

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КОМПЛЕКСНОГО СОЕДИНЕНИЯ НИКЕЛЯ С ПИРИДОКСИНОМ И АМИДОМ НИКОТИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Файзуллаева З. Р., Абзалов А. А., Шамшиддинова М. Х., **Алиев Х. У.**

Ташкентский фармацевтический институт, Ташкент, e-mail: akmal.38@yandex.ru

Результатами проведенных нами исследований выявлены, что данный препарат выражено увеличивает количество эритроцитов и лейкоцитов в периферической крови. Препарат заметно снижает уровень сахара в крови при гипергликемии, вызванной гипертоническим раствором глюкозы, а также проявляет сильную антимикробную активность. Результаты проведенных авторами исследований установлено, что данный препарат способствует кратковременному и небольшому снижению артериального давления, дыхание при котором существенно не меняется. Разработанный авторами препарат проявляет сильную антибактериальную активность, который может быть использован в целях профилактики и лечения различных инфекционных заболеваний человека. Применение соединения никеля с пиридоксином и амидом никотиновой кислоты заметно укорачивает латентный период наступления сна и тем самым удлиняет время сна, вызванное гексеналом и хлоралгидратом, обладает заметным спазмолитическим действием, уменьшает тонус и сокращение кишечника. В связи с этим препарат может быть рекомендован для лечения и профилактики различных инфекционных заболеваний.

Ключевые слова: лиганды, никель, пиридоксин, амид никотиновой кислоты, фармакологическая активность, микробиологическая чистота, ферменты, комплексные соединения, микрофлора.

PHARMACOLOGICAL AND MICROBIOLOGICAL ASPECTS OF COMPLEX COMPOUNDS OF NICKEL WITH PYRIDOXINE AND NICOTINIC ACID AMIDE

Fayzullaeva Z. R., Abzalov A. A., Shamshiddinova M. H., **Aliyev H. U.**

Tashkent pharmaceutical institute, Tashkent, e-mail: akmal.38@yandex.ru

The results of our study showed that the drug increases the amount expressed in erythrocytes and leukocytes in peripheral blood. The drug significantly reduces the blood sugar level in hyperglycemia induced hypertonic glucose solution and exhibits strong antimicrobial activity. The results of conducting the study's authors found that the drug contributes to short-term and a slight decrease in blood pressure, breathing, in which does not change. Drug developed by the authors exhibits a strong antibacterial activity, which can be used for prevention and treatment of various infectious diseases in humans. The use of nickel compounds with pyridoxine and nicotinic acid amide significantly shortens the latency of sleep onset, and thus prolongs the sleeping time caused hexenal and chloral hydrate, has pronounced antispasmodic effect, reduces the tone and contraction of the intestine. In this regard, the preparation can be recommended for the treatment and prevention of various infectious diseases.

Keywords: ligands, nickel, pyridoxine, nicotinic acid amide, pharmacological activity, microbiological purity, enzymes, complex compounds microflora.

Цель. Поиск новых лечебных препаратов среди органических соединений по-прежнему остается основным направлением современной фармакологии. Исследования последних лет показали перспективность создания оригинальных лекарственных средств на основе комплексов металлов. Плодотворность использования последних в качестве лекарственных средств подтверждена многими примерами [6].

Известно, что совокупность биоэффектов микроэлементов и фармакологических активных лигандов в составе комплексных соединений во многих случаях приводит к

уменьшению токсичности и возрастанию биогенной активности металл-ионов относительно их органических солей.

Никель относится к металлам, активирующим ферменты [7]. Населяющая микрофлора желудочно-кишечного тракта содержит целый ряд ферментов, в которых обнаружен никель [3].

В начале XX века было установлено, что поджелудочная железа богата никелем. При введении вслед за инсулином никеля продлевается действие инсулина, тем и самым повышается гипогликемическая активность [5].

При функциональных изменениях печени происходят выраженные изменения микроэлементного спектра крови [4]. Так, наблюдается снижение никеля при циррозе печени, когда в крови обнаруживаются лишь его следы. Изменения содержания микроэлементов крови наблюдались у всех больных ишемической болезнью сердца.

При понижении содержания никеля в организме отмечались патологические изменения в печени: уменьшение размеров органа, снижение содержания гликогена, активация перекисного окисления липидов. Добавление в рацион животных неорганической соли никеля в количестве 50–80 мкг/кг в сутки устраняло эти симптомы или предупреждало их развитие. Однако из-за высокой токсичности и низкой биологической активности неорганических солей никеля они не нашли широкого применения в медицине, поэтому синтез и изучение координационных соединений никеля, обладающих меньшей токсичностью и большей биологической активностью, является актуальной задачей и представляют определенный теоретический и практический интерес с целью получения новых физиологически активных веществ. Исходя из этого, проведен целенаправленный синтез комплексного соединения никеля с пиридоксином и амидом никотиновой кислоты.

