

ЭФФЕКТ ВОЗДЕЙСТВИЯ 1,5-БИС(3,5-ДИМЕТИЛПИРАЗОЛ-1-ИЛ)-3-ОКСАПЕНТАН-ДИАЦЕТАТОМЕДИ НА ОБЩЕЕ СОСТОЯНИЕ ОРГАНИЗМА КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА

Нофаль А.Е., Овчаренко Н.Д.

Алтайский государственный университет, Барнаул, Россия

Email: ovcharenko-55@mail.ru

Многие производные пиразола проявляют разнообразные фармакологические свойства. Им характерны антиоксидантная, антивирусная активность, противовоспалительные, иммуномодулирующие свойства, а также антидепрессивный и противоопухолевый эффекты. Данная работа основана на результатах морфометрических показателей массы тела и печени и биохимического анализа крови здоровых взрослых самцов белых крыс после однократного и многократного внутривнутрибрюшинного введения 1,5-бис(3,5-диметилпиразол-1-ил)-3-оксапентан-диацетатомеди, растворенного в свежеприготовленном физиологическом растворе (доза 12 мг / кг массы тела). Результаты исследования показали, что при введении препарата в организм крыс проявляются различные эффекты. Установлено, что исследуемое вещество имеет гипогликемический эффект, о чем свидетельствует снижение уровня глюкозы в крови и увеличение количества гликогена в печени. Антилипидный его эффект подтверждается снижением уровня свободных жирных кислот в крови. Токсическое воздействие препарата проявляется повышением уровня печеночных ферментов аланин аминотрансферазы и аспартат аминотрансферазы, а также снижением уровня альбумина в сыворотке крови и уменьшением массы тела и печени. Эти эффекты проявляются и сохраняются только при многократном ежедневном применении этого препарата в течение 6 недель.

Ключевые слова: эффект, гипогликемический, антилипидный, токсический, глюкоза, гликоген, свободные жирные кислоты, альбумин, печеночные ферменты.

EFFECT OF 1,5-BIS(3,5-DIMETHYLPYRAZOL-1-YL)-3-OXAPENTANE DIACETATOCOPPER ON THE RATS

Nofal A.E., Ovcharenko N.D.

Altai State University, Barnaul, Russian Federation

Email: ovcharenko-55@mail.ru

A lot of pyrazole derivatives exhibit various pharmacological properties and are characterized by an antioxidant, antiviral activity, anti-inflammatory, immunomodulating properties, as well as antidepressive and anti-tumor effect. This work is based on the results of morphometric parameters of the body and liver weight as well as biochemical analysis of blood of healthy adult male albino rats following a single and multiple intraperitoneal administration of 1,5-Bis(3,5-dimethylpyrazol-1-yl)-3-oxapentane diacetatocopper dissolved in a freshly prepared physiological saline solution (dose 12 mg / kg body weight). The results of research showed that, the administration of drug to rats exhibit various effects. It is established that the research substance has hypoglycemic effect evidenced by decreasing glucose level in the blood and increasing the amount of glycogen in the liver. It has also, antilipolytic effect which is confirmed by decreasing free fatty acids levels in the blood. Moreover, it's toxic effect is manifested by rising levels of liver enzymes alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase as well as reducing albumin levels in the blood serum and the decrease in the body and liver weight. These effects are saved only after repeated daily administration of the drug for 6 weeks.

Keywords: effect, hypoglycemic, antilipolytic, toxic, glucose, glycogen, free fatty acids, albumin, liver enzymes.

Следует цитировать / Citation:

Нофаль А.Е., Овчаренко Н.Д. эффект воздействия 1,5-бис(3,5-диметилпиразол-1-ил)-3-оксапентан-диацетатомеди на общее состояние организма крыс в условиях эксперимента. *Acta Biologica Sibirica*, 2 (2), 46–52.

Nofal A.E., Ovcharenko N.D. (2016). Effect of 1,5-bis(3,5-dimethylpyrazol-1-yl)-3-oxapentane diacetatocopper on the rats. *Acta Biologica Sibirica*, 2 (2), 46–52.

