

Н. А. Кленова, З. П. Белоусова

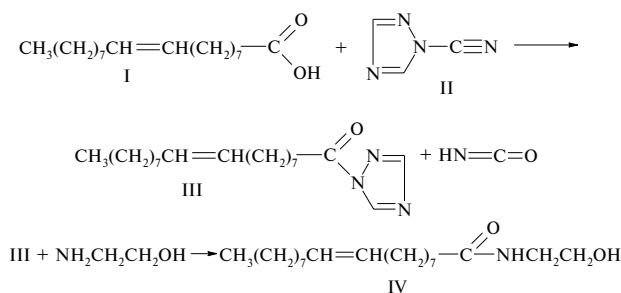
**МЕМБРАНОСТАБИЛИЗИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА N-(2-ОКСИЭТИЛ)АМИДА ЦИС-9-ОКТАДЕЦЕНОВОЙ КИСЛОТЫ**

Самарский госуниверситет

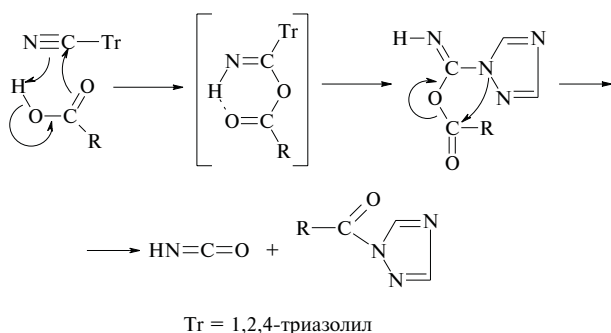
Производные жирных кислот оказывают регулирующее действие на работу кальциевых каналов клеток [1]. Эти свойства позволили авторам выдвинуть предположение о возможности защиты кардиомиоцитов от повреждающего действия ишемии с помощью этанол-амидных производных жирных кислот, что было подтверждено на морских свинках (наиболее сильное защитное действие оказывал олеоилэтаноламин) [1].

Известно, что эритроциты являются весьма чувствительными клетками к состоянию гипоксии и быстро повреждаются в условиях развивающегося ацидоза [2]. Нами был проведен синтез и изучено воздействие олеоилэтанолamina — N-(2-оксиэтил)амида *цис*-9-октадеценовой кислоты (IV) на эритроциты в условиях лактоацидоза.

В литературе имеются сведения о биосинтезе IV как промежуточного продукта метаболизма этанол-амина, а также N-ацилфосфатидилэтанолamina [1]. В связи с отсутствием публикаций о синтезе данного соединения в лабораторных условиях, мы предложили для его получения следующую схему:



Механизм синтеза триазолидов реакцией карбоновых кислот с 1-циано-1,2,4-триазолом (II) можно представить следующим образом:



Ранее II был успешно применен для активации карбоксильной группы аминокислот [3].

*Экспериментальная химическая часть*

**N-(2-Оксиэтил)амид-*цис*-9-октадеценовой кислоты (IV).** Растворяют 3,57 г (0,038 моль) олеиновой кислоты (I) в 40 мл диоксана, прибавляют 9,6 мл (0,03 моль) 1-циано-1,2,4-триазола (II) и кипятят смесь 1,5 ч. Ход реакции контролируют методом тонкослойной хроматографии на пластинках “Silufol-254” в системе хлороформ – метанол, 1:1, проявляя пятна III в парах йода ( $R_f = 0,23$ ). Выделяется изоциановая кислота, которая окрашивает лакмусовую бумагу в красный цвет и кристаллизуется в виде тримера на стенках обратного холодильника. К полученному раствору III в диоксане прибавляют 1,89 мл (0,03 моль) моноэтанол-амина. После кипячения в течение 30 мин образуется маслянистый продукт. Кипячение продолжают в течение 2 ч. Реакцию контролируют методом ТСХ (“Silufol-254”, хлороформ – метанол, 1:1). Диоксан отгоняют в вакууме. Полученный продукт IV для очистки от примесей олеиновой кислоты и этанолamina растворяют в хлороформе и раствор промывают сначала 0,05 н. раствором щелочи, а затем 0,025 М раствором серной кислоты. Раствор IV в хлороформе сушат над хлористым кальцием, а затем упаривают на роторном испарителе. Выход IV (в виде закристаллизовавшегося впоследствии светло-желтого масла) составил 6,5 г (65,6 %);  $R_f$  0,61; ИК-спектр  $\nu_{\text{max}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : O–H (спиртовая) — 3290; N–H (амидная) — 3440 и 3150; C=O (амидная) — 1650; N–H (амидная) — 1530; C–N (амидная) — 1400; C=C (в алкенах) — 1350; C=O (спиртовая) — 1195, 1134, 1020. ПМР-спектр  $\delta$ , м.д.: 3,905 с (1H, OH), 0,93 т (3H, CH<sub>3</sub>), 1,19–1,27 м (7CH<sub>2</sub>); 1,92–2,2 м (2H), 1,16–1,57 м (5CH<sub>2</sub>); 2,14–2,20 м (2H), 5,35–5,40 м (NH), 3,27–3,35 м (2H), 3,47–3,58 м (2H), 5,20–5,28 м (2H).

