

ХЕРСОНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет біології, географії і екології

Кафедра біології людини та імунології

**БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ДЕЯКИХ ПРЕПАРАТІВ,
ОТРИМАНИХ ШЛЯХОМ РЕАКЦІЇ БІДЖИНЕЛІ**

Кваліфікаційна робота (проект)

на здобуття ступеня вищої освіти «магістр»

Виконала: студентка 212-М групи

Спеціальності 014.05 Середня освіта

(Біологія та здоров'я людини)

Освітньо-професійної програми Середня

освіта (Біологія та здоров'я людини)

Кондрашова Анастасія Ігорівна

Керівник к.б.н, доцент Бесчасний С.П.

Рецензент д.б.н, професор Ходосовцев О.Є.

Херсон – 2019

ЗМІСТ

ВСТУП.....	3
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ	6
1.1. Алкалоїди	6
1.1.1. Загальна характеристика алкалоїдів	6
1.1.2. Фізіологічна роль алкалоїдів	10
1.1.3. Характеристика істинних алкалоїдів та їх фармакологічна дія	13
1.1.4. Фізико-хімічні властивості алкалоїдів.....	15
1.1.5. Різноманітність груп алкалоїдів за механізмом дії на організм людини і тварин	20
1.2. Гетероцикли.....	22
1.2.1. Класифікації гетероциклів	23
1.2.2. Приклади конденсованих гетероциклічних сполук	25
1.2.3. Конденсовані шестичленні гетероцикли з декількома гетероатомами	26
1.3. Принцип реакції Біджинеллі.....	29
1.3.1. Продукти реакції Біджинеллі.	30
1.4. Фізіологія гладких м'язів	33
1.4.1. Біофізика скорочення гладкого м'яза	33
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	40
2.1. Організація дослідження	40
2.2. Методика ізоляції шлунку жаби	41
2.3. Реєстрація скорочень м'язів шлунку.....	42
2.4. Підготовка розчинів досліджуємих сполук.....	43
РОЗДІЛ 3. АНАЛІЗ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	46
ВИСНОВКИ	51
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	53
ДОДАТКИ.....	69

ВСТУП

Актуальність теми. Багатокомпонентні реакції являються сучасним методом отримання біологічно активних сполук. Одним із відомих прикладів таких реакцій є побудова тандемної хімічної реакції Біджинеллі. На основі механізму якої зростає кількість робіт, присвячених опису методам синтезу та новітній модифікацій вихідних компонентів, вивченню їх фізіологічної дії похідних реакції Біджинеллі. В даний час існує проблема створення ефективних та не токсичних лікарських засобів. Похідні пурина притягують увагу дослідників як клас гетероциклічних сполук, що мають широкий спектр біологічної активності. Продукти реакції Біджинеллі заслуговують на увагу дослідників, як клас органічних речовин з обширним спектром біологічної активності для модифікацій вже існуючих біологічно-активних матриць.

Такий інтерес до біохімії сполук Біджинеллі пояснюється основними факторами: по-перше, простота виконання синтезу, по-друге, широкий спектр біологічної активності похідних пурину загалом, по-третє, успіхи у відкритті біологічно активних сполук, які вже знайшли застосування у клінічній практиці. (протипухлинний препарат Монастрол, антигіпертензійні препарати SQ 32926, SQ 32547) [41].

Необхідність створення ефективних вітчизняних препаратів для медичної, фармацевтичної, агрономічної промисловостей потребує нових досліджень та методів реакційної здатності, а саме процесів їх циклоконденсації з утворенням нових гетероциклічних сполук з метою розширення біологічної активності похідних пурину, без сумніву, є актуальним завданням на сьогоднішній день.

У синтезі нових вискоефективних і малотоксичних лікарських засобів гетероцикліческой структури важливе місце займають похідні пурину -ксантіни. Нині широке застосування в медицині знаходять

пуринові алкалоїди (кофеїн, теофілін, теобромін), а також їх синтетичні аналоги, володіють різноманітними видами біологічної активності

Згідно з літературними даними до теперешнього часу серед речовин даного класу знайдені речовини, що проявляють анальгезуючі властивості, протимікробну, протигрибкову, протипухлинну, противірусну, противовоспалення, антиаретмічну, противотурбекульозну активність. На сьогодні виокремлений новий клас – блокатори кальцієвих каналів.

Мета: дослідити вплив деяких продуктів реакції Біджинеллі на активність скорочення гладенького м'яза.

Об'єкт дослідження - гладенька м'язова тканина шлунку жаби.

Предмет дослідження - вплив сполук-аналогів теофіліну на кальцієві канали смужки гладенького м'яза їстівної жаби (лат. *Pelophylax ridibundus*).

Об'єкт, предмет і мета дослідження визначили **завдання:**

1. Розглянути особливості біологічної дії препаратів отриманих в результаті реакції Біджинеллі;

2. З'ясувати вплив досліджуваної речовини №3, яка є продуктом реакції Біджинеллі на параметри скорочення гладенького м'яза шлунка жаби;

3. Визначити, яким чином впливає експериментальна сполука №4 на скорочення смужки гладенького м'яза шлунка;

4. Запропонувати можливі шляхи застосування досліджуваної сполуки, у зв'язку з виявленою їх біологічною активністю стосовно дії на скорочення гладенького м'яза шлунка холоднокрової тварини .

У роботі використали декілька груп **методів дослідження**. Теоретичні наукові методи: аналіз літературних першоджерел, узагальнення і систематизація одержаних даних. Емпіричні методи: експеримент, спостереження, статистичні методи роботи з графіками.

Наукова новизна одержаних результатів. У результаті проведених досліджень засобами лабораторного експерименту вперше: з'ясована фізіологічна властивість новосинтезованих похідних реакції Біджинеллі, в порівнянні з відомою речовиною – аналогом теофіліном; виявлена залежність дії речовин від їх концентрацій.

Практичне значення одержаних результатів. Результати дослідження можуть знайти застосування у фармакологічній промисловості. Виявлені фізіологічні властивості похідних реакції Біджинеллі дадуть змогу, в подальшому, підвищити ефективність медичних препаратів на основі новосинтезованих гетероциклічних сполук. Розроблені методики можна застосовувати у дослідній роботі біологів-магістрантів та на заняттях курсу з фізіології тварин і людини. Можливе впровадження дослідницької роботи в рамках наукового практикуму у закладах середньої освіти.

Апробація результатів дослідження. Основні положення та результати висвітлені у збірнику наукових та методичних праць «Метода (наука і техніка)», м. Херсон, Херсонський державний університет, 2019 р.

Публікації за темою магістерської роботи включають одну статтю у збірнику наукових праць.

Обсяг і структура роботи. Основна частина роботи складається з вступу, трьох розділів з оглядом літератури, описом методів дослідження і результатів експериментального дослідження, висновків за поставленими завданнями, списку використаної літератури. Текст магістерської роботи викладений на 60 сторінках друкованого тексту, ілюстрований 26 рисунками, та 3 додатки. Бібліографічний список включає 64 джерел.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1.1. Алкалоїди

Алкалоїдами називають групу органічних азотовмісних речовин, переважно рослинного походження, що мають вторинні рослинні метаболіти, які містять в структурі молекули одного або більше атомів нітрогену, мають лужний характер та швидку фармакологічну активність, що збільшує фізіологічний вплив на організм людини і тварин [16].

1.1.1. Загальна характеристика алкалоїдів. Алкалоїди - азотовмісні природні сполуки основного характеру. Назва «алкалоїд» (від *араб. Alqali* - луг і грец. - *eidos* - подібний) була запропонована в 1819 р. К.Мейснером. До цього вважалося, що в рослинах утворюються тільки кислі і нейтральні з'єднання, а в тварин - лужні. До теперішнього часу ідентифіковано більш 15000 алкалоїдів, їх містять майже 20% судинних рослин. Чисельно менше представлені алкалоїди, ніж в рослинах, у бактерій, грибів, морських безхребетних, комах і навіть ссавців [47].

Вважається, що еволюційно багаті на них клас покритонасінні (сімейства пасльонові, макові, маренові, бобові, жовтецеві, кутровие, лілійні і ін.). У голонасінних, хвощів і плаунів зустрічаються поодинокі представники, а у мохів і водоростей з їх низьким рівнем організації вони повністю відсутні [14].

Концентрація алкалоїдів в рослинах зазвичай невелика, від сотих і десятих частки відсотків; при утриманні 1-3% на суху масу їх відносять до вищих алкалоїдів. Зазвичай в рослині присутні суміші алкалоїдів, чисельність яких іноді перевищує 100 варіаційних представників. Вони

часто близькі за своєю будовою, серед них один або кілька основних алкалоїдів містяться в більшій кількості, а решта є мінорними похідними. Для деяких рослин характерна наявність єдиного алкалоїду, (наприклад, рицинин в насінні рицини *Ricinus communis* Молочайні), що обумовлює їх смертельну отруйність і який видаляється при виробництві касторового масла [29]. Таксономично споріднені види часто містять подібні алкалоїди, що використовується в сучасній систематиці (хемотаксономія), що на підставі філогенетичного принципу дозволило успішно провести цілеспрямований пошук і ідентифікацію нових алкалоїдів. Хемоспецифічність у близькоспоріднених видів і родів має місце, як правило, в разі складних за будовою сполук. Тоді як деякі відносно прості алкалоїди, наприклад кофеїн, виявлені у 7 неспоріднених видів [25].

У клітинах алкалоїди містяться в формі водорозчинних органічних солей (яблучна, лимонна, винна і ін.) і неорганічних кислот клітинного соку, тому виявляються тільки в вакуолізованих клітинах і локалізуються головним чином в активно зростаючих тканинах, епідермальних та гіподермальних клітинах, обкладанні судинних пучків, молочних судинах. Алкалоїди накопичуються в спеціалізованих клітинах - ідіобластах таким чином, що відбувається дегенерація протопласта, а клітинна стінка просочується речовинами як би «запечатуює» алкалоїди всередині клітин, концентрація яких може в 70 разів перевищувати токсичну дозу для фітопатогенних грибів [40].

В свою чергу, концентрація та мінливість вмісту алкалоїдів в рослині залежить від змін зовнішніх і внутрішніх факторів:

- онтогенетичний і органоспецифічний фактор. Певні органи лікарських рослин, накопичують фізіологічно активні речовини в максимальних концентраціях, служать лікарською сировиною і є видоспецифічними. Це справедливо і щодо високоалкалоїдних рослин. Наприклад, у блекоти чорної *Hyoscyamus niger* і дурману *Datura*

stramonium (Пасльонові) найбільш високий вміст алкалоїдів в насінні, тоді як у маку снотворного і барвінку рожевого - в зрілому насінні їх практично немає. Встановлено зміну спектра алкалоїдів і в онтогенезі: у 2-тижневих проростків маку виявляються тільки наркотин, на 2-й місяць зростання - кодеїн, морфін, папаверин, до фази опійної стиглості в зелених коробочках, коли досягається максимум вмісту алкалоїдів, з'являються тебаїн і нарцеїн [12,14]. Вивчення чистотілу великого *Chelidonium majus* (Макові) показало, що найбільш високий вміст алкалоїдів (2.3%) спостерігається в самому початку вегетації, після виходу з-під снігу, і восени в кінці цвітіння. При цьому їх накопичення різко зростає в дворічному віці і в подальшому істотно не змінюється. Часто алкалоїди накопичуються не в тих органах, де були синтезовані [4]. Нікотин синтезується в коренях тютюнового рослини *Nicotiana tabacum*, звідки піднімається в надземні органи і накопичується в компартментах клітин мезофіла листка (вакуоль, ЕПР, пластиди). Встановлено, що циклічна система алкалоїдів пасльонових формується в коренях, а в листі зазнає значних модифікації. Коливання вмісту алкалоїдів в певних органах можуть бути також пов'язані з динамікою біосинтетичних і транспортних процесів, в тому числі добових, що до теперішнього часу залишається слабо вивченим процесом [18];

- *кліматичний фактор*. Відомо, що найбільша кількість алкалоїдовмісних рослин росте в субтропічних і тропічних зонах, їх кількість значно менше в помірних широтах. Ще Ч. Дарвін відзначав, що рослина яка сильно отруйна в звичних умовах зростання, втрачає здатність до синтезу алкалоїду в горах, або в протилежних кліматичних умовах. Ефедр, наприклад, при зростанні в Європі майже втрачає алкалоїди, тоді як в Середній Азії ці ж види є високо алкалоїдними [24];

- *сезонні фактори*. Зазвичай вміст алкалоїдів підвищується в надземних органах до фази цвітіння, до осені поступово знижується, а заморозки можуть зменшувати до мінімальних залишків. Наприклад,

після заморозків смертельно отруйну чемерицю *Veratrum lobelianum* (Лілейні), що є джерелом інсектицидів, які використовують як протипедикульозний засіб, домашні тварини поїдають без шкоди (рівень алкалоїдів знижується до 0.01%) [40];

- фактор освітленості. Тривалість сонячного дня та інтенсивність сонячного світла, як правило, позитивно впливають на накопичення алкалоїдів. Відомо, що ультрафіолетові промені сприяють їх біосинтезу, тому в умовах високогір'я (оптимум 1500-2000 м над рівнем моря) відзначається збільшенням вмісту алкалоїдів. Але застосовується це правило не для всіх, існують виключення;

- ґрунтово-субстратні фактори. Забезпеченість мінеральними речовинами, в першу чергу, азотом позитивно впливає на зміст алкалоїдів, що призводить до їх збільшення в 4-10 разів. Збільшення виходу алкалоїдів з сировини може відбуватися і за рахунок підвищення врожаю свіжої маси рослин [30].