Методы исследований. На основе хлорид никеля, пиридоксин и амид никотиновой кислоты синтезировано комплексное соединение. При выполнении настоящего исследования применялись хлорид никеля марки «ч.д.а», амид никотиновой кислоты (АНК) и пиридоксин солянокислый (ПН) марки «фармакопейный».

Пиридоксин выпускается в промышленности в виде хлоргидратной соли. Из нее пиридоксин получают следующим образом: 20,00 г ПН и 8,12 г мелко измельченного гидрокарбоната натрия заливали 250 см³ этилового спирта. Смесь перемешивали, нагревали при 70–75 °С до полного удаления углекислого газа. Затем образовавшийся раствор пиридоксина отделяют от осадка. Осадок промывали небольшим количеством этанола. Промывной этанол сливали с этанольным раствором пиридоксина, выпаривают до 1/5 части первоначального объема, осаждали эфиром. Смесь охлаждали до 4 °С, и выделившийся пиридоксин отфильтровали, промывали эфиром. Получение комплекса проводится

следующим образом: в 30 мл этанола растворили 0,006 моля ПН и 0,002 моля АНК. К образовавшемуся раствору прилили этанольный раствор 0,002 моля хлорида никеля. Затем выпавшие осадки отфильтровали, промыли этанолом и эфиром.

Результаты исследований. Общее действие и токсичность комплекса изучали на лабораторных мышах массой 18–22 г обоего пола, содержащихся на обычном рационе вивария. Препарат вводили орально при помощи металлического зонда в дозах от 50–100 мг/кг и 250–1000 мг/кг. Проведенные исследования показали, что введение препарата мышам в дозах 50–100 мг/кг каких-либо отрицательных реакций у животных не вызывало. При увеличении дозы 250–1000 мг/кг отмечено некоторое уменьшение двигательной активности и незначительное учащение частоты дыхания, тахикардия. Часть мышей погибла через 2,5–3 часа после введения препарата.

В результате статистической обработки полученных результатов установлено, что LD_{50} изучаемого соединения равна 799,5 (673,4÷948,7) мг/кг.

При изучении влияния препарата на артериальное давление и дыхание при оральном введении 30–50 мг/кг установлено, что препарат вызывает небольшое и кратковременное снижение (на 15–30 мм рт. ст.) артериального давления, дыхание при этом существенно не меняется.

В дальнейших исследованиях изучено влияние препарата на спазм изолированного кишечника, вызванного хлоридом бария в концентрации $2 \cdot 10^{-4}$ г/мл. Опытным животным в тех же условиях вводили препарат, и изучалось влияние препарата на тонус и амплитуды сокращения кишечника. Выявлено, что изучаемый препарат в концентрации $2 \cdot 10^{-3}$ - $1 \cdot 10^{-3}$ г/мл на 15–20 % уменьшает спазм кишечника.

В отдельной серии опытов изучали влияние препарата на силу и продолжительность снотворного действия гексенала (70 мг/кг, внутривенно) и хлоралгидрата (300 мг/кг, внутривенно). Выявлено, что препарат в дозе 25–50 мг/кг заметно увеличивает время сна – на 17–28 % и 21–42 % соответственно. Препарат выражено укорачивает латентный период наступления сна.

Путем определения количества ретикулоцитов в периферической изучалось действие препарата на кроветворение. Установлено, что изучаемый препарат в дозе 15 и 25 мг/кг при оральном введении на 155–171 % увеличивает количество ретикулоцитов в периферической крови. Выявлено, что изучаемый препарат в дозах 25 и 50 мг/кг заметно стимулирует кроветворение. На 10 день введения препарата заметно увеличивается количество эритроцитов и лейкоцитов в периферической крови, однако количество гемоглобина остаётся на уровне физиологической нормы (табл.1).

Влияние препарата на картину периферической крови при длительном введении

№	Показатели крови	Исходные данные	Картина периферической крови после введения препарата, на			
			10 день		21 день	
			Контроль	25 мг/кг	Контроль	25 мг/кг
1	Гемоглабин в г %	12,6±0,25	12,5±0,25	12,7±0,40	11,9±0,35	12,5±0,51
2	Эритроциты в млн	5,5±0,31	5,6±0,25	6,7±0,45	5,3±0,35	6,75±0,35
3	Лейкоциты в тыс.	8,6±1,2	9,0±1,1	12,0±0,90	8,8±0,85	12,3±1,0

Изучено влияние препарата на течение сахарного диабета в условиях эксперимента. Опыты проводили на крысах массой 160–187 г обоего пола.

На фоне экспериментальной гипергликемии, вызванной внутрибрюшинным введением гипертонического раствора глюкозы в дозе 4,5 г/кг, исследована гипогликемическая активность препарата.

Изучаемый препарат в дозе 25 и 50 мг/кг вводили орально за 45 минут до введения глюкозы. Ферментативным методом через 60 и 120 минут определяли уровень сахара в крови. Установлено, что препарат обладает заметным гипогликемическим действием – на 60 минуте опыта в дозе 25 мг/кг снижает уровень сахара на 32,1 % (табл. 2).