Поступило в редакцию / Submitted: 18.04.2016

Принято к публикации / Accepted: 29.05.2016

crossref <http://dx.doi.org/10.14258/abs.v2i2.1344>

© Нофаль, Овчаренко, 2016

Users are permitted to copy, use, distribute, transmit, and display the work publicly and to make and distribute derivative works, in any digital medium for any responsible purpose, subject to proper attribution of authorship.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 3.0 License

ВВЕДЕНИЕ

1,5-бис(3,5-диметилпиразол-1-ил)-3-оксапентан-диацетатомеди ($C_{18}H_{28}N_4O_5-Cu$) синтезирован в Алтайском государственном техническом университете им. И.И. Ползунова (Potapov *et al.*, 2007).

Известно, что экзогенные химические вещества, попадающие в организм, вызывают не только стрессовые реакции (Bend *et al.*, 1985; DeVito *et al.*, 1995), но и токсичные, которые приводят к поражениям многих внутренних органов и изменениям в крови (Spencer *et al.*, 1985; Krishna, 1989).

Многие производные пиразола проявляют разнообразные фармакологические свойства (Kalinkina, 2001). Так, в частности им свойственна антиоксидантная и антивирусная активность, антидепрессивный эффект, противовоспалительные и иммуномодулирующие свойства, действие на иммунный ответ на вирусный антиген, а также противоопухолевый эффект путем ингибирования ферментов, которые играют важную роль в делении клеток (Meletova, 2007).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа основана на результатах морфометрических показателей массы тела и печени и биохимического анализа крови здоровых взрослых самцов белых крыс весом равным $130 \pm 5,0$ г после однократного и многократного (ежедневно в течение 6 недель) внутрибрюшинного введения 1,5-бис(3,5-диметилпиразол-1-ил)-3-оксапентан-диацетатомеди, растворенного в свежеприготовленном физиологическом растворе (доза 12 мг/кг массы тела).

Морфометрические исследования (массы тела и печени)

В начале эксперимента были зарегистрированы начальные массы тела и печени животных, которые непрерывно регистрировались через 2, 4 и 6 недель у контрольных и опытных животных в течение эксперимента.

Биохимические исследования :

Образцы крови отбирались через 30 мин., 1 ч 45 мин., 2 ч 30 мин., 24 часа после однократного введения и через 2 часа после ежедневной инъекции спустя 2, 4 и 6 недель от начала эксперимента согласно рекомендациям (Bergamini *et al.*, 1987; Donatia *et al.*, 2013). Собранную кровь использовали для получения сыворотки, в которой биохимическим способом определяли содержание глюкозы, свободных жирных кислот, альбумина, аланин аминотрансферазы (АЛТ) и аспартат аминотрансферазы (АСТ). Образцы крови отправляли на коагуляцию при 37 °С, центрифугировали с скоростью 174 г/мин. в течение 15 минут (1550 г.р.м) с центрифугой (Шанхайская Фабрика Хирургических инструментов. Модель 9-1). Сыворотка хранилась при -20 °С до дальнейшего анализа. Глюкоза сыворотки была определена согласно метода Bergmeyer *et al.* (1974). Свободные жирные кислоты анализировались по методу Bergamini & Segal (1987). Сывороточный альбумин был определен согласно методу Doumas *et al.* (1971). Аспартат аминотрансфераза и аланин аминотрансфераза были определены согласно методам Gella *et al.* (1985) при этом использовались комплекты Испании. АСТ и АЛТ были определены с использованием подходящих для каждого метода комплексов. Гликоген печени анализировался согласно Bergamini & Segal (1987). Образцы ткани печени были гомогенизированы в 0.1 моль/л фосфатном буфере (рН 7.4) до получения однородной массы с использованием гомогенизатора политрон.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Морфометрические результаты (массы тела и печени)

Ежедневное введение 1,5-бис(3,5-диметилпиразол-1-ил)-3-оксапентан-диацетатомеди вызвало значительное уменьшение массы тела и печени крыс по сравнению с контрольной группой. Это сокращение стало значительным через 4 и 6 недель после начала эксперимента (рис. 1). Нами установлено, что данный эффект зависит от продолжительности введения препарата. Наши результаты согласуются с данными Lossi *et al.* (1985), сообщившими, что у крыс, которым вводились похожие препараты (3,5-диметилпиразол в дозе 12 мг/кг массы тела), также наблюдалось значительное уменьшение массы тела и печени.