Великий обсяг експериментального матеріалу отримано на культурі клітин і тканин різних видів лікарських рослин, де за допомогою мутагенезу і варіювання умов культивування штамів - сверхпродуцентів вдалося підвищити вміст фармакологічно цінних алкалоїдів [61]. Таким чином, вміст алкалоїдів генетично детермінований, знаходиться під контролем розвитку організму і реалізується в залежності від комплексу внутрішніх і зовнішніх умов, що з часом піддаються видозмінам кількості і їх концентрації та відповідно властивостям речовини. Виявлення еколого-фізіологічних особливостей накопичення алкалоїдів має не тільки важливе теоретичне, а й практичне значення для оптимізації збору лікарської сировини, а також умов культивування лікарських рослин, в тому числі *in vitro* [7, 59].

1.1.2. Фізіологічна роль алкалоїдів. Найперша точка зору 1905 р, що відносила алкалоїди до кінцевих продуктів розпаду азотистих

з'єднань за аналогією з сечовою кислотою і сечею у тварин, належала досліднику Пікте. Основним аргументом служили факти збільшення з віком рослин вмісту алкалоїдів та їх різноманітності. Однак, це припущення не могло дати відповідь на питання – чому вони мають настільки складну структуру і не присутні у всіх рослинах. Порухення питання про значення алкалоїдів для самих рослин було принципово важливим у розвитку фітохімії і фітофізіології [44].

Запропоноване пізніше положення надало алкалоїдам характеристик запасних і транспортних речовин, що пов'язані, в першу чергу, з азотно-білковим обміном. Це підтверджується фактами підвищення вмісту алкалоїдів при посиленому азотному харчуванні, а також транспорту в надземні органи з коренів, де відбувається їх біосинтез і одночасно первинна асиміляція азоту. Тому алкалоїди розглядаються як одна з форм забезпечення знешкодження аміаку і резервування азоту в клітинах.

Алкалоїди прийнято відносити до важливих конститутивних елементів хімічного захисту рослин від поїдання фітофагами і інфекцій різної етіології. Останнім часом отримані докази, що алкалоїди можуть бути залучені в систему індукційного захисту. Так, концентрація нікотину у тютюнових рослин *N. tabacum* зростає при патологіях (зараження вірусом тютюнової мозаїки) і атаці комах майже в 10 разів, причому навіть в інтактних листках синтезується N-ацілнікотін, до якого чутливі нікотин-резистентні фітофаги. На прикладі дикого тютюну *N. attenuata* показано удосконалення відносин жертва-хижак в процесі хімічної коеволюції: рослини не виробляють нікотин при нападі саме нікотин-стійких форм комах, а підсилюють біосинтез летючих монотерпеноїдів, що привертають природних ворогів спеціалізованих фітофагів. Детекція рослиною чутливості до нікотину шкідників, визначається складом слини шляхом утворення кон'югатів жирних кислот з амінокислотами [19].

Індукція біосинтезу захисних вторинних метаболітів, в тому числі алкалоїдів різних груп, через збільшення стресового фітогормону жасминової кислоти і її летючого похідного - метілжасмоната, про що свідчать позитивні результати обробки *in vitro* екзогенних метілжасмонатом більш ніж 140 видів рослин [60]. Аналогічно внесення іншого стресового фітогормону абсцизової кислоти до калусних культур збільшувало вміст аймалінових алкалоїдів на 50-80% [9].

Розподіл алкалоїдів у *Coffea arabica*, досить нетиповий: в бруньках, коли листя повністю закриті двома прилистками і восковим шаром, вміст кофеїну низький. При формуванні листя воно збільшується до максимуму у розгорнутих листях, а потім знижується з подальшим накопиченням в клітинах, з яких розвивається плід. Отже, при розвитку листа механічний захист змінюється хімічним, адже з віком більш важливим стає захист репродуктивних органів [42].

Однак накопичення алкалоїдів не є універсальним захистом від фітофагів. Відомо, що кози без шкоди для себе поїдають листя тютюну, оскільки їх слина містить речовини, що зв'язують певні алкалоїди; хоча більшість домашніх тварин схильна до отруєнь різноманітними класами алкалоїдів, тому необхідно враховувати це при випасі [26].

Спеціалізовані фітофаги, перш за все комахи, в процесі коєволюції навчилися використовувати рослинні алкалоїди для власного захисту.

Існує припущення про регулюючу здатність росту, щонайменше в окремі етапи життєвого циклу, це функції алкалоїдів. Так, видалення бічних квіткових бруньок у *N. tabacum* призводило до затримки росту кореня, з одного боку, і до різкого зменшення вмісту нікотину в листі, з іншого. Цікаво, що у клітин каллуса в присутності кинетина мітка екзогенного нікотину виявляється у фракції білків, в його відсутності – у фракції мембран і клітинних оболонок; при цьому роль індуктора ризогенезу бере на себе нікотин. Алкалоїди можуть виступати в якості фотосенсибілізаторів, які підсилюють чутливість клітин до окремих

променів спектру, прискорюючи процеси росту і розвитку, зокрема, плодоносіння [37]. Можливо цим пояснюється переважна локалізація алкалоїдів в епі- і гіпо- дермальних клітинах, причому максимум їх вмісту найчастіше припадає на період цвітіння. Разом з тим алкалоїди можуть пригнічувати проростання насіння, особливо інших видів, тобто проявляти алелопатичні властивості, що впливають на взаємовідносини в фітоценозах [35].

Алкалоїди беруть участь в підтримці іонного балансу клітин завдяки хелатуванню - природному процесу в якому група органічних речовин, яка реагує з певними іонами металів, в результаті чого утворюються складні речовини і основних властивостей, що передбачає наявність кореляції між вмістом органічних кислот і алкалоїдів. Наприклад, в *N. rustica* поряд зі значною кількістю нікотину зміст лимонної кислоти досягає до 18% від сухої ваги листя, що використовується для її промислового отримання [21].

Слід зазначити, що в залежності від конкретної ситуації алкалоїди можуть виступати в якості окислювачів, стабілізаторів, метилюючих агентів, антиоксидантів і біокаталізаторів біохімічних процесів. Це і вищевикладене підтверджує поліфункціональну роль алкалоїдів в рослинах.

При розгляді алкалоїдів у курсі фармакогнозії використовується класифікація, яка бере до уваги шлях біосинтезу і відповідно до цього розподіляє їх на три групи:

- істинні алкалоїди, що мають істинні гетероциклічні кільця і біосинтетично походять з алкалоїдогенних амінокислот, або з нікотинової кислоти чи антранілової;
- протоалкалоїди, що містять азот не у складі гетероциклів, але утворюються з амінокислот;
- псевдоалкалоїди (ізопреноїдні алкалоїди), що утворюються без участі амінокислот і об'єднуються в групу незалежно від наявності

гетероциклу (практично всі псевдоалкалоїди мають терпеноїдне походження) [15].

Алкалоїди у рослинах містяться переважно у вигляді розчинених солей, тому легко екстрагуються водою, навіть холодною. У лужному середовищі випадають основи алкалоїдів, не розчинні у воді, але добре розчинні в органічних розчинниках. Останню властивість використовують для очищення речовин та під час отримання з них препаратів. Сьогодні у науковій медицині приблизно 11% лікарських засобів створені на основі алкалоїдів. Всі вони належать до сильнодіючих препаратів через надто сильну фармакологічну активність. Рослини, що містить ці сполуки, дуже обмежено застосовують у народній медицині й фітотерапії. Призначення таких рослин небезпечне тому, що кількісний вміст алкалоїдів у них є величиною змінною, що залежить від умов зростання, часу заготівлі та інших чинників [56]. Як наслідок, неможливо точно визначити дозу сировини для приготування ліків і можна замість лікувального ефекту при високій концентрації речовин отримати токсичний або при низькій концентрації не отримати жодного ефекту. Більш раціональним є використання готових дозованих медичних препаратів, що є очищеними субстанціями. Обов'язково слід пам'ятати, що алкалоїди, на відмінну від інших класів природних сполук (крім серцевих глікозидів), працюють на надклітинному рівні, як і синтетичні препарати, тому можуть бути несумісні з фармакотерапевтичними засобами [24, 45].

1.1.3. Характеристика істинних алкалоїдів та їх фармакологічна дія. Істинні алкалоїди утворюють групи сполук, до складу яких входять гетероцикли. Вони біогенетично походять від амінів, які утворюються внаслідок декарбоксілювання амінокислот [23].

На цей час відомі амінокислоти – біогенетичні попередники шести груп алкалоїдів:

- Група орнітину, до якої належать піролідінові, піролізидинові, тропанові і деякі піридинові алкалоїди;
- Група лізину є попередником хінолізидинових алкалоїдів родини Fabaceae (тип лупінану) і деяких піперидинових алкалоїдів;
- Група тирозину дає початок багатьом ізохіноліновим алкалоїдам;
- Група триптофан – прекурсор індольних, хінолінових алкалоїдів цинхони, деяких піридинових та піперидинових алкалоїдів;
- Група гістидину, біогенетичного алкалоїду, до якої належать імідазольні алкалоїди типу пілокарпіну;
- Група пурину будується з гліцину й аспарагінової кислоти.

Екстрагуються алкалоїди та їх синтетичні аналоги з лужного середовища органічними розчинниками, оскільки вони характеризуються основними властивостями, що зумовлені наявністю в їх молекулі атому нітрогену. Це можуть бути первинні, вторинні або третинні аміногрупи, гетероцикли, що містять нітроген, тощо. Атом нітрогену цих угруповань має вільну пару електронів і утворює хімічні зв'язки із акцепторами вільної пари електронів. Найчастіше акцептором є йон водню, який приєднується до нітрогеновмісних угруповань утворюючи сполуки по типу амонію, і набуваючи при цьому позитивного заряду. Таким чином органічні сполуки, що містять нітрогеновмісні угруповання будуть утворювати органічні катіони, які з аніонами утворюють солі, іонні асоціативні та комплексні сполуки. Реагенти, які утворюють з органічними катіонами малорозчинні сполуки, отримали назву реактивів групового осадження алкалоїдів. Це пов'язано з тим, що історично першою групою органічних сполук з такими властивостями були алкалоїди, виділені із рослин [39]. Як правило, до реактивів групового осадження алкалоїдів відносяться речовини, що у водних розчинах утворюють велику кількість аніонів.

Найбільш широкого використання набули комплексні сполуки і гетерополікислоти. Реакції з використанням реактивів групового

осадження алкалоїдів не є специфічними, тому для одержання більш достовірних результатів аналізу потрібно використовувати інші методи. Для виявлення лікарських засобів було розроблено ряд реакцій з реактивами, які з багатьма сполуками вступали у різні взаємодії, зокрема реакції дегідратації, окислення, конденсації з альдегідами, нітрування та інших, в результаті яких утворювалися забарвлені сполуки. Отруєння, викликані алкалоїдами різних хімічних груп: похідні тропану, хіноліну, ізохіноліну, ациклічні алкалоїди. В організмі ці сполуки метаболізують. Продукти метаболізму можуть проявляти фармакологічну дію [37].

