



УДК 597.551.2-131+591.121+547.655.6

ШВИДКІСТЬ ПОГЛИНАННЯ КИСНЮ ЗАРОДКІВ В'ЮНА ЗА УМОВ ВПЛИВУ АМІНОКИСЛОТНИХ ПОХІДНИХ НАФТОХІНОНУ

Генега А.Б.,²Яремкевич О.С., Мандзинець С.М., Бура М.В.,¹Остапів Д.Д., Санагурський Д.І.*Львівський національний університет імені Івана Франка*¹*Інститут біології тварин УААН*²*Національний університет «Львівська політехніка»**e-mail: anastasiyah2@gmail.com*

Надійшла до редакції 28.12.2009

Новосинтезовані низькотоксичні сполуки мають високу протигіпоксичну, протиішемичну та протисудомну дію, можуть використовуватись у фармацевтичній промисловості для створення нових лікарських препаратів з церебропротекторною дією. Мета роботи полягала у з'ясуванні впливу амінокислотних похідних 1,4-нафтохінону, а саме глутаміну, тирозину, аспарагіну, аланіну, лейцину на швидкість поглинання кисню зародками в'юна (10^5 мкг/мл) упродовж ембріогенезу. Отже, швидкість поглинання кисню зародками в'юна за дії амінокислотних похідних нафтохінону глутаміну та аспарагіну достовірно збільшується на 1 год, 3,5 год і 5,5 год розвитку в'юна.

Ключові слова: нафтохінон, глутамін, аспарагін, швидкість поглинання кисню, зародки в'юна

ВСТУП

На даний час актуальним питанням є дослідження синтезу нових біологічно активних сполук з подальшим пошуком лікарських препаратів, та розробка новітніх технологій їх одержання. Такі біологічно активні речовини, як амінокислоти виконують найважливіші функції для підтримки процесів гомеостазу в організмах тварин та людини, а декотрі з них використовуються в якості антиоксидантних лікарських препаратів. Це пояснюється їхньою здатністю брати участь в азотистому обміні, в синтезі необхідних для нормальної життєздатності організму білків, ферментів, гормонів, тощо. Синтетичні *N*-похідні 1,4-нафтохінону мають перспективи практичного використання в медицині та фармакології, оскільки володіють низькою токсичністю, проявляють активність в реакціях, як з пероксидними, так і з алкільними радикалами, гальмують окиснення при надлишковому й низькому тиску кисню, частково захищають ліпіди при гіпоксії й при небезпеці виникнення інфаркту [1, 7]. Природні хінони та їх похідні показали свою перспективність також як інгібітори пероксидного окислення ліпідів при гіпоксичному стані [7].

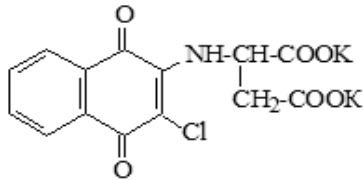
Відомо, що інтенсивні зміни окисних процесів спостерігаються при заплідненні яйцеклітин різних тварин, які супроводжуються фазовими коливаннями швидкості поглинання кисню [1, 11]. У процесі розвитку спостерігається поступове наростання

інтенсивності дихання, яке обумовлене етапами ембріогенезу і посиленням енергетичного обміну. Деякі автори [1, 6] відмічають, що під час кожного мітотичного поділу бластомерів спостерігається коливання інтенсивності споживання кисню, тобто дихання посилюється на стадії інтерфази, досягає максимуму на стадії профазі, а пригнічення дихання відбувається на стадії телофази. Крім цього виявлено тісний взаємозв'язок між електрохімічними властивостями мембран та окремими етапами мітозів на ембріонах різних тварин: по тривалості період коливання величини трансмембранного потенціалу (ТМП) співпадає з тривалістю мітотичного циклу синхронних дроблень бластомерів зародків [2, 3, 4].

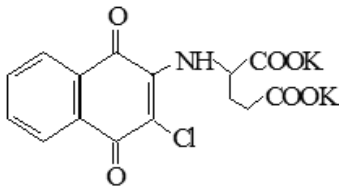
Одержані в університеті «Львівська політехніка» нові низькотоксичні сполуки мають високу протигіпоксичну, протиішемичну та протисудомну дію, можуть використовуватись у фармацевтичній промисловості для створення нових лікарських препаратів з церебропротекторною дією [7]. Тому детальне дослідження впливу амінокислотних похідних нафтохінону на зародкові клітини прісноводної риби в'юна в період раннього ембріогенезу є актуальним та перспективним, і дасть можливість поглибленого розуміння механізмів біологічної дії цих речовин, покращення їх лікувальних властивостей, а це вагоме значення для фармакології і медицини.

