

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Koning, A.-S.C., et al., Neuropsychiatric adverse effects of synthetic glucocorticoids: A systematic review and meta-analysis. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2023: P. dgad701.
2. Savas, M., et al., Systemic and local corticosteroid use is associated with reduced executive cognition, and mood and anxiety disorders. Neuroendocrinology, 2020. 110(3-4): P. 282-291.
3. Amatruda, J.F., et al., Zebrafish as a cancer model system. Cancer cell, 2002. 1(3): P. 229-231.
4. Sharma, P., et al., Zebrafish (Danio rerio): A potential model for nephroprotective drug screening. Clinical Queries: Nephrology, 2014. 3(2-4): P. 97-105.
5. Sanders, G.E., Zebrafish housing, husbandry, health, and care: IACUC considerations. ILAR journal, 2012. 53(2): P. 205-207.
6. Egan, R.J., et al., Understanding behavioral and physiological phenotypes of stress and anxiety in zebrafish. Behavioural brain research, 2009. 205(1): P. 38-44.
7. Kalueff, A.V., et al., Towards a comprehensive catalog of zebrafish behavior 1.0 and beyond. Zebrafish, 2013. 10(1): P. 70-86.

Сведения об авторах

А.С. Слободчикова – студент биологического факультета

А.В. Жданов* – ассистент департамента биологии и фундаментальной медицины

С.Л. Хацко – заведующий анатомо-физиологической лаборатории

Д.В. Дианов – аспирант

Information about the authors

A.S. Slobodchikova – Student of Biology Faculty

A.V. Zhdanov* – Assistant

S.L. Khatsko – Supervisor of Anatomical and Physiological laboratory

D.V. Dianov – Aspirant

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

sanya.zhdanov.1996@mail.ru

УДК: 615.015.11

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ РЯДА БЕНЗИМИДАЗОЛОВ

Смирнова Карина Дмитриевна¹, Бегунов Роман Сергеевич¹, Неганова Маргарита Евгеньевна²

¹Факультет биологии и экологии

ФГБОУ ВО «Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова» Минобрнауки России

Ярославль, Россия

²ФГБУН «Институт физиологически активных веществ Российской академии наук»

Черноголовка, Россия

Аннотация

Введение. Проблема онкологических заболеваний на сегодняшний день является приоритетной для медицины и человечества. Известно, что высокоперспективными противоопухолевыми препаратами являются производные бензимидазола. **Цель исследования** – изучение биологической активности производных бензимидазола. **Материал и методы.** Были исследованы бензимидазол и 12 его новых производных. Изучена антиоксидантная активность, механизмы её действия, противоопухолевая активность, влияние веществ на трансмембранный потенциал митохондрий и скачок митохондриальной проницаемости (СМП). **Результаты.** Исследуемые соединения эффективно ингибировали процесс ПОЛ (перекисное окисление липидов), предотвращая образование канцерогенных агентов в клетке. Механизмом антиоксидантного действия для веществ 5 и 13 являлась прямая антирадикальная активность. Соединения 4, 6, 7, 8 сильно деполаризовали мембрану, приводя к полному ингибированию набухания митохондрий. Наибольшей цитотоксической активностью обладали соединения 4 и 13, снижающие выживаемость клеточных линий нейробластомы (SH-SY5Y), аденокарциномы шейки матки (Hela), тетракарциномы яичников (PA-1) и почки эмбриона человека (Hek-293). **Выводы.** Проявление наибольшей антиоксидантной активности наблюдалось у вещества 2, что может быть обусловлено наличием метильного радикала в структуре исследуемого вещества. Соединения 5 и 13 являются антиоксидантами прямого действия, способными связывать свободные радикалы с образованием менее активных или неактивных радикалов. Антирадикальное действие, возможно, связано с присутствием аминогруппы и трифторметильного заместителя в структуре веществ. Трифторметильный радикал в сочетании с галогенами или нитрогруппой облегчает транспорт исследуемых соединений через биологические мембраны и приводит к сильной деполаризации митохондриальной мембраны, подавляя набухание митохондрий. Наибольшей цитотоксической активностью обладали соединения 4 и 13, с различными механизмами действия. Вещество 4 может быть рекомендовано к дальнейшим исследованиям противоопухолевой активности ввиду его безопасности для здоровых клеток человека.

