3, показывающие на примере мозгового гомогената подавляющий эффект десятикратно сниженных концентраций (0,001М) испытанных литиевых солей производных L-аргинина на ПОЛ, хотя и в относительно меньшей степени. Примечательно, что при этом наибольшая степень АОО также прослеживается со стороны литиевой соли N^α,N^ω,N^ω-трикарбобензоксид-L-аргинина (снижение уровня МДА на 20,4%).

Таблица 2

Влияние литиевых солей производных L-аргинина в концентрации 0,01 М на содержание МДА (нм/мг белка) в печени белых крыс в опытах in vitro

Наименование соединений	Контроль (n=12)	Опыт (n=12)	% разницы от контроля
Трет-бутилоксикарбонил-L-аргинина	5,41±0,18	3,78±0,15	-30,2 P<0,001
N ^ω -тозил-бензилоксикарбонил-L-аргинина	-//-	4,01±0,16	-25,8 P<0,002
N ^α ,N ^ω ,N ^ω -трикарбобензоксид-L-аргинина	-//-	3,28±0,12	-39,3 P<0,001
N ^α -трет-бутилоксикарбонил-ω-нитро-L-аргинина	-//-	3,85±0,15	-28,9 P<0,001

Таблица 3

Влияние литиевых солей производных L-аргинина в концентрации 0,001 М на содержание МДА (нм/мг белка) в мозгу белых крыс в опытах in vitro

Наименование соединений	Контроль (n=12)	Опыт (n=12)	% разницы от контроля
Трет-бутилоксикарбонил-L-аргинина	6,67±0,20	5,41±0,14	-18,9 P<0,02
N ^ω -тозил-бензилоксикарбонил-L-аргинина	-//-	5,66±0,17	-15,1 P=0,02
N ^α ,N ^ω ,N ^ω -трикарбобензоксид-L-аргинина	-//-	5,31±0,13	-20,4 P<0,01
N ^α -трет-бутилоксикарбонил-ω-нитро-L-аргинина	-//-	5,76±0,18	-13,7 P=0,25

При сопоставлении данных, полученных на мозговом и печеночном гомогенатах, явствует неоднотипность действия малых доз испытанных соединений на процесс ПОЛ печеночной ткани, среди которых лишь N^α,N^ω,N^ω-трикарбобензоксид-L-аргинина проявляет достоверное снижение уровня МДА, в отличие от остальных, демонстрирующих некоторую тенденцию к угнетению процесса СРО (табл. 4).

Таким образом, основываясь на результатах собственных исследований, проведенных на мозговом и печеночном гомогенатах, можно заключить об АОА и способности подавлять ПОЛ литиевых солей производных L-аргинина в концентрации 0,01 М, при более активном их проявлении в печеночной ткани.

Таблица 4

Влияние литиевых солей производных L-аргинина в концентрации 0,001 М на содержание МДА (нм/мг белка) в печени белых крыс в опытах *in vitro*

Наименование соединений	Контроль (n=12)	Опыт (n=12)	% разницы от контроля
Трет-бутилоксикарбонил-L-аргинина	5,60±0,20	5,07±0,17	-9,4 P>0,5
N ^ω -тозил-бензилоксикарбонил-L-аргинина	-/-	5,04±0,16	-10,0 P>0,5
N ^α ,N ^ω ,N ^ω -трикарбобензокс-L-аргинина	-/-	4,49±0,12	-19,8 P<0,01
N ^α -трет-бутилоксикарбонил-ω-нитро-L-аргинина	-/-	5,28±0,18	-5,7 P>0,5

Малые дозы изученных соединений (0,001 М) проявляют свою активность главным образом в мозговой ткани. Среди литиевых солей производных аргинина выделяется N^α,N^ω,N^ω-трикарбобензокс-L-аргинина, который обладает статистически достоверной АОА в мозгу и печени при использовании его как в больших, так и малых дозах. Примечательно также, что процесс подавления ПОЛ зависит не только от концентрации ионов лития; важное значение при этом имеют также анионы в виде производных аргинина.