1.1.4. Фізико-хімічні властивості алкалоїдів. За своїм хімічним складом алкалоїди містять: С, Н, N. Переважна більшість представників алкалоїдів містить кисень. У широкому розумінні алкалоїди є первинними, вторинними, третинними амінами та похідними четвертинних амонієвих основ. Алкалоїди можуть існувати у вільному стані (у вигляді основ) та у вигляді солей або алкалоїдів N-оксидів. Рослинна сировина алкалоїдів має гіркий смак, представлена твердими кристалічними речовинами у формі солей органічних кислот: лимонної, щавлевої, янтарної, маленової, оцтової та ін. У лікарських препаратах це переважно гідро хлориди, нітрати, фосфати, іноді тар трати. За кольором безбарвні, рідше пофарбовані (наприклад хелеритин-жовтого кольору, сангвінарін - помаранчевого кольору) виступають кисневомістними алкалоїдами, та через отруйність алкалоїдів смак не визначають.

Безкисневі алкалоїди мають властивості летючої, маслянистої рідини з неприємним запахом, що переганяються з водяною парою, але солі цих алкалоїдів – тверді кристалічні сполуки. Мають чітку температуру кипіння та плавлення. Деяким алкалоїдам властива флуоресценція в УФ-світлі (наприклад хінін) [46].

Алкалоїди оптично активні. Причому лівообертальні стереоізомери зазвичай активніші правообертальних.

Розчинність алкалоїдів та їх солей має важливе фармацевтичне значення. Різниця в розчинності між алкалоїдами та їх солями є значною і суттєво впливає на методи їх ізоляції та очищення від супутніх речовин. Вільні алкалоїди, як правило, розчинні в органічних розчинниках, таких як хлороформ, етер та інших неполярних сполуках, але практично нерозчинні у воді [2].

Добре розчинні у воді і спиртах солі алкалоїдів (особливо розбавлених), але погано або зовсім нерозчинні в органічних розчинниках. Алкалоїди, завдяки основному характеру, при взаємодії з кислотами утворюють солі. Ця властивість широко використовується при виділенні і очищенні алкалоїдів, їх кількісному визначенні, отриманні препаратів.

Загальною хімічною властивістю всіх алкалоїдів є утворення осаду:

- з солями важких металів;
- з комплексними йодидами;
- з комплексними кислотами.

Деколи для ідентифікації алкалоїдів використовують процес гідролізу з наступним виявленням артефактів. Так, фізостигмін при гідролізі у лужному середовищі утворює метиламін, сферофізін виділяє аміак. Кокаїн під дією концентрованої сірчаної кислоти розщеплюється на метиловий спирт та бензойну кислоту з подальшим утворенням метилового ефіру бензойної кислоти, який визначається за запахом [23].

Для виявлення і визначення якісного складу та кількості алкалоїдів часто використовують паперову та тонкошарову хроматографію в сумішах різних розчинників, головним чином кислих. Звичайно алкалоїди в УФ-світлі світяться блакитним, зеленим або жовтим кольором. При обробці хромогенними реактивами флуоресценція плям, як правило, змінюється й часто з'являється забарвлення, яке можна бачити при денному світлі. Ідентифікацію алкалоїдів також проводять за

допомогою фізико-хімічних методів: ультрафіолетової, інфрачервоної, ЯМР- і ПМР-спектроскопії [64].

Незважаючи на велику різноманітність алкалоїдів, утворення їх відбувається за рахунок однакових первинних попередників через подібні проміжні реакції – біосинтез (додаток 2).

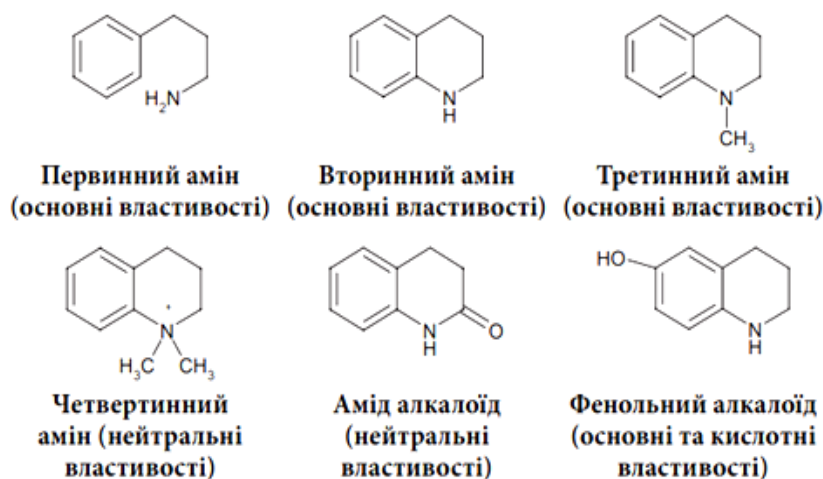


Рис. 1.1. Представники різних структурних амінокислот алкалоїдів

Попередниками істинних алкалоїдів і протоалкалоїдів є амінокислоти, з яких утворилася більшість із відомих алкалоїдів або з їх похідних – діамінів (лізин, кадаверин, орнітин, путресцин, аргінін, фенілаланін, тирозин, триптофан, гістидин, глютамінова кислота тощо) (рис.1.1.). Біосинтетично алкалоїди утворюються з декількох різних амінокислот, що створює різноманіття їх фундаментальної структури [11].

Вивчені шляхи біосинтезу протеїногенних амінокислот із пірвату (лізин, аланін), оксалоацетату (аспарагінова кислота) і т.д. Амінокислоти також утворюються у циклі Кальвіна. Між ними існують обмінні зв'язки. Загальним для більшості алкалоїдів є наявність гетероциклів чи утворення складніших поліциклічних сполук. Основу будови алкалоїдів складає невелика група речовин, що синтезуються із первинних чинників [49].

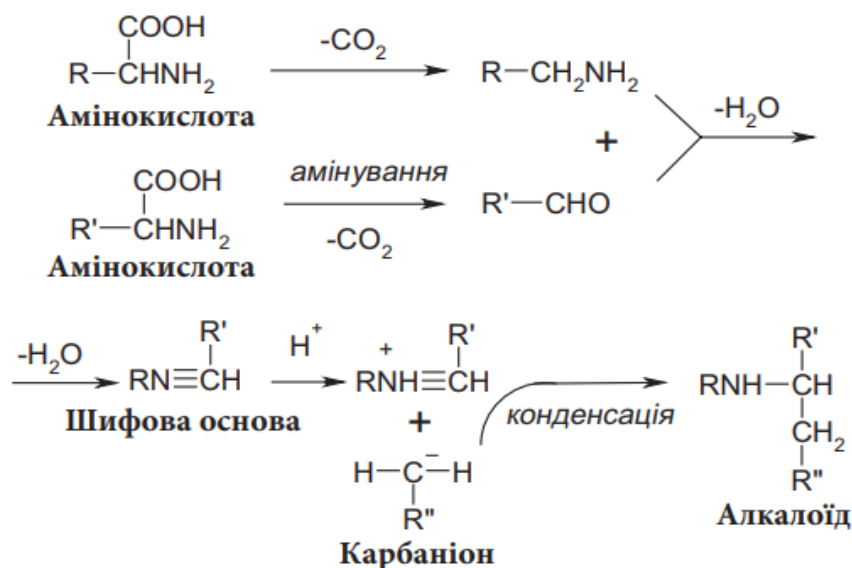


Рис.1.2. Загальна схема реакцій біосинтезу

Починається біосинтез алкалоїдів з реакцій декарбоксілювання, окисного дезамінування або переамінування амінокислот чи відповідних їм амінів (рис.1.2.). Далі йде трансметилування отриманих проміжних сполук, після чого відбувається циклізація аліфатичних ланцюгів у різні гетеро- і карбоциклічні структури [2]. Існує декілька характерних реакцій, які беруть участь у біосинтезі алкалоїдів: - утворення основ Шифа (азометинів); - реакція Манніха. Шифові основи утворюються спонтанно в результаті реакції амінів з кетонами або альдегідами, результатом яких є утворення C=N-зв'язку (рис.1.3.).

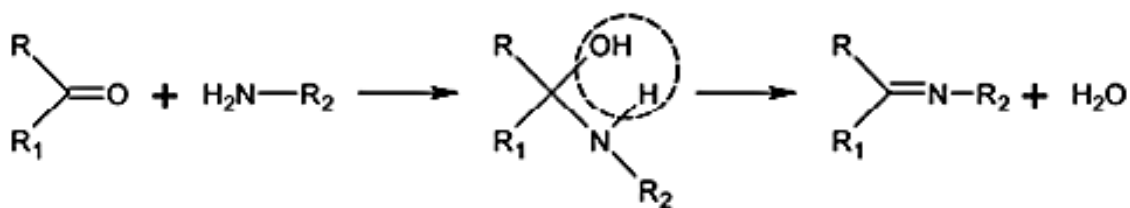


Рис.1.3. Схематичне зображення утворення C=N-зв'язку

Аміни, які беруть участь в утворенні шифових основ, синтезуються при декарбоксілюванні амінокислот. Карбоксильні сполуки синтезуються внаслідок переамінування та окисного дезамінування [6].

В реакції Манніха, окрім аміну і карбоксильної сполуки, бере участь карбаніон, як нуклеофіл. Процеси циклізації аліфатичних ланцюгів у гетероцикли доповнюються процесами конденсації (рис.1.4.) [21].

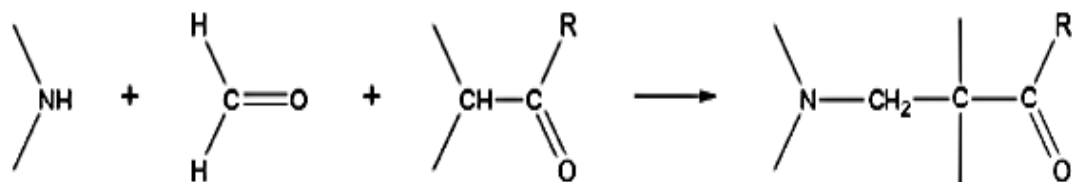


Рис.1.4. Процес конденсації аліфатичних ланцюгів у гетероцикли.

Ці процеси йдуть за допомогою трьох реакцій. Дві з них – це реакції між $-NH_2$ і $=C=O$ групами. У результаті утворюються зв'язки $C-N$, $C=N$ або $C-C$. У третій реакції відбувається окисне поєднання фенольних кілець. Прикладом такого поєднання може бути молекула нікотину (рис.1.5.) [20].

Розпад алкалоїдів може відбуватися до CO_2 з виділенням енергії. Але вважається, що частіше в рослинах їх розпад йде до утворення амінокислот, із яких вони синтезуються. Цікаво, що рослина здатна катаболізувати не тільки ендogenous алкалоїди, але й екзогенні, не характерні для даної рослини і спеціально введені у її клітини. До дисиміляції алкалоїдів здатні навіть безалкалоїдні рослини [11].

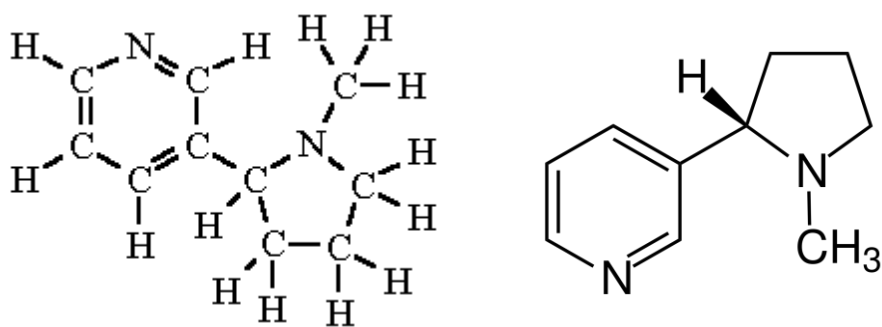


Рис.1.5. Структурна формула нікотину $C_{10}H_{14}N_2$

У рослинах алкалоїди знаходяться розчиненими в клітинному соці у вигляді солей органічних кислот – щавлевої (оксалатної), оцтової,

молочної, яблучної, винної, лимонної, янтарної, або специфічних для певної рослини – аконітової, хелідонової, хінної, а також солей мінеральних кислот – хлоридної, сульфатної, ортофосфатної, роданідної. Солеутворення відбувається лише по одному атому азоту в молекулі алкалоїду [15].