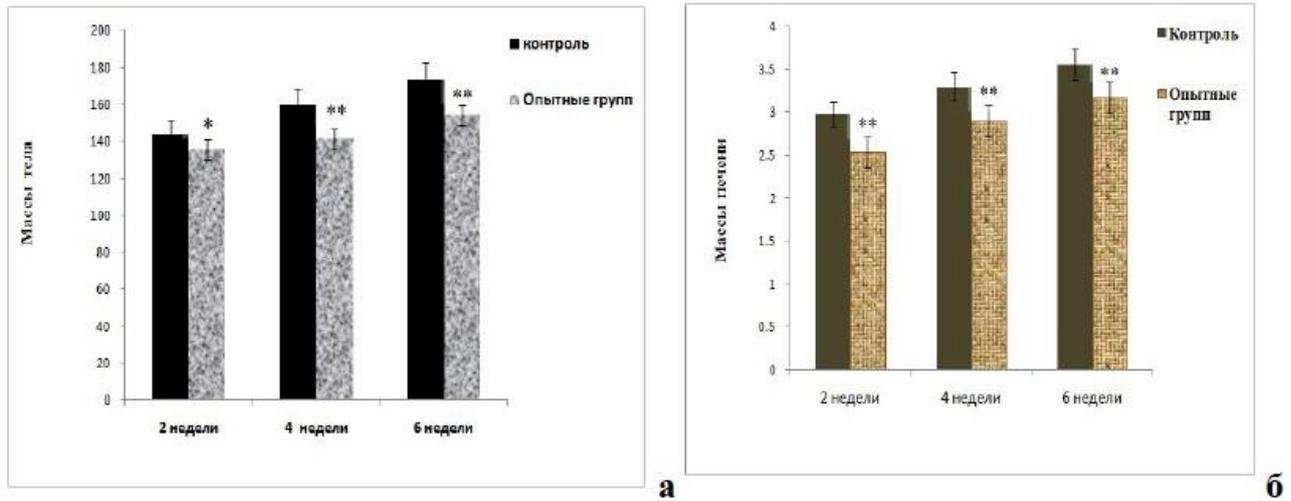


Рис. 1. Динамика показателей массы тела и печени в зависимости от продолжительности введения препарата, тут и далее (а) однократное и (б) многократное введение. Значимость для различий между контрольной и опытной группами (здесь и далее): * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$.

Биохимические результаты

Глюкоза, свободные жирные кислоты и альбумин в сыворотке крови

Результаты исследования показывают что, однократное внутрибрюшинное введение крысам 1,5-бис(3,5-диметилпиразол-1-ил)-3-оксапентан-диацетатомеди вызывает колебание уровня глюкозы, свободных жирных кислоты и альбумина. Начиная с 30 мин. и до 1 ч 45 мин. эксперимента, их показатели уменьшаются, а затем постепенно повышаются и достигают нормального уровня через 24 часа (рис. 2-4). При многократном ежедневном введении препарата, через 2, 4 и 6 недель результаты показали постепенное достоверное снижение уровня сывороточной глюкозы, альбумина и свободных жирных кислоты по сравнению с контрольной группой (рис. 2-4).

Некоторые исследователи также получили подобные результаты. Внутрибрюшинное введение производного пиразола в качестве антилипидического вещества крысам в дозе 12 мг/кг массы тела, вызывало быстрое понижение свободных жирных кислот, глюкозы и уровня инсулина крови в течение почти 3 часов (Locci *et al.*, 1985). Различные антилипидические вещества показали очень схожие эффекты на активность ферментов, уровня глюкозы крови и свободных жирных кислот, восстановление которых происходит спустя 8-10 часов (Bergamini & Segal, 1987).