Таблица 2

Влияние препарата на содержание сахара в крови крыс

№	Группа животных	Исходный уровень сахара в крови, в		Доза препарата	Колич. живот. в группе	Содержание сахара в крови через			
						60 минут, в		120 минут, в	
		ммоль/л	%			ммоль/л	%	ммоль/л	%
1	Контроль	4,2±0,5	100	1мл дист. воды	7	7,6±0,63	180,9	5,3±0,35	126,2
2	Препарат	4,2±0,5	100	25 мг/кг	7	6,25±0,33	148,8	4,55±0,3	108,3

Таким образом, препарат обладает выраженным гипогликемическим действием.

Определение микробиологической чистоты и активности препарата [2]. Для определения микробиологической чистоты 1 г вещества разбавляют с помощью 10 мл стерильного физиологического раствора и смешивают до получения однофазного раствора. 0,5 мл

полученного раствора добавляют в стерильной мясо-пептонный агар, который нагревается заранее при 45 ° С. Полученную смесь помещают в чашку Петри и выдерживают в термостате при температуре 37 ° С. Микробиологическая чистота комплекса определяется в соответствии с количеством колоний в твердую питательную среду. На протяжении периода инкубации, а также по его завершении (через 14 суток) визуальную оценивали наличие макроскопических признаков микробного роста в питательных средах. Результат показал, что микробного роста не обнаруживается, испытываемое лекарственное средство по требованиям стерильности отвечает.

Следующий тест был идентификацией микробиологической активности вещества методом диффузии (табл. 3). Как правило, мясо-пептонный агар и Собоуро выбран в качестве среды для микроорганизмов. В стерильных чашках Петри пролили расплавленные питательные среды. Микроорганизмы инокулируют методом газона.

Таблица 3

Перечень микроорганизмов, который используется для определения антимикробной активности

№	№	Тест -штаммы
1	25922	E.coli ATCC № 004136
2	25923	Staphylococcus aureus ATCC № 004134
3	490	Candida albicans № 004146
4	27853	Pseudomonas aeruginosa № 004135
5	Hb	Bacillus cereus № 003597
6	B-1	Bacillus subtilis № 003591

В среду добавили количество микробов, обеспечивающих оптимальный рост и четкость зон угнетения его роста. После затвердевания агара вырезали отверстия диаметром 6 мм (на 1 чашку не более 6 отверстий), положили равный объем раствора испытываемого препарата в каждом из них (концентрация 1мл/мкг). Чашки инкубировали в термостате при температуре 37 °С в течение 18–24 часов, затем измеряли диаметр зон чувствительности. [1]. В табл.4 приведены диаметры зон ингибирования роста микроорганизмов.

Таблица 4

Диаметры зон ингибирования роста микроорганизмов

1	25922	E.coli ATCC № 004136	32мм
2	25923	Staphylococcus aureus ATCC № 004134	15 мм
3	490	Candida albicans № 004146	22 мм
4	27853	Pseudomonas aeruginosa № 004135	12 мм
5	Hb	Bacillus cereus № 003597	25 мм

6	В-1	Bacillus subtilis № 003591	30 мм
---	-----	----------------------------	-------

Выводы. Установлено, что изучаемый препарат заметно удлиняет время сна, вызванное гексеналом и хлоралгидратом, обладает заметным спазмолитическим действием, уменьшает тонус и сокращения кишечника.

Препарат выражено увеличивает количество эритроцитов и лейкоцитов в периферической крови. Препарат заметно снижает уровень сахара в крови при гипергликемии, вызванной гипертоническим раствором глюкозы.

Препарат проявляет сильную антимикробную активность, а также может быть использован для лечения и профилактики различных инфекционных заболеваний.

Список литературы

1. Галынкин В. А., Заикина Н. А., Кочеровец В. И., Потехина Т. С. Методы исследования в фармацевтической микробиологии. – М.: Арнебия, 2007. – С. 260.
2. Государственная фармакопея Республики Беларусь. (ГФ РБ): Разработана на основе Европейской фармакопеи. Т.1. Общие методы контроля лекарственных средств / М-во здравоохран. Республики Беларусь, УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении» / под общ. ред. А. А. Шерякова. – Молодечно: Тип. «Победа», 2012. – С. 1220.
3. Микроэлементозы человека / А. П. Авцын, А. А. Жаворонков, М. А. Риш, Л. С. Строчкова. – М.: Медицина, 1991. – С. 305.
4. Ноздрюхина Л. Р., Гринкевич Н. И. Нарушение микроэлементного обмена и пути его коррекции. – М.: Наука, 1980. – С. 60.
5. Скальный А. В., Рудаков И. А. Биоэлементы в медицине. – М.: ОНИКС XXI век – Мир, 2004. – С. 8,139.
6. Фармакотерапия / Б. А.Салидра, Л. Т. Малая и др. – Харьков: НФАУ, 2000. – Т.1. – С.152.
7. Халматов Х. Х., Татарская А. З. Периодическая система и биологическая роль элементов. – Ташкент: Медицина, 1985. – С. 77.