Ключевые слова: производные бензимидазола, биологическая активность, противоопухолевая активность, ТБК-тест, ДФПГ-тест, МТТ-тест, трансмембранный потенциал, набухание митохондрий.

BIOLOGICAL ACTIVITY OF A NUMBER OF BENZIMIDAZOLES

Smirnova Karina Dmitrievna¹, Begunov Roman Sergeevich¹, Neganova Margarita Evgenievna²

¹Department of Biology and Ecology

Yaroslavl State University named after P. G. Demidov

Yaroslavl, Russia

²Institute of Physiologically Active Compounds Russian Academy of Sciences

Chernogolovka, Russia

Abstract

Introduction. The problem of oncological diseases is a priority for medicine and humanity today. Benzimidazole derivatives are known to be highly promising antitumor drugs. **The aim of the study** is to analyze the biological activity of benzimidazole derivatives. **Material and methods.** We investigated benzimidazole and 12 of its new derivatives for the first time. We studied the antioxidant activity, the mechanisms of its action, antitumor activity, the effect of substances on the transmembrane potential of mitochondria and the jump in mitochondrial permeability (JMP). **Results.** The studied compounds inhibited the process of lipid peroxidation (LP) effectively, preventing the formation of carcinogenic agents in the cell. direct antiradical activity was a mechanism of antioxidant action for substances 5 and 13. Compounds 4, 6, 7, 8 depolarized the membrane strongly, leading to complete inhibition of mitochondrial swelling. Compounds 4 and 13 had the highest cytotoxic activity; they reduced the survival of neuroblastoma (SH-SY5Y), cervical adenocarcinoma (Hela), ovarian tetracarcinoma (PA-1) and human embryo kidney (Hek-293) cell lines. **Conclusion.** We observed the manifestation of the greatest antioxidant activity in substance 2, which may be due to the presence of a methyl radical in the structure of the substance under study. Compounds 5 and 13 are direct-acting antioxidants that are capable of binding free radicals to form less active or completely inactive radicals. This is due to the presence of an amino group and a trifluoromethyl substituent in the structure of substances. The trifluoromethyl radical facilitates the transport of the studied compounds through biological membranes in combination with halogens or a nitro group, leading to strong depolarization of the mitochondrial membrane and suppressing mitochondrial swelling. We have determined that compounds 4 and 13 have the highest cytotoxic activity with different mechanisms of action. We recommend substance 4 for further studies of antitumor activity due to its safety for healthy human cells.

Keywords: benzimidazole derivatives, biological activity, antitumor activity, TBK test, DPH test, MTT test, transmembrane potential, mitochondrial swelling.

ВВЕДЕНИЕ

К широко распространенным биологически активным гетероциклическим соединениям относят бензимидазол, который является важнейшим фармакофором, и его производные. Благодаря разнообразным видам проявляемой биологической активности, они широко применяются в качестве лекарственных препаратов. Известно, что у производных бензимидазола обнаруживают свойства, позволяющие считать их потенциально успешными в противоопухолевой терапии. Поиск веществ для создания новых эффективных препаратов для химиотерапии злокачественных новообразований из представителей данного класса является актуальным высокоперспективным направлением.

Цель исследования – изучение биологической активности бензимидазола и его производных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объект исследования: бензимидазол и 12 его производных с различными фармакофорными фрагментами (Рис. 1). Все биологические эксперименты проведены во ФГБУН Институте физиологически активных веществ Российской академии наук.