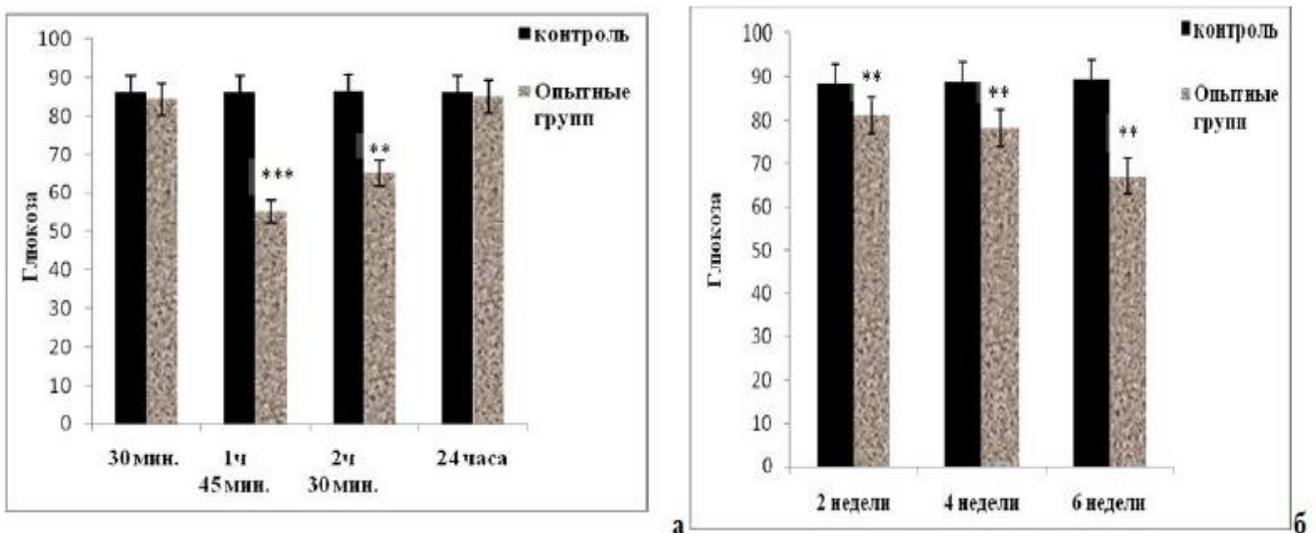


Рис. 2. Динамика показателей уровня глюкозы в зависимости от кратности и продолжительности введения препарата.

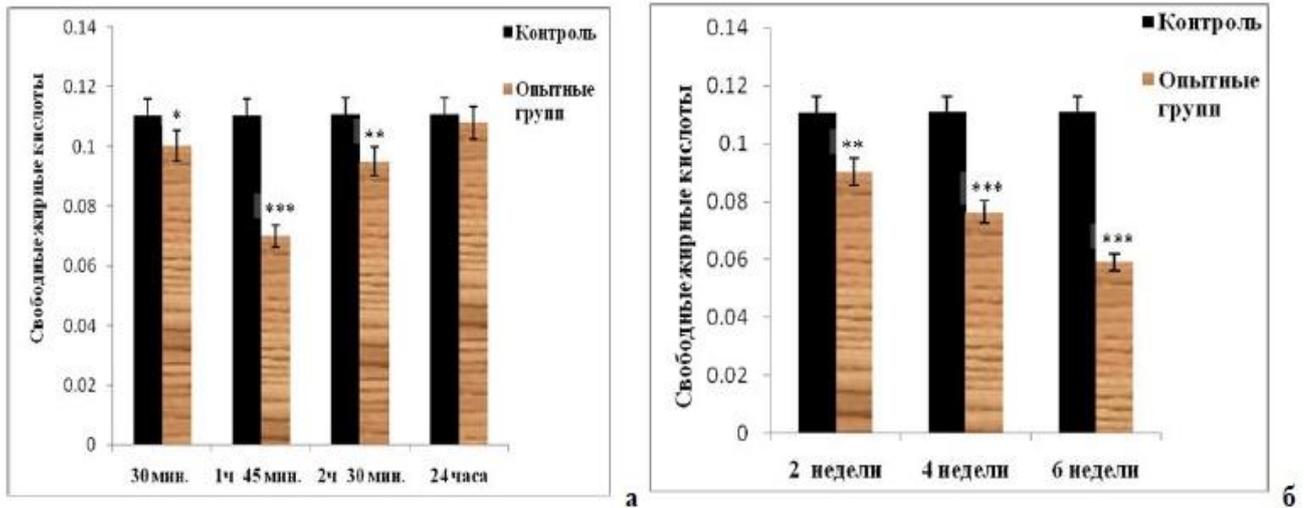


Рис. 3. Динамика показателей уровня свободных жирных кислоты в зависимости от кратности и продолжительности введения препарата,

