

ДНК після опромінення лімфоцитів, що призводить до накопичення розривів двоспіральної ДНК, зростання нестійкості генома і до ініціації процесів апоптозу.

Тому метою даної роботи було визначення динаміки змін вмісту АТФ і аденінових компонентів у тимоцитах за умов розвитку апоптозу після їх рентгенівського опромінення в дозі 4,5 Гр.

Об'єкт і методи досліджень. Аденозин-5'-трифосфорної кислоти динатрієва сіль (АТФ) виробництва фірми Reanal (Угорщина). Тимоцити отримували м'яким продавлюванням через капронове сито тимусу молодих щурів вагою 120-150 г у буфері, що містив, ммоль/л: Na_2HPO_4 – 3, KCl , HEPES – 5, NaCl – 120, глюкоза – 10, NaHCO_3 , CaCl_2 , MgCl_2 – 1. Цей буфер використовували для інкубації і опромінення суспензії тимоцитів. Опромінення проводили однократно на установці РУМ-17 у дозі 4,5 Гр за умов: потужність дози – 0,4 Гр/хв, напруга – 200 кВ, сила струму – 10 мА, фокусна відстань – 50 см. Для кількісного аналізу суспензію тимоцитів центрифугували (1500 об/хв., 10–15 хв на центрифугі ОПН – ЗУ42), осад тимоцитів використовували для екстракції вільних компонентів аденінового ряду протягом 25–30 хв при температурі 0, +4 °С, шля-

хом розтирання в охолодженому розчині 0,8н HClO_4 . Одержані кислотні екстракти нейтралізували K_2CO_3 до значень рН 7,0 – 7,5 і після центрифугування за вищевказаних умов відбирали верхню фазу, визначали її об'єм і певні аліквоти використовували для ТШХ на модифікованих силікагелевих пластинах Silufol UV-254. Розділення та кількісне визначення аденіннуклеотидів на силуфолі проводили за методом описаним у роботі [4].

Результати та їх обговорення. Експериментально встановлено, що клітини, в яких рівень АТФ становила менше 50% від контрольних значень, гинули за варіантом некрозу, а при більш високих значеннях макроергу спостерігався розвиток апоптичної загибелі [6]. Для пояснення цієї залежності запропоновані "АТФ-сенсори", які пов'язують з протеїніназою із надзвичайно низькою спорідненістю до АТФ і (або) гіперактивацією АМР – протеїнінази (АМРК) [5], проте їх роль в індукції апоптозу не встановлена. На нашу думку, слід враховувати і можливість контролю активності ключових ферментів амфіболічних шляхів (цикл трикарбонових кислот, гліколіз, глюконеогенез, гексозомонофосфатний шлях) аденіновими нуклеотидами за принципом аденілатного контролю Аткінсона (енергетичного заряду).

Таблиця. Відсоток АТФ та суми (Σ) аденінових компонентів від контрольних значень тимоцитів в процесі розвитку апоптозу

Час після Х-опромінення (год)	ТШХ – аналіз		СФ – аналіз
	АТФ	Σ А к-нентів	Σ А к-нентів
1	70	71	73
2,5	72	65	65

В наших дослідженнях (Таблиця) методом хроматографічного аналізу встановлено зниження рівня АТФ на 30% та суми аденінових компонентів тимоцитів, що підтверджено спектрофотометричним аналізом на 35% відносно контрольних значень, протягом 2,5 годин після рентгенівського опромінення суспензії тимоцитів в дозі 4,5 Гр.

Висновки. Виявлені через 1 та 2,5 години після рентгенівського опромінення суспензії тимоцитів в дозі 4,5Гр зниження рівня АТФ на фоні зменшення суми аденінових компонентів дозволяють зробити висновок про можливість "спрацювання" як "АТФ – сенсорів", так і

аденілатного енергетичного заряду (контролю Аткінсона) для індукції апоптозу.

