

**ФЕНИЛИМИНОМЕТИЛЬНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ
4,6-ДИ-ТРЕТ-БУТИЛ-1,2-ДИГИДРОКСИБЕНЗОЛА
РЕГУЛИРУЮТ ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ**

**Амаэбери Н. В.¹, Семенкова Г. Н.², Ксендзова Г. А.³,
Сорокин В. Л.¹, Карнаухова А. С.¹**

¹*Белорусский государственный университет*

²*Белорусский государственный медицинский университет*

³*Научно-исследовательский институт физико-химических проблем*

Белорусского государственного университета

Минск, Беларусь

Введение. Активные формы кислорода и хлора (АФКХ) представляют собой метаболические интермедиаты, которые в физиологических концентрациях выступают в роли вторичных мессенджеров, обеспечивая регуляцию процессов сигнализации и реализацию иммунного ответа. Нарушение редокс-гомеостаза и гиперпродукция АФКХ инициируют развитие оксидативного стресса, сопряженного с деструкцией ключевых биомолекул [1]. Нейтрализация избытка АФКХ обеспечивается системой антиоксидантной защиты, однако при оксидативном стрессе её активности может быть недостаточно. В таких случаях целесообразно применять экзогенные антиоксиданты, как природные, так и синтетические.

Ранее методом стационарного радиолиза нами была установлена высокая активность фенилиминометильных производных 4,6-ди-*трет*-бутил-1,2-дигидроксибензола, содержащих в боковой цепи дополнительные радикал активные группы -ОН, -SH и -NO₂, в отношении пероксидных, алкильных и альфа-гидроксиалкильных радикалов [2], что мотивировало нас изучить поведение этих соединений в клеточных моделях. Поскольку основным источником АФКХ в организме являются нейтрофилы, изучение влияния указанных соединений на эти клетки представляет особый интерес.

Цель. Изучить влияние фенилиминометильных производных 4,6-ди-*трет*-бутил-1,2-дигидроксибензола на функциональную активность нейтрофилов.

Методы исследования. В работе использованы следующие соединения: 4,6-ди-*трет*-бутил-3-(3-гидроксифенилиминометил)-1,2-дигидроксибензол (1), 4,6-ди-*трет*-бутил-3-(3-нитрофенилиминометил)-1,2-дигидроксибензол (2), 4,6-ди-*трет*-бутил-3-(3-сульфанилфенилиминометил)-1,2-дигидроксибензол (3), 4,6-ди-*трет*-бутил-3-(4-сульфанилфенилиминометил)-1,2-дигидроксибензол (4), 4,6-ди-*трет*-бутил-3-(2-сульфанилфенилиминометил)-1,2-дигидроксибензол (5). Нейтрофилы выделяли из крови здоровых людей по стандартной методике [3]. Секреторную дегрануляцию определяли по выходу лизоцима из клеток [4]. Активность лизоцима в супернатанте определяли по скорости лизиса клеточных

стенок бактерий *Micrococcus lysodeikticus* спектрофотометрическим методом ($\lambda=450$ нм). Пероксидазную активность миелопероксидазы (МПО) оценивали спектрофотометрически ($\lambda=650$ нм) по скорости окисления 3,3',5,5'-тетраметилбензидина H_2O_2 в присутствии МПО [5]. Генерацию АФКХ изучали флуоресцентным методом с помощью зонда $H_2DCF-DA$ ($\lambda_{ex}=488$ нм, $\lambda_{em}=530$ нм) [6]. Образование АФКХ стимулировали добавлением 0,1 мкмоль/л хемотаксического пептида fMLP. Все спектрофотометрические и спектрофлуориметрические измерения проводили на спектрофлуориметре SM 2203 («Солар», Беларусь). Статистическую обработку результатов исследований проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA).

Результаты и их обсуждение. Установлено, что инкубирование нейтрофилов с соединениями 1 и 4 приводит к увеличению продукции АФКХ клетками в 2,7 и 4,5 раз соответственно по сравнению с контролем. Производные 4,6-ди-трет-бутил-1,2-дигидроксибензола, содержащие нитрогруппу и сульфгидрильную группу в орто- и метаположениях не оказывают влияния на исследуемый процесс. Активация нейтрофилов может сопровождаться высвобождением содержимого гранул из клеток – секреторной дегрануляцией. В гранулах содержатся МПО, эластаза, лизоцим и др. белки, необходимые для уничтожения чужеродного материала. Выявлено, что инкубирование клеток с соединениями 1, 3, 5 приводит к снижению секреторной дегрануляции на 61,4, 23,3, 15,7% соответственно. В то же время, соединения 2 и 4 увеличивают выход лизоцима в 2 и 3 раза по сравнению с контрольным образцом.