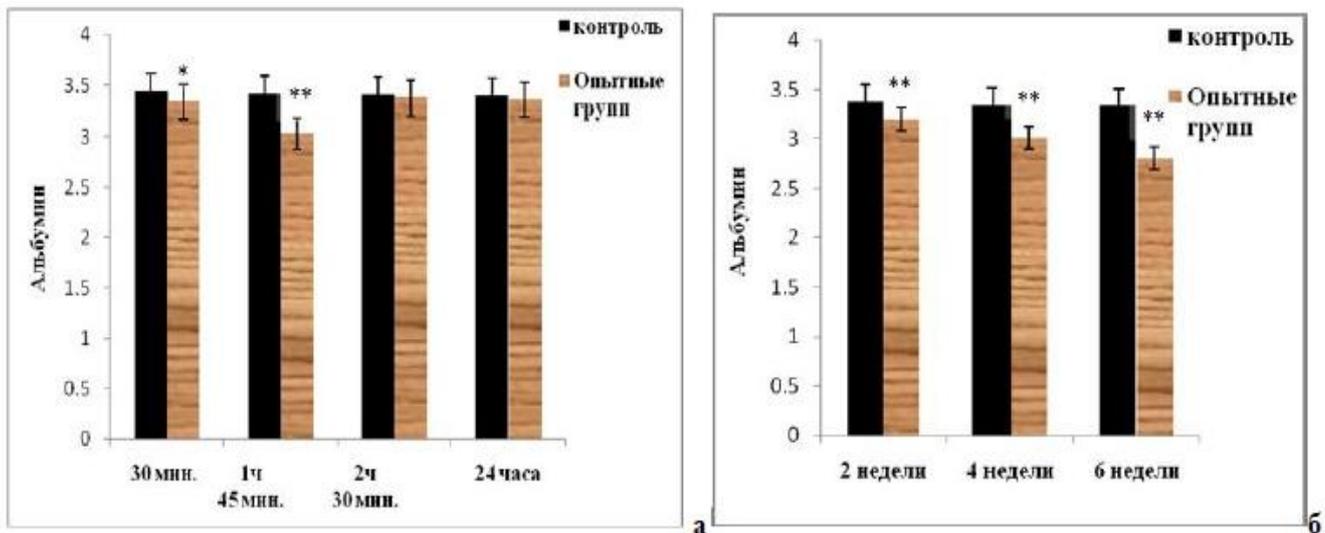


Рис. 4. Динамика показателей уровня альбумина в зависимости от кратности и продолжительности введения препарата.

Аланин аминотрансфераза, аспартат аминотрансфераза в сыворотке крови

Результаты исследования показывают, что однократное внутрибрюшинное введение крысам 1,5-бис(3,5-диметилпиразол-1-ил)-3-оксапентан-диацетатомеди вызывает резкое повышение уровня АЛТ и АСТ в крови в течение первых 30 мин. эксперимента, а затем их показатели постепенно уменьшаются и достигают нормального уровня через 24 часа (рис. 5-6). При многократном ежедневном введении препарата через 2, 4 и 6 недель, результаты показали постепенное достоверное повышение уровня АЛТ и АСТ в течение исследуемого периода по сравнению с контрольной группой (см. рис. 5-6).

Подобные результаты повышения количества АЛТ и АСТ, когда крысам вводился 3,5 этанол-пиразол (в дозе 12 мг/кг массы тела) получены и другими исследователями (Bergamini *et al.*, 1987). Внутрибрюшинное введение крысам пиразола (в дозе 200 мг/кг массы тела, один раз в день в течение 2 дней) так же увеличивает уровни АЛТ и АСТ (Lester *et al.*, 1968; Lu & Cederbaum, 2006). Увеличение печеночных ферментов, таких как АЛТ и АСТ в плазме крови связывают с токсичностью действия различных исследуемых агентов на печень (Calviello *et al.*, 2006).