1. Бра М., Квинан Б., Сузин С. А. // Биохимия. – 2005. – Т. 70. – Вып. 2. – С. 284–293.
2. Дмитренко Н. П. Пуриновый обмен и его регуляция в лимфоцитах. – К., 1991.
3. Кучеренко М.Е. (загальна редакція) Радіаційно – індукована структурно – метаболічна модифікація еритроцитів та лімфоїдних клітин. – К. 2006.
4. Майданюк А.В., Імедадзе С.П. // Вісн. Київ. ун-ту. Біологія. – 2004. – Вип. 42–43. – С. 12–13.
5. Черняк Б.В., Плетюшкіна О.Ю., Изюмов Д.С., и др. // Биохимия. – 2005. – Т. 70. – Вып. 2. – С. 294–301.

Надійшла до редколегії 20.01.08.

УДК 576.3

О. Маслова, студ.,
К. Лапшина, студ.,
Н. Скрипник, канд. біол. наук, доц.,
М. Держинський, д-р біол. наук, проф.

ОСНОВНІ МЕХАНІЗМИ ТА ХІМІКО-БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ВИНИКНЕННЯ ОКИСНИХ ПОШКОДЖЕНЬ ДНК ТА БІЛКІВ

Проаналізовано сучасні положення теорії окисного стресу, особливості дії агентів, що спричиняють окисний стрес та наслідки окисних пошкоджень білків та ДНК.

Contemporary assertions of the oxygen stress theory, peculiarities in the action of agents, which cause the oxidative stress and consequences of the oxidative damage of proteins and DNA are analyzed.

Вступ. Окисний стрес є важливим чинником у житті організму та кожної його клітини окремо. Всі клітини постійно піддаються фізіологічному окисному стресу, віддаючи данину еволюції, і постійно долають його наслідки [1]. Виникнення окисного стресу спричинюється дисбалансом між утворенням активного кисню та можливістю біологічної системи швидко детоксикувати окисник або усувати пошкодження.

Сильний окисний вплив спричинює пошкодження практично всіх клітинних компонентів, накопичення мутацій у генетичному апараті та порушень у білковому

складі клітин, що у свою чергу проявляється у зміні морфо-фізіологічного статусу клітин. В свою чергу метаболічні порушення призводять до збільшення окисних пошкоджень, і як наслідок – до розвитку патології [2]. При надзвичайно високих рівнях окисного стресу відбувається некроз клітин, зумовлений вичерпанням АТФ [3, 4].

Крім того, особливості руйнівної активності окисного стресу лягли в основу найпопулярнішої сьогодені вільнорадикальної теорії старіння (теорія оксидативного стресу), що пов'язує процеси старіння організму як і з запро-

грамованими подіями, так і з накопиченням помилок у генетичному апараті.

Однак, активні форми кисню крім пошкоджувального ефекту мають суттєвий позитивний вплив на морфологію клітин: вони використовуються клітинами для боротьби з чужорідними агентами (клітини імунної системи) або передачі міжклітинних сигналів [5], є необхід-

ними медіаторами контролю клітинного росту (АР-1, кВ) та синтезу білків теплового шоку.

Агенти, що спричиняють окиснення. Найпоширенішими окисниками є активні форми кисню (АФК) та продукти перекисного окиснення ліпідів. До групи АФК відносять вільні радикали та пероксиди (табл.1).

Таблиця 1. Характеристика агентів, що спричиняють окиснення

Окисник	Характеристика
•O ₂ ⁻ , супероксид аніон	Одноелектронвідновлена форма кисню, що утворюється у багатьох автоокисних реакціях та електронтранспортним ланцюгом. Не дуже реакційно здатний, проте може звільняти Fe ²⁺ з залізо-сірчаних кластерів білків. Підпадаючи дисмутації спонтанно або ензиматично перетворюється у H ₂ O ₂ . Є попередником метал-каталізованого утворення •ОН-радикалу.
H ₂ O ₂ , перекис водню	Двоелектрон відновлена форма, утворена шляхом дисмутації •O ₂ ⁻ або прямим окисненням O ₂ . Ліпідорозчинний, а отже здатний проникати крізь мембрану.
•ОН, гідроксильний радикал	Три електронвідновлений стан, утворений у Фентонівських реакціях та шляхом перебудови пероксинітриту. Дуже активний. Атакує більшість клітинних компонентів.
ROOH, органічні гідропероксиди	Утворені за участі вільних радикалів з таких клітинних компонентів, як ліпіди та азотисті основи.
RO•, алкоксил та ROO•, пероксид радикали	Формуються у присутності кисню, додаванням радикалу до подвійного зв'язку або відриванням водню.
OOONO-, пероксинітрит	Утворюється під час реакції між •O ₂ ⁻ та NO•. Ліпідорозчинний. Протонована форма може підпадати розщеплення, формуючи гідроксильний радикал та диоксид нітрогену.