Якщо алкалоїди накопичуються у великій кількості, то для самої рослини вони теж можуть бути токсичними. Очевидно, для рослини реакція метилування є одним із засобів інтоксикації алкалоїдів. Здійснюючи його, рослина створює значну варіативність модифікованих форм алкалоїдів.

1.1.5. Механізм дії на організм людини і тварин алкалоїдів.

Значна частина алкалоїдів по своїй фізіологічній дії на людину є отрутами, сильними, що викликають судоми і смерть (стрихнін, морфін, белладоннін). Інша частина - наркотичні сполуки, що викликають залежність, а треті психологічну, емоційну і фізичну (нікотин, кофеїн, кокаїн). Тому з даними сполуками, як і збудь-якими іншими природо синтезованими речовинами, потрібно вести себе вкрай обережно і використовувати тільки за рекомендацією і рецептом лікаря [37].

Однак деякі сполуки (опій і героїн) використовуються не тільки в медичних цілях, але і як важкі одурманюючі наркотичні речовини, що викликають сильну залежність організму людини і з плином часу здатні завдати тяжкої шкоди здоров'ю, навіть життю людини.

За місцем дії на організм алкалоїди виокремлюють в різноманітні групи. Речовини що діють на центральну нервову систему (седативної дії) - транквілізатори (знімають напругу, тривогу, страх, покращують сон). Загалом впливають на функціонування нервової системи, закінчення нервових клітин, роботу синапсів, та на нейромедіаторні процеси організму. При правильному дозованні і точному використанні в медичних цілях приносять користь організму. Але при найменшому

передозуванні призводять до серйозних і смертельних наслідків. Стимулятори ЦНС або психотропні стимулятори діють на головний мозок, активують психічну і фізичну діяльність (кафетін, цитрамон, аскофен) тобто містять кофеїн. Аналептики рефлекторної дії діють на довгастий мозок, на судиноруховий та дихальні центри [45,48].

Стимулятори спинного мозку - стимулюють скелетні м'язи і м'язи серця. Застосовуються при паралічі, атонії шлунка, при підвищеній втомлюваності, при зниженому артеріальному тиску, при отруєнні снодійними і наркотичними речовинами. У токсичних дозах - це судомні отрути. До наркотичних анальгетиків відносять морфін гідрохлорид, що володіє сильною знеболюючою дією, але викликає залежність, пригнічує дихальний центр. До наркотичних протикашльової дії відносять: кодеїн (терпінкод), а до ненаркотичних протикашльової дії - глянціна гідрохлорид [22].

Алкалоїди, що діють на периферичні нейромедіаторні процеси (інгібітори холінестерази), стимулюють процеси збудження, підвищують тонус гладкої мускулатури, використовуються при паралічі, міопатії, міастенії, ДЦП; антихолінергічні - зменшують спазм, знижують тонус гладкої мускулатури бронхів, органів дихання, черевної порожнини, знижують секрецію слинних, потових залоз. До цієї групи відносять адреномиметики, що діють на периферичні адренергічні процеси - викликають звуження судин, підвищують артеріальний тиск, розширюють бронхи (ефедрину гідрохлорид), знімає набряк слизової, знімає спазм судин, використовується як антагоніст наркотиків, так як збуджує ЦНС; а також антиадреноергічні - використовуються для лікування периферичного і мозкового кровообігу, для лікування гіпертонії (дигідроерготамін, дігідроерготоксін, ергомітрін) [19].

Алкалоїди, що діють на серцево-судинну систему (алкалоїди хіни, аймалин з раувольфії), викликає антиаритмічну, спазмолітичну, гіпотензивну, жовчогінну дії, покращує кровопостачання.

Алкалоїди, що покращують мозковий кровообіг (алкалоїди барвінку малого препарат винпоцетин), спазмолітичні (папаверин, теобромін, теофілін), гіпотензивні (резерпін, раунатин, препарати барвінку малого), жовчогінні (берберина бісульфат, настоянка листя барбарису, алкалоїди чистотілу) [13].

Протимікробні алкалоїди або антипротозойні (хінін), проти вошей (чемерічний вода, для лікування трихомонади) і протизапідний (алкалоїди кубушки), при виразках, загоюються (сангвиритрин, сангвінерін) [18].

Якщо препарати з вмістом алкалоїдів використовуються не за призначенням або без відповідності з необхідною дозуванням, можливі такі наслідки: порушення зору, слуху; порушення дихання, тяжкість у грудях; запаморочення, нудота, блювота; кровотеча; сухість в роті; різке підвищення або зниження кров'яного тиску; сильне отруєння з летальним результатом [27].

1.2. Гетрероцикли

Гетероциклічними називають сполуки, які розповсюдженні в живій природі у вигляді циклічної будови, у циклах яких поряд з атомами вуглецю знаходяться атоми інших елементів. Ці інші атоми називають гетероатомами (від грецьк. «гетерос»—інший). Найчастіше такими гетероатомами є атоми кисню, сірки, азоту . В гетероциклі може знаходитись один, два, три і більше гетероатомів [15].

Гетероциклічні сполуки широко розповсюджені у природі так, як є складовими алкалоїдів та інших природних речовин, як хлорофіл, гемоглобін, вітаміни, нуклеїнові кислоти, ферменти та ін. Так, гетероцикли родини пурину та піримідину є невід'ємною складовою нуклеїнових кислот, що відповідають за зберігання та передачу спадкової інформації. Взаємодія пуринових та піримідинових похідних

за системою водневих зв'язків лежить в основі процесів реплікації, транскрипції і трансляції, основ функціонування будь-якої живої клітини [44].

Гетероциклічні сполуки відіграють важливе значення в хімії природних сполук та біохімії. Багато гетероциклічних сполук мають високу біологічну активність, тому не випадково більше половини всіх лікарських речовин містять у своїй структурі гетероциклічні фрагменти. Функції, що виконують ці сполуки, досить різноманітні - від структуроутворюючих полімерів (похідні целюлози і інших циклічних полісахаридів) до коферментів та алкалоїдів [43].

1.2.1. Класифікації гетероциклів. Найчастіше в сучасній світовій фітохімічній літературі зустрічаються посилання на класифікації Дж. Харборна зі співавтором (1999) [51], Р. Хансела (1999) [52] і В. Еванса (2002) [50], які базуються на даних про шляхи біосинтезу і хімічну будову природних речовин і істотно не відрізняються (відмінності є лише в межах підкласів сполук) (додаток 3).

До останнього часу серед фахівців поширена модифікація класифікації О. П. Орехова, заснована на побудові вуглецево-азотного скелета. [55]

Таким чином, виділяють такі типи алкалоїдів, що містять за межами кільця або у складі гетероциклу: 1) піролідину; 2) піперидину; 3) піридину; 4) піролізидину; 5) хінолілідину; 6) хіноліну; 7) ізохіноліну; 8) хіназоліну; 9) індолу; 10) дигідроіндолу; 11) імідазолу; 12) акридину; 13) пурину; 14) ізопреноїдні алкалоїди; 15) протоалкалоїди.

- Класифікація за типу біосинтезу алкалоїдів:

- 1) істинні алкалоїди, що мають гетероциклічні кільця і біосинтетично походять з алкалоїдогенних амінокислот, або з нікотинової або антранілової кислоти (рис.1.6.);

- 2) протоалкалоїди, що містять азот не у складі гетероциклів, але

утворюються з амінокислот;

3) псевдоалкалоїди (ізопреноїдні алкалоїди), що утворюються без участі амінокислот і об'єднуються в групу незалежно від наявності гетероциклу.

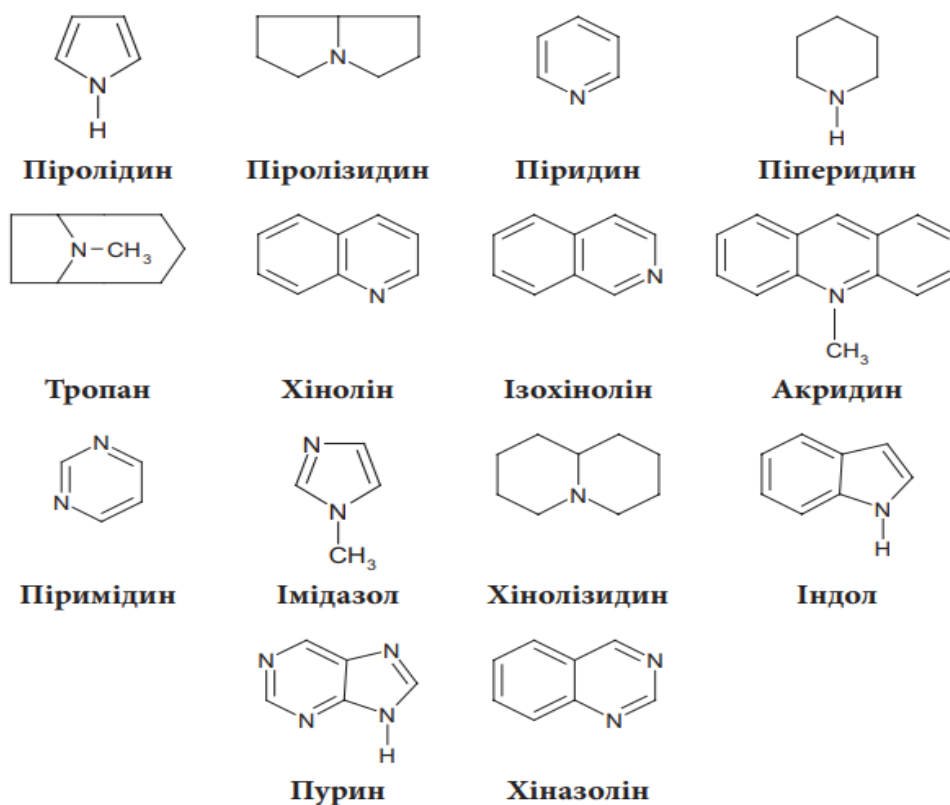


Рис.1.6. Групи істинних або гетероциклічних алкалоїдів

- Класифікація за типами прекурсорів алкалоїдів:

Істинні алкалоїди утворюють групи сполук, до складу яких входять гетероцикли. Вони біогенетично походять від амінів, які утворюються внаслідок декарбоксілювання амінокислот. На цей час відомі амінокислоти – біогенетичні попередники груп алкалоїдів – т. з. прекурсори.

1) До групи орнітину належать піролідинові, піролізидинові, тропанові і деякі піридинові алкалоїди;

2) група лізину – хінолізидинові алкалоїди, деякі піперидинові алкалоїди;

3) група тирозину – ізохінолінові алкалоїди;

- 4) група триптофану – індольні, хінолінові алкалоїди;
- 5) група гістидину – імідазольні алкалоїди типу пілокарпіну;
- 6) група гліцину і антранілової кислоти – пуринові алкалоїди;
- 7) група антранілової кислоти – акрідинові алкалоїди.

- За розміром циклу розрізняють три-, чотири-, п'яти-, шести- та семичленні гетероцикли.

- У залежності від природи гетероатома гетероциклічні сполуки поділяють на кисневмісні, азотовмісні і сірковмісні.

- За мірою насиченості усі гетероциклічні сполуки класифікують на насичені, ненасичені й ароматичні.

- За кількістю циклічних фрагментів у молекулі розрізняють моноядерні моноциклічні сполуки і поліядерні – містять кілька циклів, причому цикли можуть бути конденсовані (індол), або поєднані простим зв'язком (біпіридил).

- Класифікація ароматичних гетероциклічних сполук за:

- 1) величиною кільця (п'ятичленні, шестичленні гетероцикли і т.д.);
- 2) кількістю кілець (моноциклічні, поліциклічні);
- 3) типом гетероатомів (азотовмісні, кисневовмісні, сірковмісні та ін.).