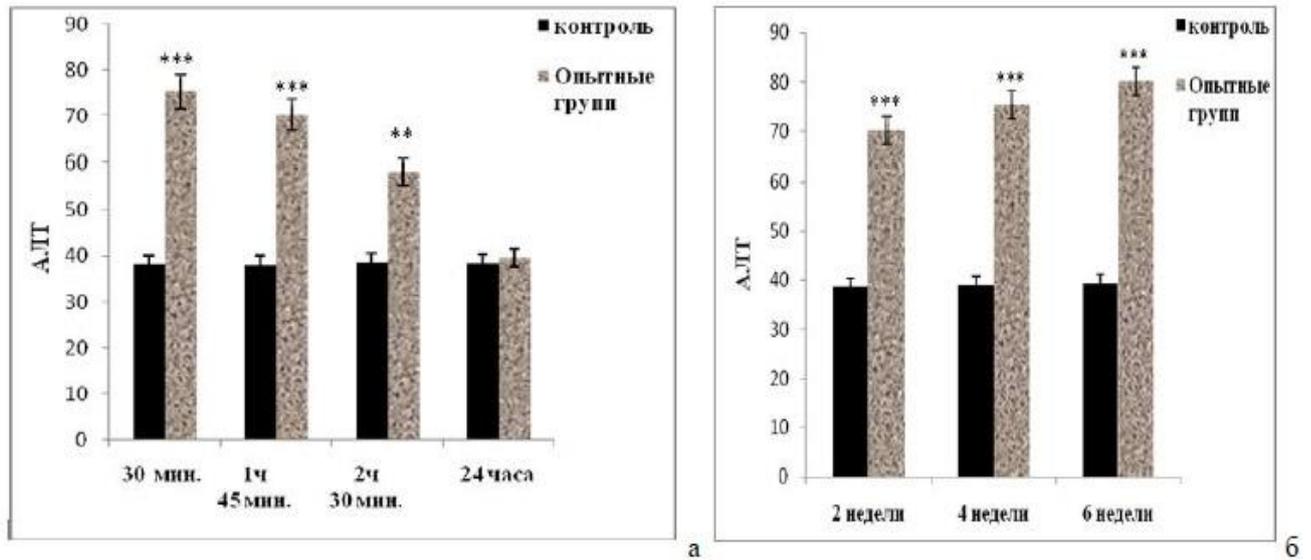


Рис. 5. Динамика показателей уровня АЛТ в зависимости от кратности и продолжительности введения препарата.

