

## БІОЛОГІЧНІ НАУКИ

**Безкоровайний А.О.**

*аспірант,*

*Львівський національний університет імені Івана Франка;  
Львівський науково-дослідний експертно-криміналістичний центр  
МВС України*

**Гарасим Н.П.**

*кандидат біологічних наук, доцент,*

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

**Зинь А.Р.**

*кандидат біологічних наук,*

*Львівський науково-дослідний експертно-криміналістичний центр  
МВС України*

**Санагурський Д.І.**

*доктор біологічних наук, професор,*

*Львівський національний університет імені Івана Франка*

### **КОРЕЛЯЦІЙНИЙ АНАЛІЗ ПОКАЗНИКІВ ІНТЕНСИВНОСТІ ПРОЦЕСІВ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ ТА АКТИВНОСТІ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЗАРОДКІВ В'ЮНА MISGURNUS FOSSILIS L. ЗА ВПЛИВУ 2-ХЛОРО-3-(3-(МОРФОЛІН-4-ІЛ)-3- ОКСОПРОПІЛАМІНО)-1,4-НАФТОХІНОНУ**

У медичній та ветеринарній практиці як бактеріостатичні, бактерицидні і фунгіцидні препарати застосовують похідні 1,4-нафтохінону. Їм притаманний широкий спектр біологічної дії, зокрема протизапальна, противірусна, протиалергічна. У науковій літературі описано вплив амідних похідних 1,4-нафтохінону на ракові клітини різних ліній – KB (рак ротової порожнини), NCI-H187 (дрібноклітинний рак легень), MCF-7 (рак молочної залози) та лінії клітин Vero (епітелій нирки мавпи) [5]. У науковій літературі опубліковані результати досліджень, які засвідчують здатність амідних похідних зупиняти розвиток ракових клітин і проявляти слабку цитотоксичність щодо псевдонормальної клітинної лінії Vero [5; 6].

Об'єктом дослідження були зародки прісноводної, костистої риби в'юна *Misgurnus fossilis* L., оскільки вони у період раннього ембріогенезу є адекватною тест-системою для дослідження впливу різноманітних фармакологічних і хімічних чинників на живі організми [3; 4]. Попередніми нашими дослідженнями, які були проведені на зародках та личинках в'юна [1] встановлено, що 2-хлоро-3-(3-(морфолін-4-іл)-3-оксопропіламіно)-1,4-нафтохінон (Mr = 348) (далі ФО-2) в концентраціях  $10^{-3}$ – $10^{-5}$  М проявляє

ембріотоксичну дію, зумовлюючи сповільнення та аномалії розвитку зародків та личинок, що свідчить про здатність досліджуваних похідних нафтохінону проникати через перивітелінову оболонку і плазматичну мембрану бластомерів.

Виявлено, що вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ТБК-активних продуктів) у зародкових клітинах в'юна, за впливу досліджуваного амідного похідного 1,4-нафтохінону, дозозалежно знижується впродовж досліджуваного періоду. За його дії зростає активність супероксиддисмутази (СОД) та каталази (КАТ), порівняно з контролем (табл. 1–3).

Таблиця 1

**Вміст ТБК-активних продуктів (мкмоль/мг протеїну) у зародках в'юна на різних етапах розвитку за дії похідних 1,4-нафтохінону ( $M \pm m$ ,  $n = 10$ )**

Сполука	Концентрація, М	Стадії раннього розвитку (кількість бластомерів)				
		2	16	64	256	1024
Контроль		0,513±0,032	0,553±0,007	0,501±0,041	0,543±0,026	0,922±0,041
ФО-2	10 <sup>-7</sup>	0,235±0,001 ***	0,230±0,003 ***	0,281±0,001 ***	0,200±0,004 ***	0,269±0,001 ***
	10 <sup>-5</sup>	0,170±0,001 ***	0,145±0,001 ***	0,140±0,003 ***	0,137±0,002 ***	0,192±0,001 ***
	10 <sup>-3</sup>	0,153±0,003 ***	0,073±0,001 ***	0,072±0,001 ***	0,116±0,001 ***	0,140±0,001 ***

Примітка \*\*\* – різниця порівняно з контролем вірогідна ( $p \geq 0,999$ )

Важливий внесок у розуміння механізмів дії хінонових похідних має вивчення кореляційних зв'язків між процесами пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та активністю ферментів антиоксидантної системи (АОС) на різних стадіях раннього розвитку. У доступній нам літературі не вдалося знайти праць, присвячених з'ясуванню кількісного аспекту цієї проблеми. Тому метою даної роботи було встановлення кореляційних зв'язків між вмістом вторинних продуктів ліпопероксидації та активністю ключових ферментів АОС за впливу новоситнезованого амідного похідного 1,4-нафтохінону.

Статистичне опрацювання результатів виконували загальноприйнятими методами варіаційної статистики [2]. Кореляційний аналіз проводили, з використанням пакету програм для статистичного аналізу SPSS (Statistics 17). Для визначення вірогідних відмінностей між середніми значеннями використовували критерій Стьюдента. Достовірною вважалася різниця при показнику достовірності  $p \geq 0,95$ .