В основі всіх перелічених класифікацій лежить фундаментальна класифікація природних сполук, розроблена і запропонована німецьким ученим В. Каррером (1958) [53], найважливішою складовою частиною якої є фітохімія. Основні її положення покладені і в основу відповідних підручників і посібників з фармакогнозії, в тому числі тих, що використовують в Україні та країнах колишнього СРСР. [6, 54 то що]

1.2.2. Приклади конденсованих гетероциклічних сполук. Серед природних конденсованих гетероциклічних сполук особливе медико-біологічне значення мають похідні пурину і птеридина. Гідрокси- і Амінопохідні пурину, як структурна частина, входять до складу нуклеїнових кислот, вільних нуклеотидів організму, коферментів.

Найбільш біологічно важливі похідні птеридина представлені двома групами з'єднань: групою фолієвої кислоти (Регулятори білкового і вуглеводного обміну) і групою рибофлавіну, наприклад, коферментом ФАД (флавінаденіндинуклеотід), який здійснює окислювально-відновні біохімічні процеси і є більш сильним окислювачем, ніж з'єднання на основі катіона N- алкілпіридінія. У молекулі пурину сконденсовані гетероцикли піримідина і імідазолу, в молекулі птеридина - гетероцикли піримідина і піразину (рис.1.7.) [28].



Рис.1.7. Структурні формул пурину та птеридину

1.2.3. Конденсовані шестичленні гетероцикли з декількома гетероатомами виокремлюють в окрему групу. Їх можна поділити на дві умовні підгрупи. До першої підгрупи відносяться гетероцикли, у яких гетероциклічне ядро конденсоване з бензеновим кільцем. Це, наприклад, ряд ізомерних бензодіазинів.

До другої групи можна віднести гетероциклічні системи, які складаються із двох конденсованих гетероциклів.

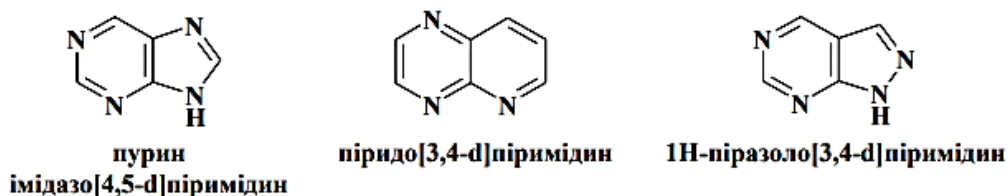


Рис.1.8. Зображення двох конденсованих гетероциклів

Пури́н являє собою конденсовану гетероциклічну систему, яка складається з піримідинового та імідазольного кілець (рис.1.8.). Нумерація атомів в молекулі склалася історично і є загальноприйнятою,

хоча і не відповідає загальноприйнятим правилам нумерації конденсованих систем [34].

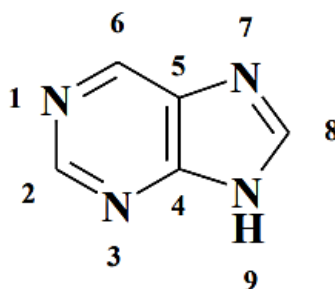


Рис.1.9. Структурна формула пурину

Пурин безбарвна кристалічна речовина (т. пл. 217°C), добре розчинна в воді, погано в ацетоні, хлороформі, етері.

За хімічними властивостями пурин є ароматичною сполукою. Його молекула має плоску будову і містить замкнену спряжену систему, що складається з 10 π -електронів, що відповідає правилу Хюккеля (рис.1.9.). Наявність в структурі імідазольного циклу надає пурину низки властивостей, притаманних імідазолу. Аналогічно імідазолу, пурин є амфотерною сполукою, тобто утворює солі як з кислотами, так і основами. Нуклеофільні властивості атомів нітрогену проявляються в реакціях алкілування та ацилування [38].

В основі пуринів знаходиться конденсована кільцева структура імідазолу і піримідину. До похідних ксантину, які застосовуються в медицині, належать алкалоїди кофеїн, теобромін і теофілін (рис.1.10.):

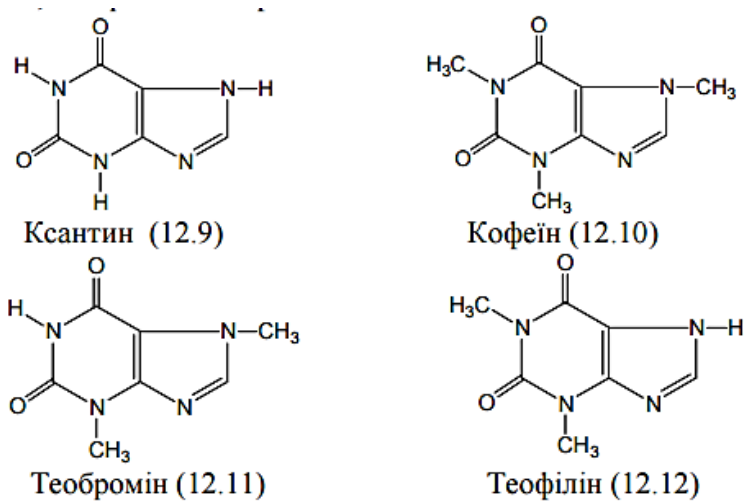


Рис.1.10. Структурні формули похідних ксантину

Кількісне визначення:

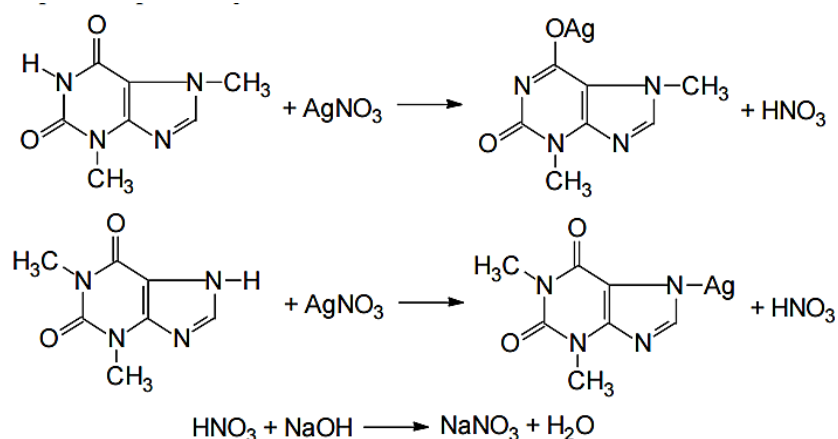


Рис.1.11. Реакції заміщення

Кофеїн, теобромін та теофілін швидко всмоктуються в шлунково-кишковому тракті. Максимальна концентрація в крові спостерігається через 1 год [1]. Розподіл цих алкалоїдів в органах проходить відповідно до їх розчинності. Вони не акумулюються в організмі, період піввиведення 2,5-4,5 год.

Отруєння пуриновими алкалоїдами зустрічаються не часто. Найчастіше виникають в результаті передозування кави та чаю. Гострі отруєння кофеїном супроводжуються збудженням психомоторної системи. За токсичністю кофеїн слабший від теофіліну, але сильніший від теоброміну. Теофілін більш токсичний, ніж кофеїн і теобромін [32]. Після прийому великих доз теофіліну, порушується діяльність ЦНС і серцево-судинної системи (ССС). Головним симптомом отруєння теофіліном є різке зниження артеріального тиску (АТ). Особливо небезпечний у хворих з підвищеною чутливістю. Представники цієї групи препаратів швидко метаболізують в організмі і продукти метаболізму виводяться з сечею [41].

1.3. Принцип реакції Біджинеллі

Сучасний етап розвитку хімії гетероциклічних сполук характеризується посиленням вивчення систем, які містять у своїй структурі піримідинове ядро. Такого роду гетероцикли привабливі своєю близькістю до природних речовин, а також широкомасштабним використанням у фармацевтичній хімії [63].

Одним із найбільш ефективних методів синтезу 3,4-дигідропіримідин-2(1H)-онів є відкрита італійським хіміком П.Біджинеллі ще в 1893 році одностадійна трикомпонентна конденсація β -дикарбонільних сполук II з альдегідами I і похідними сечовини III. Використання в даній реакції ацетооцтового естеру із заміщенням сечовини дозволяє одержувати з високими виходами нові похідні 3,4-дигідропіримідин-2-ону IV:

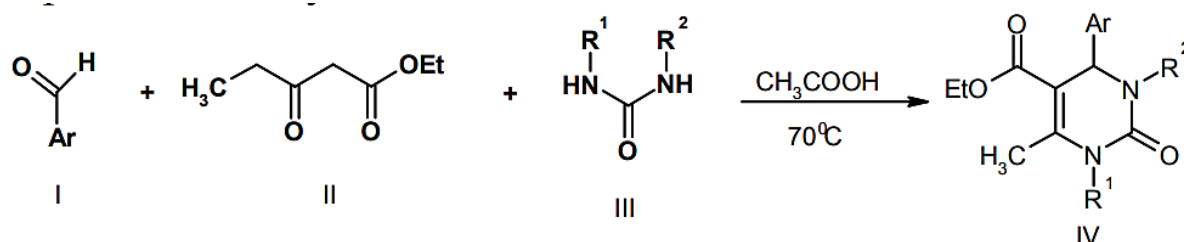


Рис.1.12. Одержання нових похідних шляхом заміщення

Класична реакція Біджинеллі полягає у взаємодії енолнуклеофілів, ароматичних альдегідів та сечовин у кислому середовищі з утворенням похідних 3,4-дигідропіримідину (рис.1.13.) [3].

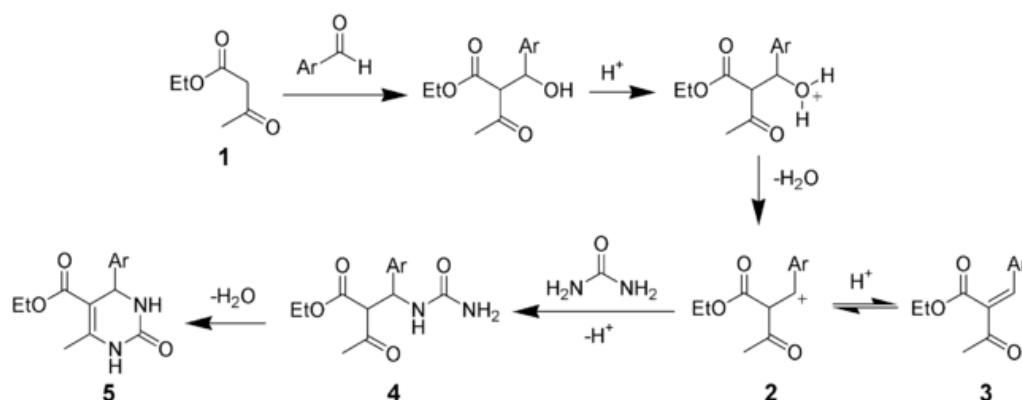


Рис.1.13. Механізм реакції Біджинеллі

Етапи переносу протонів, вивільнення води та депротонування призводять до отримання кінцевого продукту. Запропонований підхід, завдяки наявності в структурі 3,4-дигідропіримід-2(1H)-онів екзоциклічних етоксикарбонільної та бромометильної груп, відкриває шлях до сполук, які можуть знайти практичне застосування як фармацевтичні препарати (рис.1.14.). Сполуки даного ряду виявляють різноманітні види біологічної активності, серед яких - протизапальна, антибактеріальна, противірусна, протипухлинна та інші [57].