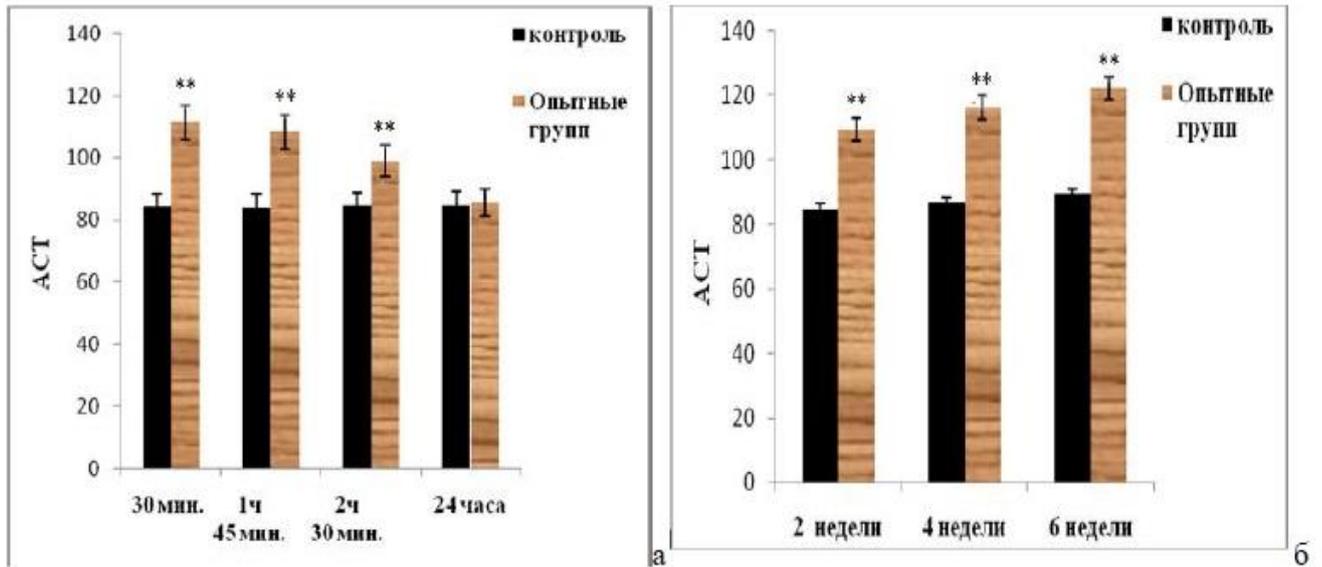


Рис. 6. Динамика показателей уровня АСТ в зависимости от кратности и продолжительности введения препарата.

Гликоген в печени

Установлено, что однократное внутрибрюшинное введение крысам 1,5-бис(3,5-диметилпиразол-1-ил)-3-оксапентадиацетатомеди вызывает резкое повышение уровня гликогена в печени в первые 30 мин., затем до 1 ч 45 мин. идет его дальнейшее незначительное повышение, а после этого показатели постепенно уменьшаются и достигают к 24 часам немного меньшего значения, чем в контрольной группе (рис. 7). При многократном ежедневном введении препарата через 2, 4 и 6 недель, результаты показали постепенное достоверное повышение уровня гликогена в печени в течение исследуемого периода по сравнению с контрольной группой (см. рис. 7).

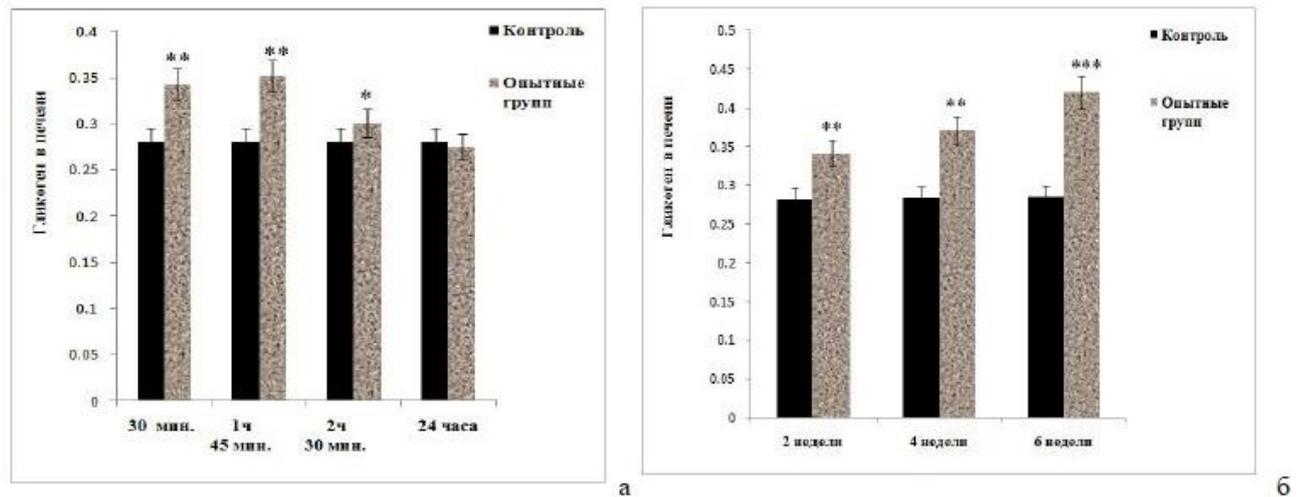


Рис. 7. Динамика показателей уровня гликоген в печени в зависимости от кратности и продолжительности введения препарата.

