



Государственный комитет
СССР

по делам изобретений
и открытий

О П И С А Н И Е ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(11) 993960

(61) Дополнительное к авт. свид-ву -

(22) Заявлено 15.09.81 (21) 3343996/28-13

с присоединением заявки № -

(23) Приоритет -

Опубликовано 07.02.83. Бюллетень № 5

Дата опубликования описания 07.02.83

(51) М. Кл.³

A 61 R 31/51

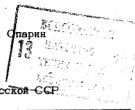
(53) УДК 615.
.779.64
(088.8)

(72) Авторы
изобретения

Т. И. Зиматюна, Ю. М. Островский и Д. А. Спарин

(71) Заявитель

Отдел регуляции обмена веществ АН Белорусской ССР



(54) СРЕДСТВО, ОБЛАДАЮЩЕЕ ИНГИБИРУЮЩИМ ДЕЙСТВИЕМ НА ПИРУВАТДЕГИДРОГЕНАЗУ

Изобретение относится к биологии и может быть применено для ингибирования активности пируватдегидрогеназы в тканях животных.

Известно применение окситиамина пиритиамина в качестве средств, обладающих ингибирующим действием на пируватдегидрогеназу [1].

Однако их применение приводит к угнетению активности всех тиаминдифосфат-зависимых ферментов в организме животных.

Известно применение тioxромдифосфата, имеющего антикоферментный действие, в качестве средства, обладающего ингибирующим действием на пируватдегидрогеназу [2].

Цель изобретения - создание избирательного ингибирования активности пируватдегидрогеназы в тканях животных, а также расширение арсенала средств воздействия на живой организм.

Цель достигается применением тioxромдифосфата в качестве средства, обладающего

ингибирующим действием на пируватдегидрогеназу.

Изучение антивитаминой активности тioxромдифосфата проводили на белых мышках-самках массой 24-26 г. Животным подкожно вводили по 0,2 мл водного раствора препарата при физиологическом значении pH в дозе 10 мг/кг в виде однократных подкожных инъекций. Для сравнительной оценки антикоферментного действия тioxромдифосфата в тех же условиях и дозах испытывали сильнее антивитамины аналоги тиамина - окситиамин, а также тioxром, его моно- и дифосфорные эфиры в различных дозах.

Определение активности пируватдегидрогеназы в тканях животных проводили по методу, сущность которого заключается в том, что при окислении пирувата гомогенатами исследуемых тканей происходит восстановление феррицианида калия в ферроцианид. Контроль вели по убыли оптической плотности раствора на $\lambda = 417$ нм.

В контрольные пробирки вносили все компоненты кроме субстрата (пирувата натрия), вместо которого добавляли равный объем КСР. В опытные — все компоненты и субстрат. Реакция начиналась с момента прибавления гомогената. Состав инкубационной смеси: 75 мкмоль $\text{Na-K-фосфатного буфера}$ (0,5 мл), 20 мкмоль MgSO_4 (0,1 мл), 6 мкмоль АТФ-натриевой соли (0,1 мл), 2 мкмоль этилендиа-10 минтетрауксусной кислоты (0,1 мл), 20 мкмоль пирувата натрия (0,1 мл), 255 мкмоль КСР (17 мл), 4,66 мкмоль $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (0,7 мл), гомогенат тканей (0,4 мл). Пробы хорошо перемешивали и ставили на 20 мин на водяную баню при 25°C. По истечении времени инкубации в каждую пробирку добавляли по 0,3 мл 50% раствора трихлоруксусной кислоты для осаждения белков. Пробы центрифугировали 15 мин при 1500 об/мин: в центрифугатах, определяли на спектрофотометре оптическую плотность раствора. Количество восстановленного феррицианида определяли по калибровочной кривой. 25 Активность фермента выражали в мкмоль

восстановленного $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ на 1 г белка в течение 20 мин при 25°C.

Тиохромтрифосфат, выделенный из смеси тиохромтрифосфатов, вводили в виде однократной подкожной инъекции белым мышам в дозе 10 мг/кг при физиологическом значении pH водного раствора. Через 3 ч после инъекции в срок максимального падения активности пируватдегидрогеназы при применении различных уже известных авитаминов B_1 , животных забивали методом декапитации. Исследуемые ткани печени и сердца гомогенизировали на холоду с 0,15 М раствором КСР. В приготовленных гомогенатах определяли активность пируватдегидрогеназы, степень угнетения которой является одним из принятых критериев при оценке глубины авитаминоза B_1 .

В таблице представлены абсолютные значения активности пируватдегидрогеназы после введения тиохромтрифосфата и сравниваемых препаратов. Символом P_k обозначена достоверность различий по отношению к контрольной группе животных. Величины $\text{P}_k < 0,05$ приняты за достоверные

Активность перуватидгидрогеназы (в мкмоль $K_3 [Fe(SK_6)]$ /г белка за 20 мин)
в тканях белых мышей при введении различных антигистаминов В₁

Ткани	Контроль	Тиохром	Тиохромомо- нофосфат	Тиохромди- фосфат	Тиохромтри- фосфат	Окситиамин	Пиритиамин
Печень	122,59±3,82	122,03±2,17	120,92±2,86	118,75±3,15	47,20±1,95	121,30±2,47	130,00±2,04
Рк		>0,5	>0,5	<0,5	<0,001	>0,5	<0,1
Сердце	216,43±8,14	213,87±4,82	213,25±5,93	211,03±3,18	134,19±5,62	215,94±4,11	230,13±9,98
Рк		>0,5	>0,5	0,5	<0,001	>0,5	0,2

Результаты проведенного исследования показали, что тиохромтрифосфат в отличие от сегомо тиохрома и его моно- и дифосфорных эфиров значительно угнетает активность пируватдегидрогеназы печени и сердца животных и обладает гораздо более сильным антивитаминым действием в отношении названного фермента в сравнении с биологически неактивными в этой дозе окситиамином и пиритиамином. Активность транскетолазы печени, сердца, крови при введении тиохромтрифосфата в тех же условиях опыта не изменялась.

Использование предлагаемого средства в качестве антагониста тиамина в отличие от широко используемых в экспериментальной витаминологической практике окситиамина и пиритиамина дает возможность избирательно ингибировать актив-

ность одного из тиаминдифосфатзависимых ферментов (пируватдегидрогеназы) в тканях животных, что имеет важное значение при постановке различных моделей авитаминоза В₁.

Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

Применение тиохромтрифосфата в качестве средства, обладающего ингибирующим действием на пируватдегидрогеназу.

Источники информации,

принятые во внимание при экспертизе

1. Биохимия витаминов и антивитаминов, М., "Колос", 1972, с. 112.

2. Schellenberger A., Wihter K., G Hubner et al. L. Physiol. Chem, 1966, V 346, p. 123.

Составитель С. Малиютина

Редактор Е. Хейфиц

Техред С. Мигунова

Корректор Ю. Макаренко

Заказ 693/3

Тираж 711

Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета СССР

по делам изобретений и открытий

113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Филиал ППП "Патент", г. Ужгород, ул. Проектная, 4