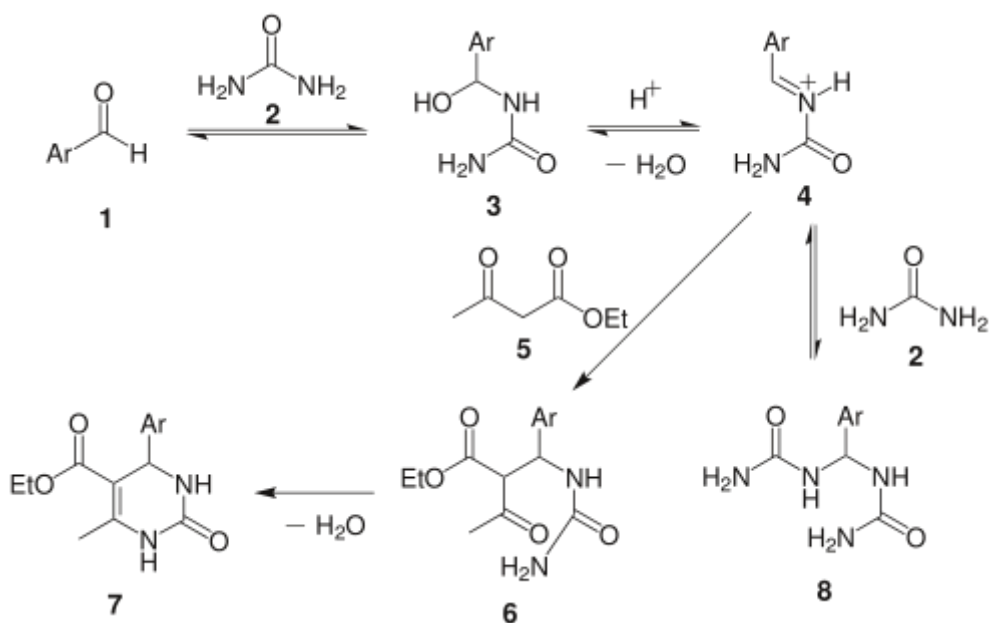


Рис.1.14. Варіант механізму реакції за Каппе

1.3.1. Продукти реакції Біджинеллі. Теофілін (ланофілін, теоцин тощо), або 1,3-диметил-ксантинмоногідрат, - алкалоїд пуринового ряду, який міститься в листках чаю. В наш час теофілін добувають шляхом синтезу (рис.1.15.) [12]. Теофілін є ізомером теоброміну. При окисненні він розкладається на сечовину і диметилалоксан. Основа теофіліну розчиняється в етиловому спирті (1 : 80), хлороформі (1 : 86), мало розчиняється у воді (1 : 120) і діетиловому етері [58].

Теофілін екстрагується органічними розчинниками з кислих водних розчинів. Максимальні кількості теофіліну екстрагуються при рН = 4-7 [11].

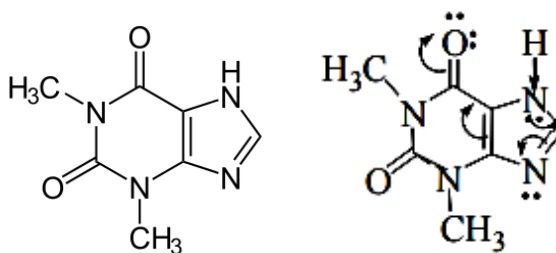


Рис.1.15. Структурна формула теофіліну

Теофілін застосовують у медицині у вигляді порошку, він входить до складу свічок, таблеток («еуфілін», «теофедрин», «антастман»та ін.), які містять суміш кількох препаратів. Теофілін має виражену сечогінну дію. Він стимулює скорочувальну дію міокарда, розширює просвіт бронхів, збуджує центральну нервову систему. Враховуючи перелічені фармакологічні властивості теофіліну, його застосовують для регуляції серцево-судинної системи, як діуретик, протиастматичний засіб, а також використовують для лікування ішемічної хвороби серця.

Теофілін більш токсичний, ніж кофеїн і теобромін. Після приймання великих доз теофіліну порушується діяльність центральної нервової і серцево-судинної систем [9].

В організмі теофілін зазнає метаболізму. При цьому утворюється 1,3-диметилсечова кислота (близько 50 % дози), 1-метил-сечова кислота (близько 20 % дози) і сліди 3-метилсечової кислоти. Всі ці метаболіти виділяються з організму з сечею [34].

Методи виявлення теофіліну:

1. Теофілін дає мурексидну реакцію. Якісна реакція має яскраво-червоний колір, обумовлений утворенням мурексиду - аммонійної солі пурпурової кислоти.

2. Щоб відрізнити теофілін від теоброміну, використовують різне відношення їх до діазореактиву. Теофілін дає реакцію з діазотованою сульфаніловою кислотою. Теобромін не дає цієї реакції.

3. Виявлення теофіліну за УФ- і ІЧ-спектрами. Основа теофіліну в 0,1 н розчині хлоридної кислоти має максимум поглинання при довжині хвилі, що дорівнює 270 нм; в ІЧ-ділянці спектра основа теофіліну (диск з калій бромідом) має основні піки при 1660, 1700, 1445, 1560 см⁻¹.

4. Виявлення теофіліну методом хроматографії. З цією метою використовують методику, запропоновану для виявлення кофеїну. Плями теофіліну на хроматограмі мають фіолетове забарвлення [19].

Специфічні реакції на теофілін:

1. Реакція утворення азобарвника. Субстанцію нагрівають з розчином калію гідроксиду і додають розчин сульфанілової кислоти діазотований – повільно з'являється червоне забарвлення (ДФУ).

2. Реакція натрієвої солі теофіліну з розчином кобальту (II) хлориду – утворюється білий з рожевим відтінком осад кобальтової солі (подібно до утворення срібної солі в кількісному визначенні).

3. З лужним розчином натрію нітропрусиду утворюється зелене забарвлення, яке зникає при додаванні надлишку кислоти.

Теофілін гальмує фосфодіестеразу. Проявляє сильну спазмолітичну дію на гладку мускулатуру кровоносних судин та дихальних шляхів. Теобромін застосовують при спазмах судин мозку, хронічній недостатності кровообігу. Він стимулює серцеву діяльність, розширює судини серця і мускулатуру бронхів, підвищує діурез. Слабше збуджує центральну нервову систему, ніж кофеїн.

1.4. Фізіологія гладеньких м'язів

Основною структурною одиницею гладеньких м'язів є гладком'язова клітина, яка на відміну від поперечнопозмугованого волокна має численні контакти (нексуси) з сусідніми клітинами, внаслідок чого утворюється функціональний синцитій [8]. Який в свою чергу виступає функціональним пристосуванням, за допомогою якого збудження переходить з клітини на клітину. Рухові нервові закінчення знаходяться лише на окремих волокнах гладеньких м'язів. Але внаслідок безперешкодного поширення з одного волокна на інше, збудження охоплює весь м'яз.

Гладенькі м'язи мають такі фізіологічні властивості [5]:

- Велика тривалість скорочення, що здійснюється без зайвих затрат енергії та має велику витривалість до навантаження.
- Спонтанна міогенна активність (автоматія). Скорочення гладких м'язів внутрішніх органів можуть виникати без зовнішніх впливів, під дією збудження, яке генерується в самому м'язі.
- Пластичність - здатність зберігати надану розтягненням довжину без зміни напруги до моменту дії подразника, що стимулює їх скорочення.
- Здатність реагувати скороченням на швидке розтягування, що має велике значення для здійснення нормальних функцій кишківника, матки та інших внутрішніх органів.
- Висока чутливість до фізіологічно активних речовин, зокрема до медіаторів вегетативної нервової системи.

1.4.1. Біофізика скорочення гладенького м'яза. Загальна схема м'язового скорочення, що полягає у взаємному переміщенні актинових і міозинових філаментів, стосується усіх типів м'язів.

Ініціація м'язового скорочення — процес, що включається генерацією потенціалу дії на сарколемі внаслідок хімічного сигналу, який надходить із нервово-м'язового синапсу. Скорочення м'язів - це зближення ниток актину і міозину. За соті долі секунди спрацьовує довгий ланцюг хімічних і фізико-хімічних процесів, це відбувається за командою-імпульсів. Центральна нервова система посилає у м'язи електричні імпульси, що рухаються по нервах зі швидкістю 70-120 м/с. Проте до м'яза ці сигнали не доходять, тому що між нервовим закінченням і м'язовою клітиною немає контакту. Вони розділені так званою синаптичною щілиною, яка створює величезний опір електричному імпульсу. Щоб м'яз одержав команду, електричний сигнал має бути перетворений у хімічну форму. Перетворювачем електричного сигналу служить синапс (рис.1.16.). Він складається з двох мембран - на закінченнях нерва (пресинаптична мембрана) і м'язового волокна (постсинаптична мембрана) [1].

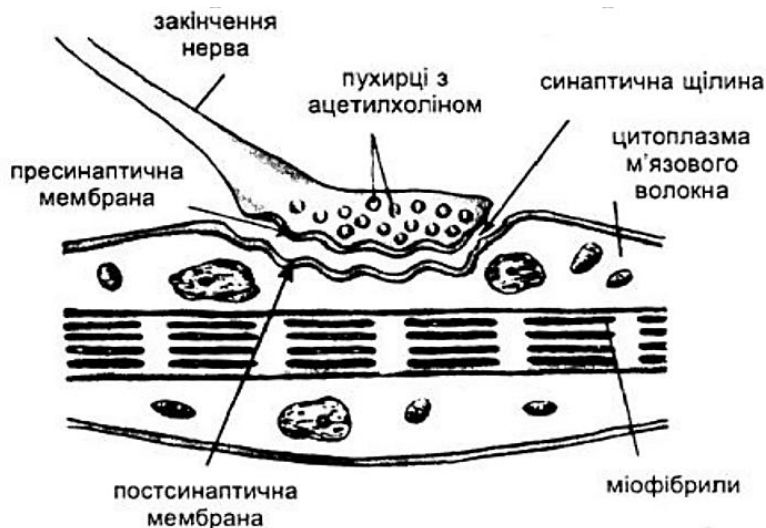


Рис.1.16. Будова синапса

Між двома мембранами знаходиться синаптична щілина. У пресинаптичній мембрані заховані сотні тисяч (до мільйона) пухирців з ацетилхоліном, який служить медіатором - хімічним передавачем сигналу.

Під дією електричного імпульсу частина їх потрапляє в синаптичну щілину і досягає постсинаптичної мембрани. Цей медіатор і передає сигнал м'язовому волокну. Процес трансинаптичної передачі триває близько $5 \cdot 10^{-4}$ с [50]. Діючи на постсинаптичну мембрану (сарколему), ацетилхолін викликає її деполяризацію, з якої і починається ланцюг подій, що приводить до скорочення м'язового волокна. Деполяризація підвищує проникність клітинних мембран, у тому числі й мембран внутрішньоклітинних каналів, цистерн, в яких концентрація іонів Ca^{2+} у 10000 разів вища, ніж у саркоплазмі. Збільшення проникності призводить до того, що іони Ca^{2+} "виливаються" із цистерн і концентрація їх у саркоплазмі зростає. Іони Ca^{2+} зв'язуються з комплексом тропонін-тропоміозин і інактивують його. У результаті звільняються заблоковані реакційноздатні ділянки актину і голівки молекул міозину. Маючи АТФ-азну активність, голівки міозину розщеплюють молекули АТФ, які в них знаходяться. У результаті звільненої енергії глобулярні голівки згинаються, прикріплюються до актинових молекул. При цьому утворюються поперечні міозинові містки, які, як гумки, тягнуть на себе молекули актину. Актинові нитки ковзають уздовж міозину, втягуються в щілини між міозиновими молекулами. М'язове волокно скорочується [51].

У момент м'язового скорочення довжина товстих міозинових ниток залишається постійною. Не змінюється і довжина А диску. При помірному вкороченні не змінюється також і довжина тонких ниток, але зменшується довжина І-диску і саркомеру в цілому (відстань між Z-пластинками). На підставі цих даних і був зроблений висновок про те, що скорочення м'яза в цілому здійснюється шляхом ковзання тонких протофібрил (актину) у проміжках між товстими (міозином).

Для нового скорочення необхідно зруйнувати медіатор. Робить це ацетилхолінестераза - фермент, який виділяє пресинаптична мембрана. Після руйнування медіатора починається реполяризація, яка зменшує

проникність цистерн. За допомогою так званого кальцієвого насоса іони Ca^{2+} закачуються в цистерни проти дифузного градієнту а витратою енергії АТФ. Зникнення іонів Ca^{2+} із саркоплазми звільняє тропонін, який інгібує АТФ-азну активність міозину і відповідно утворення енергії. Актин і міозин повертаються на свої місця. М'яз розслаблюється. Всі ці складні хімічні реакції мають високу швидкість. Через деякі синапси за 1 секунду може проходити до 300 команд імпульсів, тобто стільки разів виходять і руйнується ацетилхолін [5].