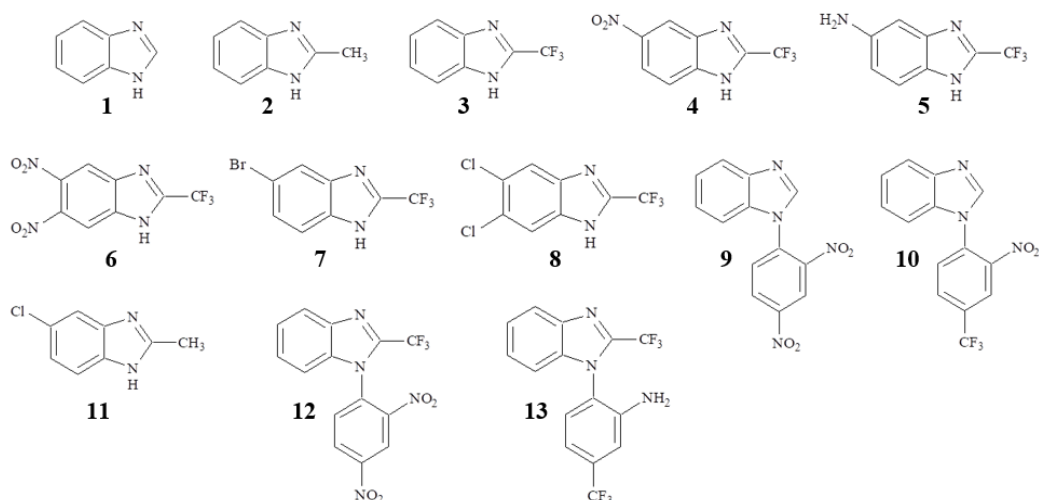


Рис.1 Структура бензимидазола и его производных

Исходный раствор бензимидазола и его производных готовили в диметилсульфоксиде в концентрации 100 мкМ. Исследования биологической и противоопухолевой активности соединений осуществляли в Институте физиологически активных веществ (ИФАВ РАН) ФГБУН ФИЦ проблем химической физики и медицинской химии РАН.

Эксперименты по выявлению биологической активности исследуемых веществ проводили на клетках головного мозга и митохондриях печени самцов нелинейных беспородных крыс. Все манипуляции с животными соответствовали решениям комиссии по Биоэтике ИФАВ РАН. Приготовление гомогената мозга и выделение митохондрий печени крыс для исследований проводили по методу N. R. Sims [1]. Антиоксидантную активность соединений изучали на модели ПОЛ гомогената мозга крыс. Уровень ПОЛ определяли по модифицированному для проведения в плащечном формате ТБК-тесту (на основе реакции 2-тиобарбитуровой кислоты). Для оценки антирадикальной активности использована методика измерения кинетики восстановления молекул стабильного свободного радикала ДФПГ (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил) антиоксидантами, основанная на способности отщеплять атом водорода от соединений с фенольными группами. Трансмембранный потенциал митохондрий измеряли с помощью определения зависимости поглощения и флуоресценции потенциал-зависимого индикатора сафранина А от энергизации митохондрий. Исследование влияния веществ на процесс СМП (набухание) осуществлялось методом регистрации светопропускания суспензии органелл.

Изучение противоопухолевой активности осуществляли на клеточных культурах опухолевых и псевдонормальных линий путём выявления цитотоксических свойств бензимидазола и его производных. Была определена митохондриальная активность клеток МТТ-тестом, основанным на восстановлении 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолиума бромид (МТТ) клеточными ферментами – оксидоредуктазами [2]. В результате восстановления образовывался водонерастворимый формазан, количество которого коррелировало с количеством жизнеспособных клеток.

Все эксперименты были проведены с использованием спектрофотометрии на планшетных анализаторах Victor 3 (Perkin Elmer, USA) и Cytation 3 (BioTek Instruments, USA).

Статистическая обработка данных включала вычисление описательных статистик, величины IC_{50} , проведение однофакторного дисперсионного анализа и параметрического теста Даннетта для сравнения полученных данных с контролем с помощью программ Microsoft Office Excel 2016 (Microsoft Corp., USA) и GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, USA).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Была оценена активность ПОЛ с помощью качественной реакции на малоновый диальдегид (МДА) – конечный продукт деструкции липидов мембран (Рис. 2). Соединения 2, 5, 8, 9, 10, 12, 13 эффективно ингибировали процесс ПОЛ, предотвращая образование канцерогенных агентов в клетке.