*Экспериментальная биологическая часть*

Цельную донорскую кровь человека инкубировали с добавлением олеоилэтанолamina (10 мкг/мл) и молочной кислоты (7,5 мкМ/мл) при 37 °С в течение 20 мин. В контрольную пробу добавляли растворители (этиловый спирт и 0,154 М хлористый натрий). С целью сохранения гематокрита объемы добавок составляли 0,01 часть от общего объема проб. Определяли скорость поглощения глюкозы, содержание АТФ, состояние гемоглобина, деформируемость клеток [4–8].

Добавление олеоилэтанолamina (IV) к цельной крови не изменяет содержание АТФ и скорость поглощения глюкозы эритроцитами, но приводит к достоверному изменению соотношения форм гемоглобина: увеличивается доля дезоксиформы (ДОК Нв) и оксиге-

Действие олеилэтаноламина (IV) на цельную донорскую кровь в присутствии молочной кислоты и без нее

Пробы	АТФ, мкМ/л	Скорость поглощения глюкозы, мкМ/мин	ДОК Нв, %	ОК Нв, %	МЕТ Нв, %	МС Нв, %	Деформируемость у.е.
Контроль (n = 15)	10,16 ± 0,09	16,07 ± 0,44	51,80 ± 0,05	45,57 ± 0,05	2,12 ± 0,08	13,66 ± 0,16	0,76 ± 0,03
V (n = 15)	10,15 ± 0,12	17,07 ± 0,29	52,27 ± 0,02 <i>P</i> < 0,01	46,03 ± 0,05 <i>P</i> < 0,01	1,76 ± 0,07 <i>P</i> < 0,01	9,36 ± 0,39 <i>P</i> < 0,01	1,20 ± 0,06 <i>P</i> < 0,01
Молочная кислота (n = 15)		5,71 ± 0,28 <i>P</i> < 0,01*	51,63 ± 0,03 <i>P</i> < 0,05*	45,33 ± 0,04 <i>P</i> < 0,01*	2,43 ± 0,08 <i>P</i> < 0,05*	14,01 ± 0,55	0,47 ± 0,03 <i>P</i> < 0,01*
Молочная кислота + V (n = 15)		10,02 ± 0,12 <i>P</i> < 0,01**	52,17 ± 0,04 <i>P</i> < 0,01**	45,81 ± 0,05 <i>P</i> < 0,01**	1,97 ± 0,03 <i>P</i> < 0,05**	9,91 ± 0,53 <i>P</i> < 0,01**	0,65 ± 0,03 <i>P</i> < 0,01**

\* *P* — по отношению к контрольной пробе; \*\* *P* — по отношению к пробе с молочной кислотой.

моглобина (ОК Нв) за счет снижения доли метформы гемоглобина (МЕТ Нв), а также уменьшается процент жестко связанного с мембраной белка (МС Нв), увеличивается деформируемость клеток (таблица).

Лактоацидоз сопровождается ускорением процессов дестабилизации клеток в условиях инкубации: значительно снижается скорость поглощения глюкозы, ухудшается деформируемость клеток, наблюдается тенденция к росту метформы гемоглобина и мембраносвязанного гемоглобина (таблица). Механизм дестабилизации связан с избытком протонов и сдвигом кривой диссоциации гемоглобина в сторону образования ДОК Нв, что сопровождается ускорением метгемоглобинообразования, углублением его в мембрану и ухудшением микровязкости мембраны.

Введение в инкубационную среду IV снижает повреждающее действие лактоацидоза и уменьшает скорость процессов дестабилизации в условиях избытка протонов: наблюдается достоверное улучшение процессов транспорта глюкозы, уменьшение доли метгемоглобина и мембраносвязанного гемоглобина, повышение способности клеток к деформации.

Таким образом, IV способствует защите эритроцитарных клеток в условиях избытка протонов. Кроме того, сам IV не только не оказывает повреждающего воздействия на эритроциты, но и стабилизирует метаболические процессы в клетках.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. В. В. Безуглов, М. Ю. Бобров, А. В. Арчаков, *Биохимия*, **63**(1), 27 – 37 (1998).
2. Н. А. Кленова, *Моделирование и прогнозирование заболеваний, процессов и объектов*, изд-во СамГМУ, Самара (1998), сс. 34 – 37.
3. П. П. Пурыгин, С. В. Паньков, *Ж. орган. химии*, **32**(6), 903 – 905 (1996).
4. *Лабораторные методы исследования в клинике* (ред. В. В. Меньшиков), Медицина, Москва (1987), сс. 230 – 234.
5. H. U. Bergmeyer, *Methods of Enzymatic Analysis*, Verlag: Chemie Weinheim, Bd. II (1974), ss. 1431 – 1435.
6. И. Б. Заводник, Е. А. Лапшина, *Биохимия*, **61**(1), 42 – 48 (1996).
7. З. С. Токтамысова, Н. Х. Биржанова, *Биофизика*, **35**(6), 1019 – 1020 (1990).
8. T. C. Tannert, K. Lux, *Acta biol. med. derm.*, **40**, 739 – 742 (1981).

Поступила 28.06.01