ВЫВОДЫ

Данное исследование показывает, что 1,5-бис(3,5-диметилпиразол-1-ил)-3-оксапентан-диацетатомеди имеет гипогликемический, антилиполитический и токсический эффекты, которые проявляются и сохраняются только при многократном применении в течение 6 недель.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Bend, J.R., Serbajit-Singh, C.J., Philpot, R.M. (1985). The pulmonary uptake, accumulation and metabolism of xenobiotics. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 25, 97–125.
- Bergamini, E., Segal, H.L. (1987). Effects of Antilipolytic drugs on hepatic peroxisomes. *Biol. and Med.*, 3, 295–303.
- Bergamini E, De Tata, V, Cubeddu, T.L., Masiello, P., Pollera, M. (1987). Increased degradation in rat liver induced by antilipolytic agents: A model for studying autophagy and protein degradation in Liver. *Exp. and Mol. Pathol.*, 46, 114–122.
- Bergmeyer, H.U., Bernt, E, Schmidt, F., Stork, H. (1974). *D-Glucose determination with hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase*. New York.
- Calviello, G., Piccioni, E., Boninsegna, A., Tedesco, B., Maggiano, N., Serini, S., Wolf, F.I., Palozza, P. (2006). DNA damage and apoptosis induction by the pesticide mancozeb in rat cells: involvement of oxidative mechanism. *Carcinogenesis*, 28(6), 1202–1209.
- DeVito, M. J., Birnbaum, L.S., Farland, W.H. (1995). Comparisons of estimated human body burdens of dioxin-like chemicals and TCDD body burdens in experimental exposed animals. *Environ Health Perspect.*, 103, 820–830.
- Donatia, A., Gavallini, G., Bergamin, E. (2013). Effects of aging, antiaging calorie restriction and in vivo stimulation of autophagy on the urinary excretion of 8OHdG in male Sprague-Dawley rats. *Age (Dordr.)*, 35(2), 261–270.
- Doumas, B.T., Watson, A.W., Biggs, H.G. (1971). Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. *Clin. Chem. Acta*, 31(1), 87–96.
- Gella, F.J., Olivella, T., Cruz Pastor, M., Arenas, J., Moreno, R., Durban, R., Gomez, J.A. (1985). A simple procedure for routine determination of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase with pyridoxal phosphate. *Clin. Chem. Acta*, 153(3), 241–247.
- Kalinkina, M.A. (2001). *Study the pharmacological properties of new chemical compounds - potential donors of nitric oxide*. Thesis of Doctoral Dissertation, Moscow.
- Krishna Murthi, C.R. (1989). *Biological Effects of Chemical Disasters: Human Victims. In: Methods for Assessing and Reducing Injury from Chemical Accidents (Philippe Bourdeau and Gareth Green)*, pp. 115–126. Scope: John Wiley & Sons Ltd.
- Lester, D., Keokosky, W.Z., Felzenberg, F. (1968). Effect of pyrazole and other compounds on alcohol metabolism. *Quart. J. Stud. Alcohol.*, 29, 449–454.
- Locci, C.T., Masiello, P., Pollera, M. (1985). Effects of antilipolytic agents on rat liver peroxisomes and

peroxisomal oxidative activities. *Biochim. And Biophys. Acta*, 839, 96–104.

- Lu, Y., Cederbaum, A.I. (2006). Enhancement by pyrazole of lipopolysaccharide-induced liver injury in mice: role of cytochrome P450 2E1 and 2A5. *Hepatology*, 44(1), 263–274.
- Meletova, O.K. *Studying the neurotropic activity of pyrazole derivatives pyridine [C] and related compounds*. Thesis of Doctoral Dissertation. St. Petersburg.
- Potapov, A.S., Domina, G.A., Khlebnikov, A.I., Ogorodnikov, V.D. (2007). Facile synthesis of flexible Bis(pyrazol-1-yl) alkane and related ligands in a superbasic medium. *Eur. J. Org. Chem.*, 34, 5112–5116.
- Spencer, P.S., Miller, M.S., Ross, M.S., Schwab, B.W., Sabri, M.I. (1985). *Biochemical mechanisms underlying primary degeneration of axons*. In: *Handbook of Neurochemistry* (Abel Lajtha, Ed.), pp. 31–55. Springer Science Business Media New York.