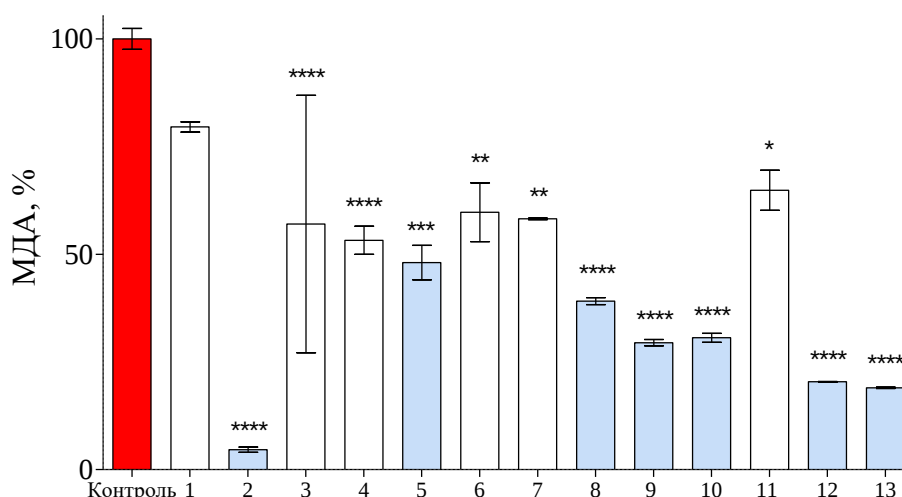


Рис. 2 Средние значения Fe(II)-индуцированного ПОЛ гомогената мозга крыс со стандартной ошибкой под влиянием исследуемых соединений. Статистически значимые отличия отмечены * - $P<0,05$; ** - $P<0,01$; *** - $P<0,001$; **** - $P<0,0001$

У производного бензимидазола 2 наблюдалась наибольшая антиоксидантная активность, в 21 раз превышавшая контроль. Для более углубленного изучения механизма, лежащего в основе антиоксидантного действия исследуемых веществ, мы произвели оценку их антирадикальной активности в модельных химических системах. Эксперимент показал, что вещества 5 и 13, ранее показавшие антиоксидантные свойства, проявили ярко выраженную прямую антирадикальную активность по ДФПГ-тесту.

В экспериментах с митохондриями печени крыс соединения 4, 7, 8 в концентрации 10 мкМ и 6 в концентрации 100 мкМ, приводили к деградации митохондрий за счёт сильной деполяризации мембраны, ингибируя набухание органелл. Остальные производные не деполяризовали мембрану и не подавляли СМП митохондрий.

В последнем эксперименте было исследовано влияние веществ на выживаемость клеточных культур различного происхождения. Перспективными противоопухолевыми агентами оказались соединения 4 и 13. Остальные не рассматривались в качестве таковых, так как показанные ими значения $IC_{50} \geq 100$ мкМ считаются слишком высокими ввиду своей возможной токсичности для организма в целом.

Таблица 1.

IC_{50}^* бензимидазола и его производных

№ вещества	Цитотоксичность						
	Нер-2 Карцинома гортани человека	A-549 Карцинома лёгкого человека	SH-SY5Y Нейроблас- тома человека	Hela Аденокарци- нома шейки матки человека	PA-1 Тетракарци- нома яичника человека	MCF-7 Аденокарци- нома молочной железы человека	Hek-293 Почка эмбрион а человека
4	≥ 100	≥ 100	$22,50 \pm 0,15$	$72,28 \pm 0,65$	≥ 100	≥ 100	≥ 100
13	$66,75 \pm 0,06$	$46,29 \pm 0,16$	$52,39 \pm 0,52$	$24,86 \pm 0,09$	$28,92 \pm 0,07$	$59,22 \pm 0,04$	$68,59 \pm 0,06$

Примечание: * IC_{50} мкМ – значение концентрации, вызывающее 50% ингибирование роста клеточной популяции. Показатели IC_{50} указаны со стандартным отклонением.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведённых экспериментов показали, что вещество 2 наиболее эффективно подавляло процесс ПОЛ. Вероятно, это связано с тем, что в его структуре находится метил-радикал, улучшающий связываемость с биорецепторами за счет ван-дер-ваальсовых сил [3]. Механизмом антиоксидантного действия для соединений 5 и 13 является антирадикальная активность. Данный механизм классифицирует эти вещества как антиоксиданты прямого действия, способные связывать свободные радикалы [4]. Проявление антирадикальных свойств предположительно обусловлено наличием трифторметильного заместителя и аминогруппы.