Зародки в'юна є адекватною тест-системою для дослідження впливу різних фармакологічних та

хімічних чинників на живі організми в період раннього ембріогенезу [10], тому мета роботи полягала у з'ясуванні впливу амінокислотних похідних 1,4-нафтохінону (калієвих солей 2-амінокислот-3-хлор-1,4-нафтохінону), а саме глутаміну [Glu] та аспарагіну [Asp] (рис. 1) на швидкість поглинання кисню зародками в'юна (у концентрації 0,071 мкг/мл) упродовж ембріогенезу.



Калієва сіль 2-аспарагін-3-хлор-1,4-нафтохінону



Калієва сіль 2-глутамін-3-хлор-1,4-нафтохінону

Рис. 1. Структурні формули калієвих солей 2-амінокислот-3-хлор-1,4-нафтохінону.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження проводили на зародках в'юна (*Misgurnus fossilis* L.) через 1,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,5 год після запліднення яйцеклітин під час стадій, які відповідають першому дробленню зиготи (2 бластомери), четвертому (16 бластомерів), п'ятому (32 бластомери), шостому (64 бластомери), сьомому (128 бластомерів), восьмому (256 бластомерів) та десятому (1024 бластомерів). Овуляцію стимулювали внутрішньом'язовим введенням самкам хоріогонічного гонадотропіну (500 од). Ікру одержували через 36 год після стимуляції та запліднювали в чашках Петрі суспензією спермійв за Нейфахом [8, 9]. Сім'яники одержували після декапітації та розтину черевної зиготи відмивали й інкубували у фізіологічному розчині Гольфрета при температурі 20-22°C. стадії розвитку контролювали візуально під бінокулярним мікроскопом МБС-9. Зародки в'юна інкубували в досліджуваних розчинах калієвої солі глутаміну та аспарагіну відповідно, контроль інкубували в фізіологічному розчині Гольфрета при температурі 22°C. Для визначення швидкості поглинання кисню використовували установку, зібрану на основі полярографа.

Достовірність змін встановлювали за t-критерієм Стьюдента [5].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У ході проведених досліджень встановлено, що швидкість поглинання кисню (ШПК) зародками в'юна

характеризується періодичними змінами і залежить від стадії розвитку.

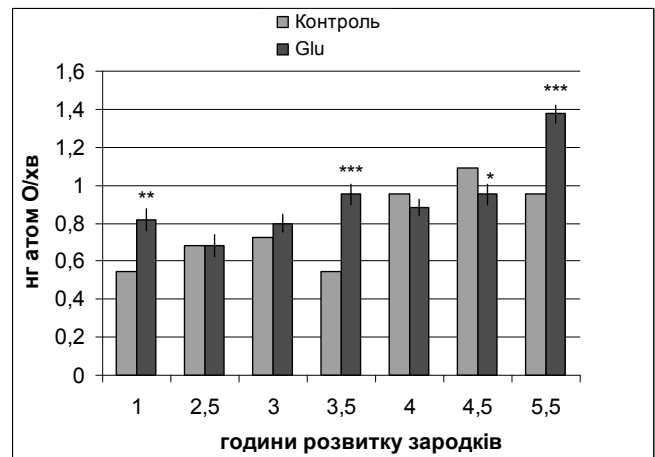


Рис. 2. Швидкість поглинання кисню зародків в'юна при дії калієвої солі 1,4-нафтохіноніл-глутамату упродовж синхронних поділів еластомерів.

Тут і надалі вірогідні зміни порівняно із контролем: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

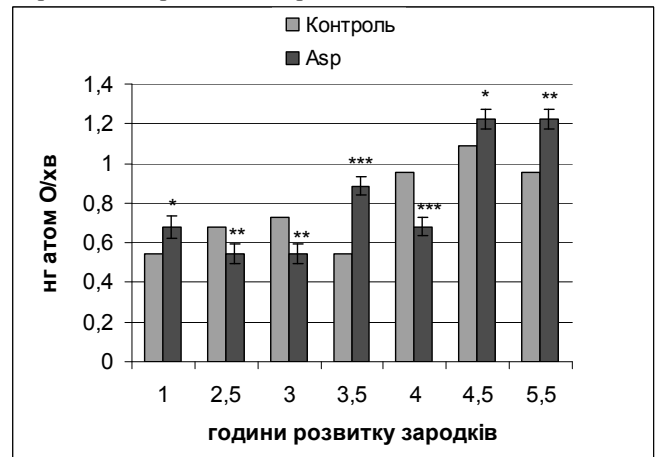


Рис. 3. Швидкість поглинання кисню зародків в'юна при дії калієвої солі 1,4-нафтохіноніл-аспарагіну упродовж синхронних поділів бластомерів.