Таблиця 2

**Активність супероксиддисмутази (Од. активності/хв. мг протеїну)  
зародків в'юна за дії амідного похідного 1,4-нафтохінону ( $M \pm m, n = 10$ )**

Сполука	Концентрація, М	Стадії раннього розвитку (кількість бластомерів)				
		2	16	64	256	1024
Контроль		481±29	577±20	364±20	276±6	135±6
ФО-2	10 <sup>-7</sup>	5863±284 ***	7560±571 ***	6133±812 ***	8089±74 ***	8523±434 ***
	10 <sup>-5</sup>	6893±114 ***	8103±166 ***	6799±205 ***	9294±142 ***	10733±1789 ***
	10 <sup>-3</sup>	8162±46 ***	9112±124 ***	7522±460 ***	9294±680 ***	11111±89 ***

\*\*\* – різниця порівняно з контролем вірогідна ( $p \geq 0,999$ )

За допомогою кореляційного аналізу виявлено тісні кореляційні зв'язки між показниками ПОЛ–АОС на етапах раннього ембріогенезу. Як показали результати проведеного кореляційного аналізу, зниження показників вмісту ТБК-активних продуктів корелює з активацією СОД та КАТ. Так, на стадії 2 бластомерів за впливу амідного похідного 1,4-нафтохінону у концентрації 10<sup>-3</sup> М вміст вторинних продуктів ПОЛ обернено корелює з КАТ активністю ( $r = -0,76; p \geq 0,95$ ). Крім того, за впливу досліджуваної сполуки у концентрації 10<sup>-5</sup> М та 10<sup>-7</sup> М, між активністю СОД і КАТ прослідковуються тісні позитивні кореляційні зв'язки ( $r = 0,94$  та  $r = 0,86, p \geq 0,99$ ), що свідчить про недостатню активацію ферменту КАТ для знешкодження пероксиду водню, який утворюється при значній активації СОД за впливу досліджуваної сполуки різних концентрацій. На стадії 16 бластомерів спостерігається тісна негативна (обернена) кореляція між активністю КАТ і СОД та вмістом продуктів перекисного окиснення ліпідів ( $r = -0,90; p \geq 0,95$ ).

На подальших стадіях розвитку зародків в'юна, за впливу досліджуваної субстанції, відбувається зниження інтенсивності процесів ліпопероксидації, які тісно корелюють зі зростанням активності каталази та супероксиддисмутази. Зокрема на стадії 1024 бластомерів за концентрації 10<sup>-5</sup> та 10<sup>-7</sup> встановлено обернену кореляційну залежність між зростанням активності КАТ та СОД ( $r = -0,97; p \geq 0,95$ ) та зниженням вмісту ТБК-активних продуктів.

Не однакоий тип кореляції між активністю ферментів антиоксидантної системи за впливу 2-хлоро-3-(3-(морфолін-4-іл)-3-оксопропіламіно)-1,4-нафтохінону на етапах раннього ембріогенезу відображає зміну їхньої чутливості до дії досліджуваних чинників впродовж розвитку зародків.

**Активність каталази (мкмоль  $\text{H}_2\text{O}_2$ /хв.·мг протеїну) зародків в'юна за дії похідних 1,4-нафтохінону ( $M \pm m$ ,  $n = 10$ )**

Сполука	Концентрація, М	Стадії раннього розвитку (кількість бластомерів)				
		2	16	64	256	1024
Контроль		0,025±0,005	0,015±0,002	0,011±0,002	0,024±0,006	0,013±0,002 ***
ФО-2	10 <sup>-7</sup>	0,030±0,01	0,019±0,004	0,013±0,004	0,029±0,001	0,014±0,004
	10 <sup>-5</sup>	0,035±0,01 *	0,021±0,004	0,015±0,001 *	0,035±0,001	0,019±0,004
	10 <sup>-3</sup>	0,047±0,01 **	0,027±0,001 ***	0,023±0,001 ***	0,040±0,001 **	0,021±0,002 **

\*\*\* – різниця порівняно з контролем вірогідна ( $p \geq 0,999$ ); \*\* – ( $p \geq 0,99$ ); \* – ( $p \geq 0,95$ )

Отже, за допомогою кореляційного аналізу виявлено взаємозалежність між процесами ліпопероксидації та активністю ферментів АОС. Використання кореляційного аналізу дає підставу вважати, що вплив амідного похідного на зародки в'юна реалізується молекулярному рівні.

**Список використаних джерел:**

1. Безкоровайний А. О. Морфологічні зміни зародків і личинок в'юна за впливу амідних похідних 1,4-нафтохінону / А. О. Безкоровайний, А. Р. Зинь, Н. П. Гарасим, Ю. Т. Лень, О. М. Фігурка, Д. І. Санагурський // Біологічні Студії / Studia Biologica. – 2015. – Том. 9, № 3–4. – С. 79–88.
2. Гумецький Р. Я. Математичні методи в біології: теоретичні відомості, програмований практикум, комп'ютерні тести / Р. Я. Гумецький, М. Б. Паляниця, М. Е. Чабан // Львів: Вид. центр ЛНУ ім. І. Франка. – 2004. – 111 с.
3. Зинь А. Р. Вплив гіпохлориту натрію на прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз зародків в'юна протягом раннього ембріогенезу / А. Р. Зинь, Н. П. Головчак, А. В. Тарновська, М. Б. Галан, Д. І. Санагурський // Біологічні Студії / Studia Biologica. – 2012. – Т. 6, № 1 – С. 67–76.
4. Санагурський Д. І. Об'єкти біофізики: Монографія / Д. І. Санагурський // Львів: Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка. – 2008. – 522 с.
5. Pradidphol N., Kongkathip N., Sittikul P., Boonyalai N., Kongkathip B. First synthesis and anticancer activity of novel naphthoquinone amides // Med. Chem. – 2012. – Vol. 49. – P. 253–270.
6. Wellington K. W. Understanding cancer and the anticancer activities of naphthoquinones // RSC Advances. – 2015 – Vol. 5 – P. 20309–20338.