АФК утворюються в результаті не повного відновлення кисню до води у електрон-транспортному ланцюзі мітохондрій.

Супероксид аніон формується в результаті одноелектронного відновлення кисню, підпадаючи дисмутації, він довільно або ензиматичним шляхом утворює перекис водню. Супероксид аніон є попередником метал-каталізованого утворення гідроксильного радикалу. Формується він у мітохондріях (у присутності НАДН), ксантинооксидазою, цитохромом Р450, НАДН-дегідрогеназою та іншими шляхами [6, 7].

Перекис водню формується шляхом дисмутації супероксид аніону або прямого відновлення кисню у мітохондріях, а також гліюксалат оксидазою мікротілець. Він є ліпідорозчинним і здатен дифундувати через мембрану клітин [6, 7].

Гідроксильний радикал формується у Фентонівських реакціях (рис.1.) та шляхом перебудови пероксинітриту. Дуже активний. Утворює ковалентно зв'язані білкові агрегати. Білки, денатуровані гідроксильним радикалом швидше розпізнаються та знешкоджуються клітинними протеолітичними системами. Гідроксильний радикал призводить до втрати білками триптофанових залишків та формування бітирозину [6, 7].



Рис. 1. Приклад Фентонівської реакції

Пероксинітрит формується у реакції супероксид аніону та нітросо радикалу. Ліпідорозчинний [6,7].

Продукти перекисного окиснення ліпідів: *малондіальдегід* та *гідроксиноненал*, є небезпечними тим, що здатні утворювати міжмолекулярні зшивки з білками, які при цьому повністю втрачають свою функціональну активність. Вони діють через високомолекулярні білкові агрегати, що здатні інгібувати активність протеолітичних ферментів, або самостійно ковалентно приєднуються до протеолітичних ензимів, що спричиняє той самий ефект. Окрім того продукти перекисного окиснення ліпідів здатні необмежено поширювати окиснення ліпідним бішаром, руйнуючи структуру мембран і призводячи до клітинної загибелі [8].

Крім того окисниками можуть бути *хінони* та *метали зі змінною валентністю*. Такі метали вступають у Фентонівські реакції (рис.1.) та реакції Габера-Вейса

(рис. 2.). Ці метали походять з металовмісних білків. Такий тип окиснення називають метал-каталізованим [2].

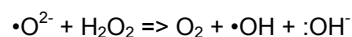


Рис. 2. Реакція Габера-Вейса

Метали ініціюють перекисне окиснення ліпідів та утворюють з фенілаланіну мета- та ортотирозин. Хінони здатні віддавати та приймати електрони від різних субстратів, відновлюючи та окислюючи їх.

Джерелами АФК можуть бути електрон-транспортний ланцюг мітохондрій, ксантин оксидаза, НАДН-оксидаза, цитохром Р450 та багато інших метаболічних циклів.

Ксантин оксидаза каталізує окиснення гіпоксантину у ксантин і подальше окиснення ксантину до сечової кислоти (рис.3.). При цьому виділяється перекис водню.

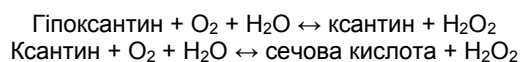


Рис. 3. Окиснення гіпоксантину до сечової кислоти

Цитохром Р450 є мембрано асоційованим ензимом. Він метаболізує численні субстрати і відіграє важливу роль у розкладанні токсинів, синтезі та утилізації гормонів, метаболізмі вітаміну Д, але при цьому може виділяти АФК [2].

Електрон-транспортний ланцюг мітохондрій при переносі чотирьох електронів на кисень може формувати неповністю відновлені сполуки: супероксид аніон, перекис водню та гідроксильний радикал [8].