Повышенная секреция МПО является одной из причин формирования оксидативного стресса, поскольку образуемая вне клеток НОС1 способна повреждать другие клетки и ткани организма. С целью оценить влияние исследуемых соединений на МПО нами изучена пероксидазная активность этого фермента. Показано, что соединение 1 дозозависимо ингибирует активность фермента. В концентрации 10 мкмоль/л степень ингибирования достигает 50%. Выявлено, что соединение 2 в диапазоне концентраций 1-10 мкмоль/л ингибирует активность МПО на 22,7-42,7%. Установлено, что соединение 3 на 39,6% усиливает пероксидазную активность МПО. Соединение 4 в концентрации 10 мкмоль/л ингибирует активность этого фермента на 72,2% по сравнению с контролем. Соединение 5 не оказывает влияния на активность МПО.

Выводы. Фенилиминометильные производные 4,6-ди-трет-бутил-1,2-дигидроксибензола регулируют генерацию АФКХ нейтрофилами, стимулированными fMLP. Исследуемые соединения по-разному влияют на секреторную дегрануляцию нейтрофилов: соединения 2 и 4 усиливают этот процесс, а соединение 1 снижает этот параметр. Установлено, что производные 4,6-ди-трет-бутил-1,2-дигидроксибензола изменяют пероксидазную активность МПО: соединения 1, 2 и 4 оказывают ингибирующее действие, а соединение 3 – стимулирующее. Ингибирующая способность исследуемых

соединений обусловлена не только природой заместителя, но и его положением. Стоит отметить, что в химических модельных системах положение групп -ОН, -SH и -NO₂ в боковой цепи данного ряда соединений не оказывало влияния на антирадикальную активность [2]. Необходимы дальнейшие исследования фенилиминометильных производных 4,6-ди-*трет*-бутил-1,2-дигидроксibenзола для выявления молекулярно-клеточных механизмов их действия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sies, H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine / H. Sies // *Redox Biol.* – 2015. – Vol. 4. – P. 180-183.
2. Влияние фенилиминометильных производных 4,6-ди-*трет*-бутил-1,2-дигидроксibenзола на радиационно-индуцированные реакции с участием различных органических радикалов / Г. А. Ксендзова, Н. И. Островская, Г. Н. Семенкова [и др.] // *Свиридовские чтения: сб. ст. – 2024. – Вып. 20. – С. 84-94.*
3. Boyum, A. Isolation of lymphocytes, granulocytes and macrophages / A. Boyum // *Scand. J. Immunol.* – 1976. – Vol. 5. – P. 9-15.
4. Shugar, D. The measurement of lysozyme activity and the ultra-violet inactivation of lysozyme / D. Shugar // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1952. – Vol. 8. – P. 302-309.
5. Measuring myeloperoxidase activity in biological samples / B. Pulli, M. Ali, R. Forghani [et al.] // *PLoS ONE.* – 2013. – Vol. 8, № 7. – P. e67976.
6. Ameziane-El-Hassani, R. Detection of intracellular reactive oxygen species (CM-H2DCFDA) / R. Ameziane-El-Hassani, C. Dupuy // *Bio Protocol.* – 2013. – Vol. 3, № 2. – P. 1-5.

РОЛЬ МЕТАЛЛОТИОНЕИНА-2 В АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЕ ПРИ ОСТРОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Бадун Е. Г.¹, Шуриберко А. В.¹, Бах М. С.², Островская К. А.²

¹*Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси*

²*Гродненский государственный медицинский университет*

Гродно, Беларусь

Введение. Негативные последствия кратковременного чрезмерного употребления алкоголя оказывают неблагоприятное воздействие на сердце, включающее риск тромбозов и нарушение сердечного ритма. Печень является основным местом метаболической трансформации этанола и, соответственно, наиболее восприимчива к повреждениям от потребления алкоголя [1].

Метаболизм этанола через цитохром P450 (CYP2E1) сопровождается интенсивным образованием активных форм кислорода (АФК), что способствует активации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и нарастанию окислительных повреждений в клетке [2]. Глутатион является антиоксидантом, играющим важную роль в нейтрализации АФК и обладает важными общими свойствами с металлотioneином (MT). Сульфгидрильные группы глутатиона и MT составляют основной пул тиолатсодержащих групп в клетке.