Митохондрии, несомненно, играют ключевую роль в апоптозе клетки, в регуляции кальциевого гомеостаза и в обеспечении клетки энергией. Таким образом, оценка влияния исследуемых соединений на трансмембранный потенциал и набухание митохондрий крайне важны для отбора потенциальных противоопухолевых препаратов. Соединения 4, 6, 7 и 8 препятствуют взаимодействию кальция с компонентами митохондриальной поры, приводя к полному ингибированию набухания митохондрий. Они имеют общие закономерности строения: в структуре присутствует трифторметильный радикал, который обеспечивает липофильность и облегченное прохождение через мембраны [5]. Наличие атомов галогенов и нитрогруппы усиливает биологическую активность веществ [6].

В эксперименте с клеточными культурами мы изучили токсичность исследуемых соединений методом МТТ-теста. Наибольшей цитотоксической активностью обладали соединения 4 и 13, в структуре которых находился трифторметильный заместитель, позволявший легче проникать в клетки [5]. Однако, оба производных имели различные механизмы действия. Вещество 13, являющееся антиоксидантом с механизмом антирадикальной активности, благодаря amino- и трифторметильной группе в своём строении, было в разной степени токсично для всех исследуемых опухолевых и псевдонормальных клеточных линий. Наибольшее цитотоксическое действие оно проявляло в отношении линий HeLa и PA-1. Соединение 4 показало селективное действие: высокую токсичность для SH-SY5Y, меньшую для HeLa и отсутствие токсичности для линии нормальных клеток Hek-293. Проявление цитотоксической активности данного вещества, возможно, связано с сильной деполяризацией митохондриальной мембраны, нарушающей работу митохондрий посредством наличия нитро- и трифторметильной группы.

Вещество 4 может быть рекомендовано к дальнейшим исследованиям противоопухолевой активности ввиду его безопасности для здоровых клеток человека.

ВЫВОДЫ

1. Выявлено, что проявление наибольшей антиоксидантной активности наблюдалось у вещества 2, что может быть обусловлено наличием метильного радикала в структуре исследуемого вещества.

2. Соединения 5 и 13 являются антиоксидантами прямого действия, способными связывать свободные радикалы с образованием менее активных или неактивных радикалов. Антирадикальное действие, возможно, связано с присутствием аминогруппы и трифторметильного заместителя в структуре веществ.

3. Производные бензимидазола 4, 6, 7, 8 сильно деполяризовали митохондриальную мембрану, полностью подавляя набухание митохондрий и препятствуя апоптозу. Это, вероятно, было обусловлено присутствием в молекуле трифторметильного радикала, галогенов или нитрогруппы.

4. Наибольшей цитотоксической активностью обладали соединения 4 и 13, имеющие различные механизмы действия. Наиболее перспективным является вещество 4, которое может быть рекомендовано к дальнейшим исследованиям эффективности в качестве противоопухолевого препарата.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Sims, N. R. Rapid isolation of metabolically active mitochondria from rat brain and subregions using Percoll density gradient centrifugation / N. R. Sims // *Journal of Neurochemistry*. – 1990. – Vol. 55, № 2. – P. 698–707.
2. Niks, M. Towards an optimized MTT assay / M. Niks, M. Otto // *J. Immunol. Methods*. – 1990. – Vol. 130, № 1. – P. 149–151.
3. Арыстанова, Т. А. Общая фармацевтическая химия: учебник в 2 томах. Т. 1. / Т. А. Арыстанова. – Алматы: Эверо, 2021. – 640 с.
4. Хасанов, В. В. Методы исследования антиоксидантов / В. В. Хасанов, Г. Л. Рыжова, Е. В. Мальцева // *Химия растительного сырья*. – 2004. – №3. – С. 63–75.
5. Галкина, И. В. Основы химии биологически активных веществ: учебное пособие для вузов. / И. В. Галкина. – Казань: Казанский государственный университет. – 2009. – 152 с.
6. Synthesis, antiprotozoal and anticancer activity of substituted 2- trifluoromethyl- and 2-pentafluoroethylbenzimidazoles / M. Andrzejewska, L. Yépez-Mulia, R. Cedillo-Rivera [et al.] // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2002. – Vol. 37, № 12. – P. 973–978.