Наслідки окисних пошкоджень білків. Окиснення білків спричиняє суттєві зміни метаболізму та цитоархітекτονіки клітин. У результаті дії окисників порушуються структура та властивості білків. Наслідками таких порушень може бути, перш за все сайт-специфічна модифікація амінокислот. Прикладами такої модифікації можуть бути: відривання водню від SH-груп цистеїнів та формування дисульфідних зв'язків, утворення похідних метионінсульфоксиду за рахунок взаємодії активного кисню з метіоніном, взаємодія супероксид радикалу з залізо-сірчаними центрами ензимів і, як наслідок, необоротна втрата їх функцій, утворення міжмолекулярних зшивок між треонінами і формування біти-

розину з агрегованих залишків триптофану [9, 10], утворення карбонільних груп на таких амінокислотах, як лізин, гістидин, пролін, аргінін та серин [11], а також утворення бічних ланцюгів на валіні та лейцині [12], гідроксильовання фенілаланіну, тирозину та триптофану. Крім того спостерігається фрагментація пептидного ланцюга, що викликається розривом пептидного зв'язку і спричиняється здебільшого взаємодією з гідроксильним радикалом. При цьому новоутворені пептидні деривати не виконують ніяких функцій і підлягають утилізації. Також можлива агрегація продуктів, що утворили міжмолекулярні зшивки під дією продуктів перекисного окиснення ліпідів, яка спричинює утворення великих білкових комплексів, що не лише складно піддаються деградації, а й здатні інгібувати ферменти, котрі забезпечують утилізацію пошкоджених білків. Зміна заряду білку призводить до порушення розподілу білкових молекул у цитозолі та зміни заряду всієї клітини. Одним з наслідків може бути підвищення чутливості до протеолізу, що необхідне для знищення пошкодженого білку і набувається при взаємодії з гідроксильним радикалом або сумішшю $\bullet\text{O}_2$ та $\bullet\text{OH}$ [11]. Також наслідком окисного пошкодження білку є утворення Шифових основ – продуктів реакції амінокислот з карбонільними залишками, молекули яких дуже нестійкі і не виконують функцій своїх попередників [2].

Наслідки окисних пошкоджень ДНК. Пошкодження ДНК з'являються у результаті ряду хімічних реакцій: окисно-відновних реакцій, алкілювання, гідролізу. У клітині перманентно присутній певний рівень пошкоджень ДНК. За нормальних умов такі пошкодження – рівноважний стан. Вважається, що показником патологічного стану клітини є не наявність певного виду пошкодження, а його кількість, що перевищує норму на порядки [13–18].

Найбільшою групою пошкоджень є окисативні пошкодження ДНК. Ці пошкодження утворюються у великій кількості під час окисативного стресу. Окисативні пошкодження ДНК виникають під впливом вільних радикалів та інших активних форм кисню [13–19].

ОН-радикали реагують з дезоксирибозою з утворенням різних похідних (еритрози, 2-деокси-тетродіальдози та інших) та розривів ланцюга, а з усіма типами азотистих основ з утворенням сотень проміжних продуктів [14].

За причини нестійкості більшості з утворених проміжних продуктів, лише для деяких з них вдалось визначити біохімічні особливості [13, 17].

Основну частину пошкоджень, спричинених ОН-радикалом, вивчали в умовах *in vitro* та *in vivo* з використанням гамма-опромінення. Гідроксил радикал здатен відривати Н атом з метильної групи тиміну та від кожного з С-Н зв'язків у 2'-дезоксирибозі. Приєднання до подвійних зв'язків у основах характеризується константою швидкості від 3 до $10 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, а відрив атома водню – $2 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ [13]. Чутливим до ОН-радикалу є С4-С5 зв'язок у піримідині та атоми С4, С5, С8 у пурині. Атака гідроксил-радикалу спричиняє різні модифікації піримідинових основ: утворення 5-ОНdU, 5-ОНdC, урацилгліколю, тимінгліколю та інших сполук [13–19].