У відповідь на одиночний імпульс відбувається одиночне скорочення (рис.1.17.), яке супроводжується деполяризацією і реполяризацією м'язових волокон. Причому реполяризація відбувається до того, як м'яз повністю розслабиться. Якщо у цей момент надходить новий імпульс, скорочення ніби сумуються, саркомер (рухова одиниця) скорочується сильніше, ніж у випадку одиночного імпульсу. Відповідно росте і сила, яку розвиває м'яз. При частоті імпульсів 20-35 с-1 відбувається скорочення, яке у 2-3 рази переважає за силою одиночне.

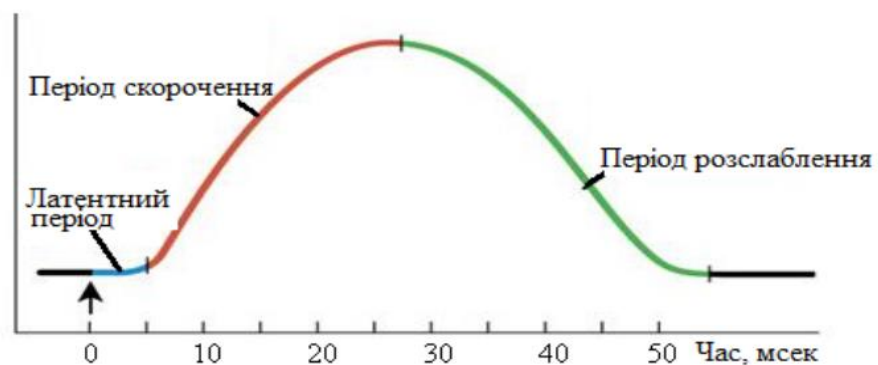


Рис.1.17. Схема одиночного скорочення гладкого м'яза

За допомогою міографа можна виявити зубці окремих скорочень. Такий стан називають зубчатим тетанусом. При подальшому збільшенні частоти імпульсів може настати такий стан, коли кожний новий сигнал буде припадати на майже повністю скорочений попереднім імпульсом м'яз. Тоді всі одиночні скорочення зливаються в одне. У цей момент м'язи розвивають найбільшу силу тяги, майже в 4 рази вищу, ніж при одиночному скороченні. Це гладкий тетанус (рис.1.18.).

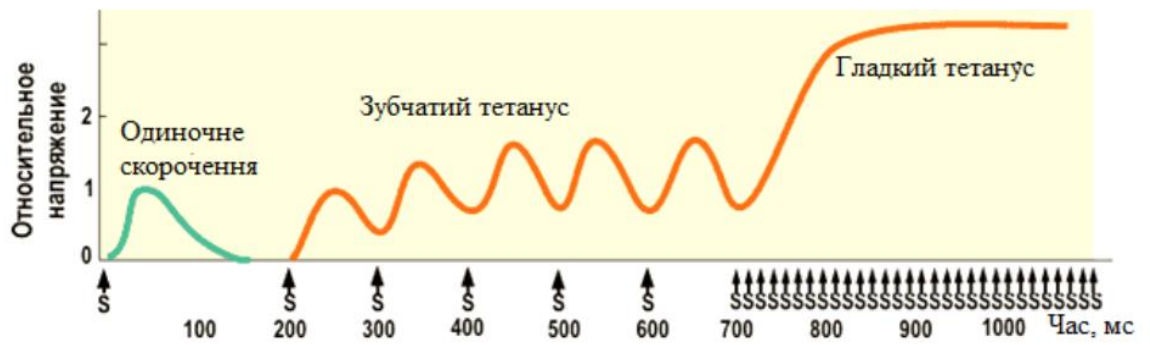


Рис. 1.18. Режими мязового скорочення. (на нижній лінійці моменти нанесення подразнення)

У тому випадку, коли частота нервових імпульсів значно вища, ніж потрібно для гладкого тетануса, тоді через високу частоту виділення ацетилхоліну в синапсах і збільшення його концентрації холінестераза не встигає руйнувати його. М'язові волокна втрачають здатність сприймати нові імпульси, і сила рухових одиниць різко падає. Це явище одержало назву песимума. Воно спостерігається в стресових ситуаціях, у стані втомлення, при зусиллях, які перевищують фізіологічні можливості організму [8].

Усі фізіологічні процеси в гладкому м'язі протікають дуже повільно. Період скорочення гладкого м'яза триває 80-100 с, причому період укорочення в 5 разів коротше за період розслаблення, тобто на висхідне коліно кривої м'язового скорочення доводиться всього 15-20 с. Латентний період декілька секунд. Збудливість гладкого м'яза значно нижча збудливості поперечносмугастого, тому для її збудження окремими стимулами треба застосувати дуже велику силу струму [50].

Скорочення гладких м'язів активується збільшенням внутрішньоклітинної концентрації іонів кальцію. У клітинах гладеньких м'язів, в яких відсутній саркоплазматический ретикулум, іони Ca^{2+} дифундують через кальцієві іонні канали з інтерстиціального середовища і відбувається деполяризація мембрани гладком'язових клітин. Генерація потенціалів дії відкриває потенціалзалежні натрієві і кальцієві іонні канали, викликаючи проникнення всередину клітини

натрієвий і кальцієвий струм. Більшість іонів Ca^{2+} дифундують всередину гладком'язових клітин в результаті відкриття потенціалзалежних кальцієвих іонних каналів саркоплазми, що відбувається протягом 200-300 мс після деполяризації мембрани [5].

В умовах спокою в цитоплазмі гладких клітин концентрація іонів кальцію в середньому становить незначну величину - 100- 150 нМ / л. У спокої концентрація іонів кальцію в саркоплазме гладком'язових клітин залежить від іонного складу цитозольних і позаклітинного середовища, температури тканин. І навпаки, мінімальна концентрація іонів кальцію в цитоплазмі гладких м'язових клітин, при якій починається м'язове скорочення, в середньому становить 200 нМ / л, а максимальне скорочення гладкі м'язи розвивають при концентрації в саркоплазме іонів Ca^{2+} 0,8-1,0 мкМ / л. Залежно від зазначених концентрацій іонів кальцію в цитоплазмі прямо пропорційно змінюється сила скорочення гладком'язових клітин. При цьому в гладких м'язах збільшення концентрації іонів Ca^{2+} може відбуватися під дією різних факторів (розтягнення мембрани, спонтанна електрична активність, дія нейротрансмітерів, гормонів) [1].

В гладкому м'язі взаємодія скорочувальних філаментів актину і міозину має власну фізіологічну особливість. Після розвитку максимальної напруги відбувається зниження ступеня активації скорочувального апарату, який проявляється в уповільненні процесу розмикання в циклічній роботі поперечних містків міозину. Подібний феномен отримав назву механізму «замку». Механізм «замку» дає можливість гладкому м'язу не знижуючи силу скорочення, здійснювати процес скорочення при низьких енергетичних витратах. Функціональне значення механізму «замку» полягає в підтримці тривалого, протягом багатьох годин, тонічного скорочення гладкої м'язи, як при мінімальних витратах енергії, так і при незначній активності нервів, що іннервують гладком'язові клітини. Цей механізм скорочення гладких м'язів

надзвичайно економічний з точки зору енергетики організму, оскільки в організмі людини гладкі м'яз кишечника, сечового міхура і інших порожнистих органів знаходяться в майже незмінному тонусному скороченні [51].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Організація дослідження

Дослідження механізмів дії біологічно активних сполук реакції Біджинеллі на гладенький м'яз шлунка жаби, в умовах впливу електричного струму, проводилось на базі лабораторії кафедри біології людини та імунології ХДУ у 2018-2019 навчальному році.

Дослідження проводилось на чотирьох прісноводних жабах, середня вага яких складала 186-212 г. Тварини знаходилися на стандартному повноцінному харчуванні у звичайних умовах віварію. Хворих тварин в дослід не брали.

Усі маніпуляції із тваринами проводились у відповідності із положеннями Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментах та в інших наукових цілях, від 18.03.1986 р., Директиви ЄС №609 від 24.11.1986 р., Наказу МОЗ України №66 від 13.02.2006 р. та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 21.02.2006, № 3447-IV [17].

Тварин експериментальної та контрольної груп декапітували.

Усі препарати з лабораторних тварин були поділені на чотири експериментальні групи (номер групи та номер лабораторної тварини співпадали відповідно) :

- група №1 (контроль) – препарат шлунку жаби, що піддавався дії розчину Рінгера;
- група №2 – препарат шлунку, що піддавався дії теофіліну у двох дозах для порівняння: 23 мкл та 46 мкл;
- група №3 – препарат шлунку, що піддавався дії речовини 2.1. у двох дозах: 4,5 мкл та 9 мкл;

- група №4 – препарат шлунку, що піддавався дії речовини 2.2. у двох дозах: 4,5 мкл та 9 мкл;

2.2. Методика ізоляції шлунку жаби

Проводилася декапітація з наступним руйнуванням спинного мозку. Жабу утримували в лівій руці, а правою вводили, як можна глибше в ротову порожнину під задню частину верхньої щелепи, нижню браншу ножиць. Швидким рухом відрізували верхню щелепу на рівні заднього кінця барабанних перетинок (нижню щелепу зберігали). В отвір спинномозкового каналу вводили препарувальну голку і руйнували спинний мозок [13].

При препаруванні і проведенні досліджень спінальну жабу закріплювали на пластинці нерухомо. Фіксували її на корковій або парафіновій пластинці розміром 20x10 см, добре натягуючи її кінцівки, щоб вони були нерухомі. Вскривали черевну порожнину анатомічними ножицями та відділяли шлунок. Промиваючи шлунок в розчині Рінгера для холонокровних. Шлунок нарізали кільцями шириною 4-5 мм та поміщали в чашу Петрі з розчином Рінгера. Кільця розрізали упоперек і знімали слизову оболонку. Один кінець смужки нерухомо фіксували в робочій ванні (камера Лукаса) шпилькою, другий кінець підв'язували ниткою і прикріплювали до тензодатчика. Накладали голчасті електроди на препарат [36].

Збудливість гладких м'язів значно нижче збудливості поперечних м'язів, тому для подразнення потрібно застосовувати струм більшої сили. Визначали за допомогою стимулятора порогову величину подразнення. Застосовували імпульси тривалістю 5-10 мс та амплітудою 15-20 В тривалістю не більше 1 хв. Осцилограф налаштовується на повільний запис сигналу. Наносили разовий імпульс, якщо ефекту небуло, то застосовували коротке ритмічне подразнення [50].

2.3. Реєстрація скорочень м'язів шлунку

Установка включає в себе електростимулятор, перемикач між двома режимами стимуляції (пряма/непряма), тензодатчик, посилювач сигналів тензодатчика, осцилограф, ваночка для закріплення мязового препарату (Рис. 2.1.) [36].

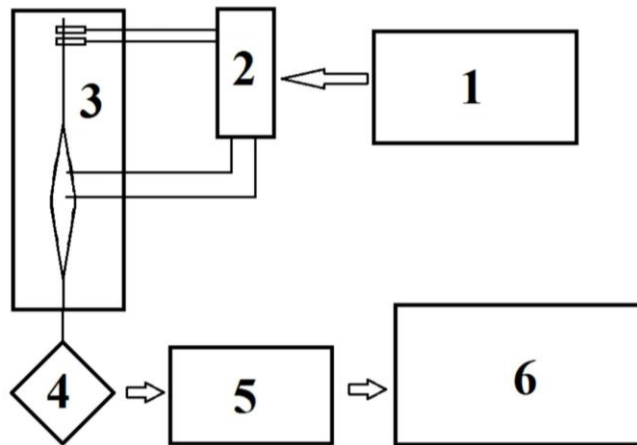


Рис. 2.1. Схема установки для реєстрації мязового скорочення (міограф)

Примітки: 1-електростимулятор, 2- перемикач, 3- ванночка (Камера Лукаса) з нервово-мязовим препаратом, 4- тензодатчик, 5-посилювач сигналів, 6-осцилограф.