Сведения об авторах

К.Д. Смирнова* – студент факультета биологии и экологии

Р.С. Бегунов – кандидат химических наук, доцент

М.Е. Неганова – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

Information about the authors

K.D. Smirnova* – Student of Faculty of Biology and Ecology

R.S. Begunov – Candidate of Sciences (Chemistry), Associate Professor

M.E. Neganova – Candidate of Sciences (Chemistry), Senior Researcher

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

smirnovakard@gmail.com

УДК: 620.2

ОЦЕНКА ПОТРЕБИТЕЛЬСКИХ ПРЕДПОЧТЕНИЙ ПРИ ВЫБОРЕ ВИТАМИНОВ

Солодченко Виктория Александровна, Степанова Полина Святославовна, Мельникова Ольга Александровна

Кафедра фармации

ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России

Екатеринбург, Россия

Аннотация

Введение. Витамины необходимы организму для нормального протекания химических реакций. Недостаточное поступление витаминов с пищей приводит к развитию гиповитаминозов. Их признаками могут быть такие неспецифические симптомы, как быстрая утомляемость, общая слабость, снижение концентрации внимания, пониженная работоспособность, плохая сопротивляемость инфекциям, повышенная раздражительность, изменения состояния кожи и слизистых оболочек. **Цель исследования** – оценить предпочтения потребителей при выборе препаратов витаминов. **Материал и методы.** Проведен анализ потребительских предпочтений в виде анкетирования разных групп людей, проживающих в городе Екатеринбург. **Результаты.** Всего в анкетировании приняло участие 52 респондента. Было выявлено, что 61,5% (32) считают нужным прием витаминов, 36,5% (19) считают принимать только одну группу витаминов, и лишь 1,9% (1) респондентов считают, что можно получить все необходимые витамины с пищей. Было сделано предположение, что опрошенная группа ежедневно испытывает большую нагрузку на организм и считает, что без дополнительного приема организму будет сложнее справиться с высокой нагрузкой. Среди принимающих витамины большим спросом пользуется витамин D (65,4%), менее популярен витамин С (55,8%). Витамины группы В принимают 24 человека (46,2%). А наименьшим спросом пользуются витамины Е и А: их доли составляют 21,2% и 25% соответственно. Большая часть опрошенных 5,8% (29) решила принимать витамины самостоятельно, что составило большинство. Лишь 8 человек (15,4%) принимают витамины согласно назначению врача. **Выводы.** Большинство опрошенных отмечают улучшение состояния здоровья при приеме витаминов. Наиболее популярным выбором респондентов оказались витамины D и C. Большая часть опрошенных начала принимать витамины без назначения врача. При этом большая часть респондентов считает одинаково эффективным прием как лекарственных препаратов, так и БАДов, содержащих витамины.

Ключевые слова: витамины, моновитамины, поливитамины, потребители, БАД, микроэлементы.

ASSESSING CONSUMER PREFERENCES WHEN CHOOSING VITAMINS

Solodchenko Viktoria Aleksandrovna, Stepanova Polina Svyatoslavovna, Olga Aleksandrovna Melnikova

Department of Pharmacy

Ural State Medical University

Yekaterinburg, Russia

Abstract

Introduction. Vitamins are necessary for the body to carry out normal chemical reactions. Insufficient intake of vitamins from food leads to the development of hypovitaminosis. Their signs may include such nonspecific symptoms as fatigue, general weakness, decreased concentration, decreased performance, poor resistance to infections, increased irritability, changes in the condition of the skin and mucous membranes. **The aim of the study** is to assess consumer preferences when choosing vitamin preparations. **Material and methods.** An analysis of consumer preferences was carried out in the form of a survey of different groups of people living in the city of Yekaterinburg. **Results.** A total of 52 respondents took part in the survey. It was found that 61.5% (32) consider it necessary to take vitamins, 36.5% (19) consider taking only one group of vitamins, and only 1.9% (1) of respondents believe that you can get all the necessary vitamins from food. It was assumed that the surveyed group experienced a large load on the body every day and believed that without additional intake it would be more difficult for the body to cope with the high load. Among those taking vitamins, vitamin D is in great demand (65.4%), while vitamin C is less popular (55.8%). 24 people (46.2%) take B vitamins. And vitamins E and A are in the least demand: their shares are 21.2% and 25%, respectively. Most of the respondents, 5.8% (29), decided to take vitamins on their own, which was the majority. Only 8 people (15.4%) take vitamins as prescribed by their doctor. **Conclusion.** Most respondents noted an improvement in their health when taking vitamins. The most popular choice of