Тимінгліколь є досить поширеним ушкодженням, він блокує реплікацію і є потенційно летальним для клітини. Взаємодія ОН-радикалу з пуринами теж призводить до змін – утворюються формамідопіримідини (Fapy), 8-ОНdG (основний маркер окисативного стресу *in vitro* та *in vivo*), 8-ОНdA та інші. Формамідопіримідини – це пурини з відкритим імідазольним кільцем: 2,6-діаміно-4-гідрокси-5N-метил-формамідопіримідин (Fapy-G) та 4,6-діаміно-5-формамідопіримідин (Fapy-A) [13]. Ці модифікації здатні блокувати роботу полімераз [16]. Утворення 8-гідроксидеоксигуанозину (8-ОНdG) або майже

еквівалентного йому 8-охо-7,8-дигідрогуаніну (8-охоG) є найпоширенішим результатом окисативних пошкоджень (дані від 7500 до 200 000 модифікацій у клітині на добу). Ці форми легко перетворюються одна в одну, тому прийнято називати такий тип пошкоджень 8-оксогуаніном. 8-охоG є мутагенною модифікацією – він спричинює G:C T:A трансверсії – у процесі реплікації він здатен утворювати стабільну пару з аденіном.

Крім того 8-охоG у складі нуклеозидтрифосфату вбудовується в ДНК навпроти аденіну ДНК-матриці, викликаючи A:T C:G трансверсії. Проте, 8-охоG не спричиняє блокування реплікації та транскрипції і не впливає на клітинний цикл [15]. Кількісний аналіз 8-охоG найчастіше проводиться для визначення рівня окисативного стресу. Це пов'язано з високою вмістом цієї модифікації у клітинах та наявністю великої кількості відносно об'єктивних методик [13–18]. Для ефективного проведення кількісного аналізу на сьогодні створена ціла низка комерційних наборів [11, 16, 20, 21].

Науковий інтерес викликають також так звані аддукти азотистих основ з ОН-радикалом – група сполук, що мають окисно-відновну амбівалентність та здатні вступати у складні реакції. Наприклад, у випадку аденіну формується як мінімум два типи аддуктів – C4-ОН та C8-ОН. Відомі також пуринові C5-ОН аддукти [13].

Гліколи та гідрати цитозину цікаві тим, що частіше ніж нормальний цитозин підлягають відриву аміногруп, таким чином спричинюючи трансверсії [13, 22].

Деякі модифіковані основи самі стають вільними радикалами та призводять до ланцюгових реакцій. Наприклад, C5-ОН-6-пероксил та C6-ОН-5-пероксил радикали цитозину пов'язані з утворенням 4-аміно-5-гідрокси-2,6(1H,5H)-піримідиндіону та 4-аміно-6-гідрокси-2,5(1H,6H)-піримідиндіону [13, 15, 17].

При взаємодії ДНК з озоном, синглетним киснем та іншими АФК також утворюється ряд похідних азотистих основ [15, 16].

Ще одним типом пошкоджень, індукованих вільними радикалами (особливо – гідроксильним радикалом і малондіальдегідом) та радіацією, вважаються перехресні взаємодії нуклеїнових кислот і білків. Одними з поширених прикладів є тимін-тирозинові та тимін-лізинові взаємодії. Тимін також здатен взаємодіяти з гліцином, аланіном, валіном, лейцином, ізолейцином та треоніном. З тирозином інколи взаємодіє цитозин [13, 14].

Відсутність чітких кількісних, а інколи і якісних результатів дослідження пошкоджень ДНК викликає необхідність детального вивчення цієї проблеми. Важливим є підбір адекватної методики дослідження з урахуванням форми пошкодження та типу досліджуваних клітин. Деякі модифікації поки що недостатньо вивчені у зв'язку з їхніми біохімічними особливостями, деякі – у зв'язку з невеликою кількістю у клітинах [13–19]. Слід враховувати також той факт, що, як показує практика, результати, отримані при дослідженнях ізольованої ДНК та генетичного матеріалу інтактних клітин можуть суттєво відрізнятися. Окрім того, ті пошкодження які визначаються у клітинах є, насправді, рівноважним станом пошкоджень.