Після запліднення (1 год розвитку) ШПК досить висока, становить 0,59 нг атом О/хв (див. рис. 2). На наступних двох стадіях поділів бластомерів (16 та 32 бластомери) виявлено поступове незначне зростання ШПК від 0,65 до 0,70 нг атом О/хв, і на стадії 64 бластомерів знижується достовірно до рівня 0,58 нг атом О/хв. Після сьомого поділу відмічена тенденція зростання використання кисню зародками до 1 нг атом О/хв. Це, ймовірно, пов'язано з енергетичними потребами зародка на стадії ранньої бластули. На стадії 9 поділу бластомерів ШПК стрімко зростає до рівня 1,11 нг атом О/хв, однак на останній стадії синхронних бластомерів виявлено достовірне зниження використання зародками кисню до значень 0,91 нг атом О/хв. У кінці періоду синхронних поділів бластомерів (6-7 години розвитку) активуються макромолекулярні синтези, особливо масивний синтез нових мРНК [3], що вимагає значних енерговитрат і приводить до

перерозподілу клітинних макроергів, з чим, імовірно, й пов'язана відмінність ШПК на цьому етапі розвитку у порівнянні із першими поділами бластомерів [3].

Слід зазначити, що подібний ефект підвищення ШПК спостерігається і при дії адреналіну упродовж синхронних поділів бластомерів [3]. Упродовж трьох годин розвитку після запліднення абсолютні величини ШПК зменшуються порівняно з контролем. Після 3,5 год розвитку, як і у випадку дії калієвої солі 1,4-нафтохіноніл-глутамату спостерігається фаза достовірного збільшення ШПК (стадія 64 бластомерів) до 0,97 нг атом О/хв у порівнянні з контролем.

Упродовж наступної стадії поділу бластомерів виявлено зміни ШПК за умов наявності в середовищі інкубації калієвої солі 1,4-нафтохіноніл-аспарагіну у порівнянні з контролем, які мали коливний характер. Через 4,5 год розвитку (10 поділ) після запліднення спостерігаємо стрімке зростання ШПК до 1,21 нг атом О/хв ШПК порівняно з контролем. Слід відмітити, що надалі на стадії 10 поділу за дії аспарагінового похідного нафтохінону зміни ШПК були недостовірними, оскільки значення цього показника залишалися однаковими.

У результаті проведених досліджень встановлено, що ШПК зародків в'юнів при інкубації за присутності розчинів похідних амінокислот в середовищі інкубації зберігають тенденцію ШПК подібну до тієї, яка спостерігається в контролі. Тобто ШПК зародками в'юна характеризується періодичними змінами і залежить від стадії розвитку. Проте, показники ШПК є дещо вищі ніж у контролі, що свідчить про збільшення інтенсивності поглинання кисню за дії похідних амінокислот нафтохінону глутаміну та аспарагіну. Це, ймовірно, пов'язано з тим, що амінокислотні похідні нафтохінону можуть впливати на різні ланцюги метаболізму і таким чином впливати на значення ШПК.

ВИСНОВКИ

Отже, встановлено залежність швидкості поглинання кисню зародками в'юна від стадії розвитку, яка характеризується періодичними змінами.

При інкубації зародків в'юна в середовищі при додаванні амінокислової похідної 1,4-нафтохінону, а

саме глутаміну, швидкість поглинання кисню достовірно збільшується на стадії 2, 64 бластомерів та на стадії 10 поділу.

Швидкість поглинання кисню зародками в'юна за дії амінокислової похідної 1,4-нафтохінону аспарагіну на стадії 2, 64 бластомерів, 8 і 10 поділах достовірно збільшується.

Робота виконана за підтримки Державного Фонду Фундаментальних Досліджень (№25.5/075).