Поступила 31.08.11

Արգինինի տարբեր ածանցյալների լիթիումական աղերի ազդեցությունը գլխուղեղի և լյարդի հոմոգենատներում լիպիդների գերօքսիդացման վրա *in vitro* փորձերում

Կ.Գ. Ղարազյոզյան, Հ.Մ. Ամիրխանյան, Ս.Ա. Ղազարյան, Ս.Ս. Հովակիմյան, Կ. Պ. Գրիգորյան, Վ.Խ. Մամիկոնյան

Հետազոտությունը նվիրված է արգինինի տարբեր ածանցյալների լիթիումական աղերի դերի պարզաբանմանը սպիտակ առնետների ուղեղի և լյարդի հոմոգենատներում ընթացող լիպիդների ազատ ռադիկալային ռեակցիաների ակտիվության վրա *in vitro* փորձերում: Պարզվել է, որ վերոհիշյալ միացությունների 0,01 Մ խտության ազդեցության պայմաններում լիպիդների ազատ ռադիկալային ռեակցիաները զգալիորեն ճնշվում են: Տասնապատիկ նոսրացված (0,001 Մ) լուծույթներն ունեն նմանատիպ, սակայն համեմատաբար թույլ ազդեցություն: Արգինինի ածանցյալների լիթիումական աղերից հակաօքսիդանտային հատկությամբ հատկապես առանձնացվում է $N^{\alpha}, N^{\omega}, N^{\omega}$ -տրիկարբոքենզոքսի-L-արգինինը, որի 0,01 Մ և 0,001 Մ կոնցենտրացիայով լուծույթները ցուցաբերում են զգալի ակտիվություն:

Բացահայտվել է նաև, որ լիպիդների գերօքսիդացման գործընթացը ճնշելու գործում՝ բացի լիթիումի իոնների խտությունից, զգալի դեր ունեն նաև անիոնները՝ արգինինի ածանցյալային մնացորդները:

Influence of lithium salts of arginine different derivatives on lipid peroxidation in brain and liver homogenates *in vitro*

K.G. Gharagyozyan, H.M. Amirkhanyan, S.A. Ghazaryan, S.S. Hovakimyan, K.P. Grigoryan, V.Kh. Mamikonyan

The data obtained have shown an antioxidant activity of different derivatives of arginine lithium salts on the free radical peroxidation processes in brain and liver tissues of the experimental rats *in vitro*. It was demonstrated that 0,01 M concentration of substances studied have pronounced antioxidant activity. A similar effect was registered under the action of ten-fold lower doses of the compounds (0,001 M) used with the comparative low activity. Among the arginine lithium salts tested in our investigations $N^{\alpha}, N^{\omega}, N^{\omega}$ -tricarbobenzoxi-L-arginin is characterized by comparatively high level of antiradical processes both in 0,01 M, and 0,001 M concentrations. It was also shown that the suppression of lipid peroxidation processes depends not only on the concentration of lithium ions, but also of the anions – the derivatives of arginine residues.

Литература

1. *Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И., Козлов А.В.* Свободные радикалы в живых системах. Институт науки и техники ВИНТИ, 1991, т. 29, с. 126-130.

2. *Владимиров Ю.А., Арчаков А.И.* Перекисное окисление липидов в биологических мембранах., М., 1972.
3. *Иванова А.И., Бобков Ю.Г.* В кн.: Всесоюзный симпозиум "Коррекция острых невротических состояний с помощью оксипутирата лития". М., 1983, с. 25-27.
4. *Пилипенко Ю.А.* Роль анионного компонента в фармакокинетике и токсичности солей лития. Автореф. дис. канд. мед. наук., М., 1978.
5. *Самойлов Н.Н., Любимов Б.Н., Шолохов В.М.* Бюл. эксперим. биол. мед., 1980, 6, с.696-698.
6. *Lowry D.H., Razenbough N.J., Farr A.L., Rohdall R.J.* J. Biol. Chem., 1951, 193, p. 265-269.
7. *Sugawara I., Satofuka F.* Sci. papers univ. Tokyo, 1965, 15, p. 165-172.
8. *Zamoshchina T.A., Matvienko A. V., Alekseyeva L.P. Agarkova V.P., Saratkov A.S.* Path. Fiziол. Exp. Ter., 1993, 4, p.22-24.