1. Valko M, Morris H, Cronin M. Metals, toxicity and oxidative stress // *Curr Med Chem.* – 2005. – №12. – P. 1161–1369.
2. Dean R. T, Fu S, Stocker R, Davies M. J. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation // *Biochem. J.* – 1997. – №324. – P. 1–18.
3. Lee Y, Shacter E. Oxidative stress inhibits apoptosis in human lymphoma cells // *J Biol Chem.* – 1999. – № 274. – P. 19792–19800.
4. Nathan C, Shiloh M. Reactive oxygen and nitrogen intermediates in the relationship between mammalian hosts and microbial pathogens // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 1997. – P. 8841–8849.
5. Rice-Evans C, Gopinathan V. Oxygen toxicity, free radicals and antioxidants in human disease: biochemical implications in atherosclerosis and the problems of premature neonates // *Essays Biochem.* – №29. – P. 39–63.
6. Sies H. Oxidative stress: introductory remarks // *London: Academic Press Inc.* – 1985. – №5. – P. 1–7.
7. Bulteau A.L,

Lundberg K.C., Humphries K.M., et al. Oxidative modification and inactivation of the proteasome during coronary occlusion/reperfusion // The Journal of Biological Chemistry. – 2001. – №32. – P. 30057–30063. 8. Gardner P.R., Fridovich I. Superoxide sensitivity of Escherichia coli 6-phosphogluconate dehydratase // J. Biol. Chem. – 1991. – №266. – P. 1478–1483. 9. Davies K.J.A. Protein damage and degradation by oxygen radicals. I General aspects // J. Biol. Chem. – 1987. – №162. – P. 9895–9901. 10. Stadtman E.R. Oxidation of proteins by mixed-function oxidation systems: implication in protein turnover, aging and neutrophil function // Trends Biochem. Sci. – 1986. – №11. – P. 11–12. 11. Grune T., Merker K., Sandig G., Devise K. J. Selective degradation of oxidatively modified protein substrates by the proteasome // Biochem Biophys Res Commun. – 2003. – №305. – P. 709–718. 12. Carrad G., Dieu M., Toussaint R.O., Friguet B. Impact of ageing on proteasome structure and function in human lymphocytes // IJBCB. – 2003. – №3. – P. 728–739. 13. Cooke M. S., Evans M. D., Dizdaroglu M., Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease // The FASEB Journal. – 2003. – Vol.17. – P. 1195–1214. 14. Dizdaroglu M. Chemical determination of free radical-induced damage to DNA // Free radical biology

and medicine. – 1991. – Vol.10. – P. 225–242. 15. Epe B. DNA damage profiles induced by oxidizing agents // The FASEB Journal. – 1997. – Vol.2. – P. 222–240. 16. Epe B., Hegler J. Oxidative DNA damage: endonuclease fingerprinting // Nucleic Acids Res. – 1999. – Vol.3. – P. 458–469. 17. Cadet J., Berger M., Douki T., Ravanat J. L. Oxidative damage to DNA: formation, measurement, and biological significance // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2002. – Vol.86. – P. 8764–8797. 18. Wiseman H., Halliwell B. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer // Biochem. J. – 1996. – Vol.1. – P. 313–314. 19. Beckman K.B., Ames B.N. Oxidative Decay of DNA // Journal of Biological Chemistry. – 1997. – Vol. 272. – № 32. – P. 19633–19636. 20. Halliwell B. Why and how should we measure oxidative DNA damage in nutritional studies? How far can we come? // Am J Clin Nutr. – 2000. – Vol.72. – P. 1082–1087. 21. Hamilton M.L., Van Remmen H., Drake J.A., et al. Does oxidative damage to DNA increase with age? // PNAS. – 2001. – Vol.98. – №18. – P. 10469–10474. 22. Lindahl T. Instability and decay of the primary structure of DNA // Nature. – 1993. – Vol.362. – P. 709–715.

Надійшла до редколегії 27.12.07

УДК 615.9

І. Бєлінська, канд. біол. наук,
Т. Рибальченко, канд. біол. наук,
В. Кокотей, д-р хім. наук,
О. Нестерова, канд. хім. наук

ПАРАМЕТРИ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ХЛОРИДНОГО КОМПЛЕКСУ CU/ZN З ЕТИЛЕНДІАМІНОМ ПРИ ОДНОРАЗОВОМУ ВВЕДЕННІ PER OS

Встановлено, що параметри гострої токсичності хлоридного комплексу Cu/Zn з етилендіаміном при введенні per os становлять: доза 1000 мг/кг є летальною для щурів; доза 250 мг/кг – максимально переносима доза, при якій жодна з тварин не загинула; LD₅₀, доза, при якій загинуло 50% дослідних тварин, становить 831 мг/кг.