Література

1. Абдеррахім Е.І., Журахівська Л.Р., Марінцова Н.Г., Плотніков М.Ю., Здирко Б.В., Мусянович Р.Я., Новіков В.П. Синтез нових амінопохідних 1,4-нафтохінону // Вісн. НУ „Львівська політехніка”. – 2001. – № 426. – С.111-114.
2. Генега А. Електричні характеристики мембран зародків риб за дії хімічних чинників // Вісн. Львів. Ун-ту. Сер. Біол. – 2009. – Вип.49. – С.13-22.
3. Гойда Е.А., Санагурський Д. И., Стельмах Н.С. Скорость потребления кислорода и трансмембранный потенциал при измерении темпа дробления бластомеров у вьюна // 6-е Всесоюз. совещ. эмбриологов.: Тез. докл. М.: Наука, 1981. – С. 37.
4. Гойда Е.А. Биофизические аспекты раннего онтогенеза животных. – К.: Наук. Думка. – 1993. – 223 с.
5. Деркач М. П., Гумецький Р. Я., Чабан М. Е. Курс варіаційної статистики. – К.: Вища шк. – 1977. – 208 с.
6. Дорфман В.А. Физико-химические основы оплодотворения. – М.: Изд-во АН СССР, 1963. – 256 с.
7. Журахівська Л.Р., Комаровська О.З., Новіков В.П., Марінцова Н.Г. Синтез, гостра токсичність, протиішемічна активність нових амінокислотних похідних 1,4-нафтохінону // Фармацевтичний журнал. – Київ. – 2005. – №3. – С.67-73.
8. Нейфах А. А., Тимофеева М.Я. Проблемы регуляции в молекулярной биологии развития. – М.: Наука. – 1978. – 336 с.
9. Нейфах А. Е. Молекулярная биология процессов развития. – М.: Наука. 1977. – 311 с.
10. Объекты биологии развития // Подред. Б.А. Астаурова. – М.: Наука. 1975. – 579 с.
11. Сушко Б.С. Особенности транспорта кислорода через оболочку ооцита: Автореф. Дис.канд. биол. наук. – Киев, 1976. – 24с.
12. Хороший П., Стефанків Ю., Санагурський Д. Окиснення сукцината та α -кетоглутарату в мітохондріях зародків в'юна (*Misgurnus fossilis* L.) на ранніх стадіях розвитку // Вісн. Львів. Ун-ту. Сер. Біол. – 2002. Вип. 28. С. 62-69.

СКОРОСТЬ ПОТРЕБЛЕНИЯ КИСЛОРОДА ЗАРОДЫШАХ ВЬЮНА В УСЛОВИЯХ ВЛИЯНИЯ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ НАФТОХИНОНОВ**Генега А.Б., Яремкевич О.С., Мандзинец С.М., Бура М.В., Остапів Д.Д., Санагурський Д.І.**

Полученные новые низкотоксичные соединения обладают высоким противогипоксическим, противоишемическим и противосудорожным действием, могут использоваться в фармацевтической промышленности для создания новых лекарственных препаратов с церебропротекторным действием. Цель работы заключалась в выяснении влияния аминокислотных производных 1,4-нафтохинона, а именно глутамина, тирозина, аспарагина, аланина и лейцина на скорость потребления кислорода зародышами вьюна (в концентрации 10-5 мкг/мл) в течение раннего эмбриогенеза. Следовательно, скорость поглощения кислорода зародышами вьюна при действии аминокислотных производных нафтохинона (глутамина и аспарагина) достоверно увеличивается на 1 ч, 3,5 ч и 5, 5 ч развития вьюна.

Ключевые слова: скорость поглощения кислорода, нафтохинон, **ВЬЮН, ГЛУТАМИН, АСПАРАГИН****THE RATE OF OXYGEN ABSORPTION BY LOACH EMBRYO UNDER NAPHTHOQUINONE AMINO ACID DERIVATIVES****Heneha A., Jaremkevych O., Mandzynets S., Bura M., Ostapiv D., Sanagurski D.**

The obtained new compounds with high antihypoxic, anti-ischemic anticonvulsive action are low toxic. It's can used in the pharmaceutical industry to create new drugs with cerebral treated action. The aim of our work was clarifying the impact of amino acid derivatives of 1,4-naphthoquinone (glutamine, tyrosine, asparagine, alanine, leucine) on rate of oxygen absorption of embryos loach (10.5 µg/ml) during embryogenesis. Thus, the effect of amino acid derivatives naphthoquinone asparagine and glutamine on rate of oxygen absorption in loach embryo significantly increased on 1 h, 3.5 h and 5, 5 h development of loach embryos.

Key words: rate of oxygen absorption, naphthoquinone, loach, glutamine, asparagine