Toxicological parameters after per os single dose injection of chloride complex Cu/Zn with ethylenediamine [Cu(en)₂ZnCl₄]-dmsol have been studied. The dose 1000 mg per kg is lethal for rats, the dose 250 mg per kg is maximal non lethal dose, LD₅₀ (lethal dose for 50% of animals) is 831 mg per kg.

Метою доклінічних токсикологічних досліджень фармакологічної речовини є встановлення характеру і вираженості її пошкоджуючої дії на організм експериментальних тварин та оцінка її безпеки. Гостра токсичність – це шкідлива дія речовини, яка проявляється після однократного застосування або повторного введення через короткі інтервали (не більше 6 годин) протягом доби. Визначення токсичних властивостей хімічних сполук як потенційних терапевтичних засобів, є важливим та відповідальним етапом доклінічних досліджень, так як від цього залежить вибір лікувальних доз, режиму лікування, стратегії та ефективності терапії [2].

В попередніх дослідженнях встановлено, що гетерополіядерні комплекси Cu/Co з діетаноламіном проявляють мембранотропну активність, взаємодіють з природними і штучними моношаровими та бішаровими мембранами, змінюють активність мембранозв'язаних ферментів гепатоцитів, проявляють гальмівну дію на об'ємну швидкість секреції жовчі печінкою [7, 8]. Гетерополіядерні комплекси Cu/Zn з етилендіаміном проявляють антифібровірусні, антимікробні і фунгіцидні властивості [9, 10], що обумовлює їх вивчення для розробки антибіотиків і протівірусних препаратів.

Найбільш зручним та нетравматичним способом використання лікувальних засобів як для пацієнтів, так і для лікарів, є їх введення per os, що дає змогу проводити лікування амбулаторно. Тому метою даного дослідження було визначення показників гострої токсичності хлоридного комплексу Cu/Zn з етилендіаміном (PO39) при введенні per os.

Об'єкт та методи досліджень. Комплекс [Cu(en)₂ZnCl₄]-dmsol (en – етилендіамін, dmsol – диметилсульфоксид) (PO39) був синтезований в лабораторії "Біологічно активні речовини" хімічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шев-

ченка за методикою [6]. Досліди проведені на білих безпородних щурах-самцях з розплідника віварію біологічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Тварин утримували на стандартному раціоні віварію при нормальному світловому дні. Досліджували діапазон доз, абсолютна величина яких за логарифмічною шкалою відрізнялась з інтервалом 0,1, за методикою Прозоровського [5]. Комплекс Cu/Zn розчиняли у дистильованій воді і вводили зондом через рот. За тваринами спостерігали протягом 10 діб при дослідженні низьких доз, а при дозах 631 мг/кг і 831 мг/кг – 14 діб. Відмічали вживання води і їжі тваринами, активність, зовнішній вигляд, особливості поведінки.

Результати досліджень та їх обговорення. Комплекс Cu/Zn при введенні per os добре переносився тваринами. Після введення досліджуваної речовини спостерігається незначне зниження активності тварин, примруження очей, зменшення поглинання їжі, що зникало через одну-дві доби, після введення. Загибель тварин відбувалась протягом першої доби після введення. Тварини, які залишалися жити, з часом виглядали без зовнішніх ознак токсичної дії досліджуваної речовини.

Як видно з таблиці 1, доза 1000 мг/кг є летальною для всіх тварин при введенні per os. Доза 250 мг/кг – максимально переносимою, при якій жодна з тварин не загинула. LD₅₀, яку визначали на підставі табличних даних при співставленні результатів "через дві дози на третю" за методикою Прозоровського [5], становила 831±338 мг/кг. Проведені додаткові дослідження з метою уточнення LD₅₀, в яких 6 щурам була введена доза 831 мг/кг, показали, що із 6 щурів три загинуло протягом першої доби після введення. Три щури залишалися жити протягом 14 діб без ознак токсичного впливу речовини. Таким чином, LD₅₀ гетерополіядерного комплексу Cu/Zn з етилендіаміном становить 831 мг/кг.