Для подразнення препарату використовується електростимулятор (1). До включення стимулятора необхідно перевірити заземлення і відсутність оголених проводів. Після включення приладу в мережу необхідно встановити перемикач «вид запуску» в положення відповідно до методики роботи. У положенні «внутр. запуск» на вихідних клеммах приладу будуть з'являтися сигнали зі встановленою частотою, в положенні «Зовнішній разовий запуск» - частота вхідних сигналів буде визначатися частотою натискання кнопки «разовий запуск». При цьому частота, сила і тривалість електричного імпульсу задаються відповідними перемикачами на передній панелі стимулятора. Між вихідними клеммами електростимулятора і препаратом знаходиться

перемикач (2). З його допомогою експериментатор може встановлювати подачу стимулу безпосередньо на м'яз (пряма стимуляція) або на нервові волокна, що іннервують м'яз (непряма стимуляція).

До робочої ванночку поміщається м'язовий препарат, який заливається досліджуємою речовиною в розчині Рінгера для холоднокровних. Камера Лукаса забезпечена втопленими електродами, м'яз стимулюється за допомогою рухомих голчастих електродів, що дозволяють м'язу вільно скорочуватися. Один кінець м'яза фіксується в робочій ванні, другий кінець підв'язується ниткою до тензодатчика (4). Сила, викликана скороченням м'язів, деформує тензодатчик, змінюючи його опір. Зміни опору перетворюються підсилювачем (5) в сигнал, який можна спостерігати на екрані осцилографа (6).

2.4. Підготовка розчинів досліджуваних сполук

Для проведення досліджень готували фізіологічний розчин Рінгера. Що є одним з варіантів ізотонічного розчину, який використовується в експериментах для тимчасової підтримки тургору клітин, для перфузії ізольованих органів, а також для проведення ін'єкцій в контрольних варіантах при тестуванні різних експериментальних розчинів на мутагенність. Розчин містить в складі: хлорид натрію (NaCl) з концентрацією речовини 6,5 г/л; хлорид калію (KCl) 0,14 г/л; хлорид кальцію (CaCl₂) 0,1 г/л дистильованої води; гідрокарбонат натрію (NaHCO₃) 0,2 г/л відповідно [45].

Концентрацію розчину досліджуваних речовин розраховували в залежності від концентрації відомого алкалоїду-теофіліну та новосинтезованих речовин, відносно маси тіла та органу піддослідної тварини, з врахуванням фізіологічних особливостей організму.

Добова норма теофіліну становить 30 мг на 1 кг, звідси розраховуємо пропорційно добову норму речовини відносно ваги жаби, що складає 190 гр.

$$30 \text{ мг} - 1 \text{ кг}$$

$$0,03 \text{ мг} - 1 \text{ гр}$$

Звідси множимо добову норму теофіліну на об'єм камери Лукаса (15 мл = 15 гр), в якій перебуває м'яз. При цьому, 1 мл вважали за 1 гр.

$$0,03 \text{ мг} / 1 \text{ гр} * 15 \text{ гр} = 0,45 \text{ мг/гр}$$

Розраховуючи початкову дозу згідно інструкції теофіліну за допомогою розрахованого співвідношення до розчину Рінгера об'ємом 15 мл додавали відповідно:

$$100 \text{ мг} - 1000 \text{ мкл}$$

$$0,45 \text{ мг} - x$$

$$x = (0,45 * 1000) / 100 = 23 \text{ мкл}$$

Таким чином, до кювети з розчином Рінгера об'ємом 15 мл додавали 23 мкл досліджуваної речовини теофіліну. З тією ж концентрацією проводимо проготування розчинів для 3-ї та 4-ї експериментальної групи речовин. Для необхідності простеження залежності впливу різних концентрацій досліджуваних речовин на тип скорочення м'язу, збільшували її у два рази до 46 мкл.

Дослід починали з контрольного періоду, під час якого записують роботу скорочення гладенького м'яза шлунка жаби експериментальної групи №1 під час перебування його в розчині Рінгера (контрольний розчин). Після дії електричним струмом, реєстрували фази скорочення та розслаблення впродовж 1 хвилини.

З експериментальною групою №2, за аналогією, проводили дослідження роботи м'яза під дією експериментальної речовини "теофілін". М'язове кільце шлунку жаби (групи №2) закріплювали в камері Лукаса і додавали розчин теофіліну з концентрацією речовини 4,5 мкл та під дією струму реєстрували скорочення м'язу. Для дослідження більшої концентрації теофіліну (9 мкл) використовували новий препарат

шлунку жаби, попередньо промивши ванночку декілька разів розчином Рінгера для нейтралізації, шляхом змивання залишків попередньої речовини, та знову реєстрували реакцію на подразнення.

Для тестування наступних експериментальних груп №3, №4 досліджування проводили за таким же алгоритмом дій, з використанням досліджуємих речовин, як 2.1 та 2.2, з дотриманням відповідних концентрацій. Виконували реєстрацію запису роботи гладенького м'яза протягом 1 хв.

РОЗДІЛ 3

АНАЛІЗ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експериментальне дослідження проводилося в межах однакового часу - 1 хвилина. Використана одна і та ж сама установка для збудження гладенького м'яза шлунку жаби постійним струмом. Порівняння отриманих результатів проводимо на основі певних критерій:

- швидкість збудження м'яза після впливу одинарного удару струмом, потужністю 15 В;
- показник сили збудження гладенького м'яза;
- характер повільного розслаблення м'яза шлунку;
- повернення в початковий тонус м'яза.

Аналізуючи графік контрольної експериментальної групи №1 спостерігаємо характерне незначне збудження на подразнення струмом м'яза контрольної групи №1 (рис.3.1.).

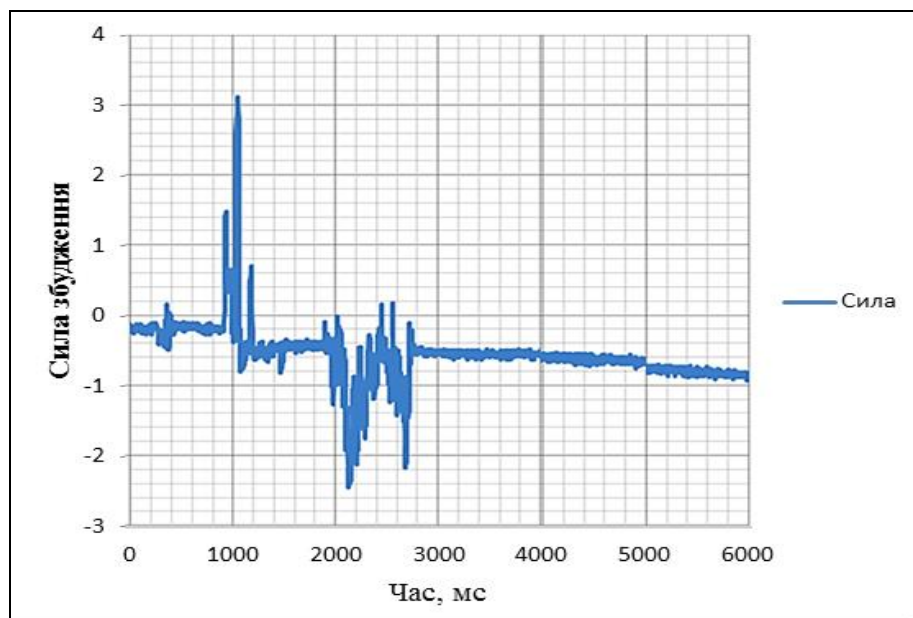


Рис.3.1. Графік відповіді гладенького м'яза шлунка жаби на подразнення електричним струмом (контроль).

Тобто супроводжується незначною слідовою гіперполяризацією, тимчасовою блокадою кальцієвих каналів для відновлення тонусу м'яза

у першопочатковий стан. Експериментальна група №2 має два графіки з дією речовини в концентрації 4,5 мкл (рис.3.2.) та в концентрації 9 мкл (рис.3.3.).

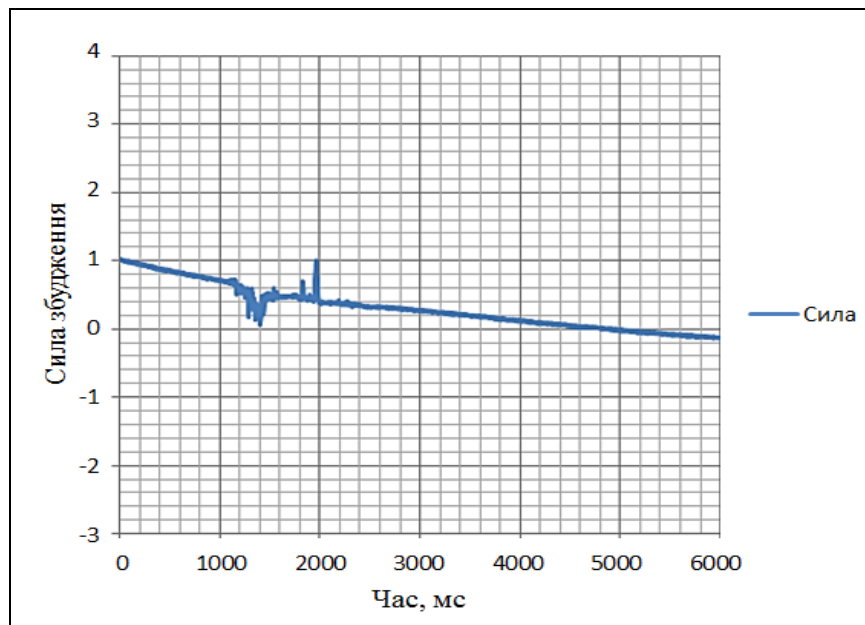


Рис.3.2. Графік відповіді гладенького м'яза шлунка жаби на подразнення електричним струмом під впливом речовини групи №2 в концентрації 4,5 мкл.

За меншої концентрації теофіліну при дії подразника спостерігаємо негативну деполяризацію, що пояснюється припиненням обміну йонів Ca^{2+} через мембрану. Реакція відповіді завершується незначним поверненням тону м'яза, але загальний тонус тканина втрачає. Більша концентрація теофіліну викликає абсолютну рефрактерність зі значним втрачанням тону м'яза.

Тому зростання концентрації речовини прямо пропорційна силі і часу розслаблення гладкого м'яза шлунку жаби.

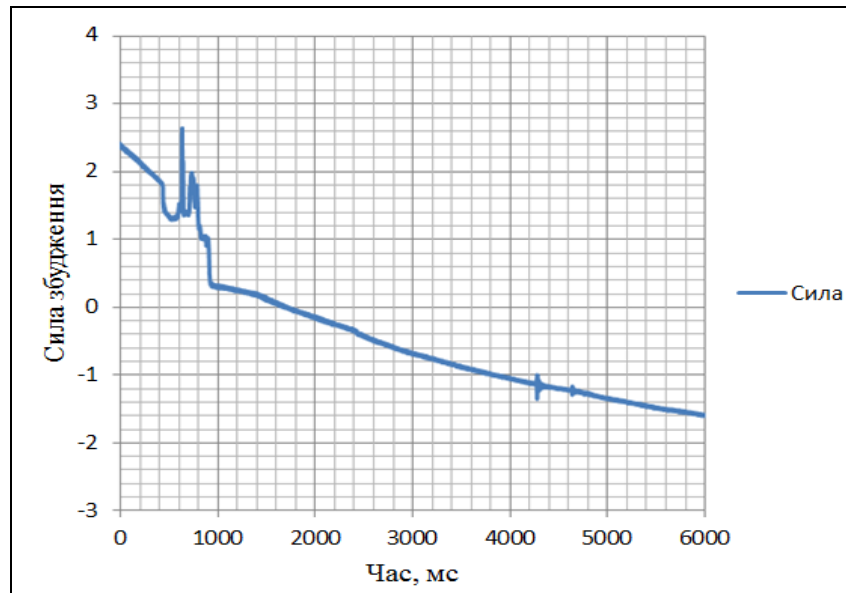


Рис. 3.3. Графік відповіді гладенького м'яза шлунка жаби на подразнення електричним струмом під впливом речовини групи №2 в концентрації 9 мкл.

Графіки експериментальної групи №3 теж різняться за значенням концентрації. При додаванні досліджуваної речовини (2.1.) у об'ємі 4,5 мкл, після збудження спостерігається несуттєве зниження активності м'яза, що з часом зменшується в арифметичній прогресії (рис.3.4.).

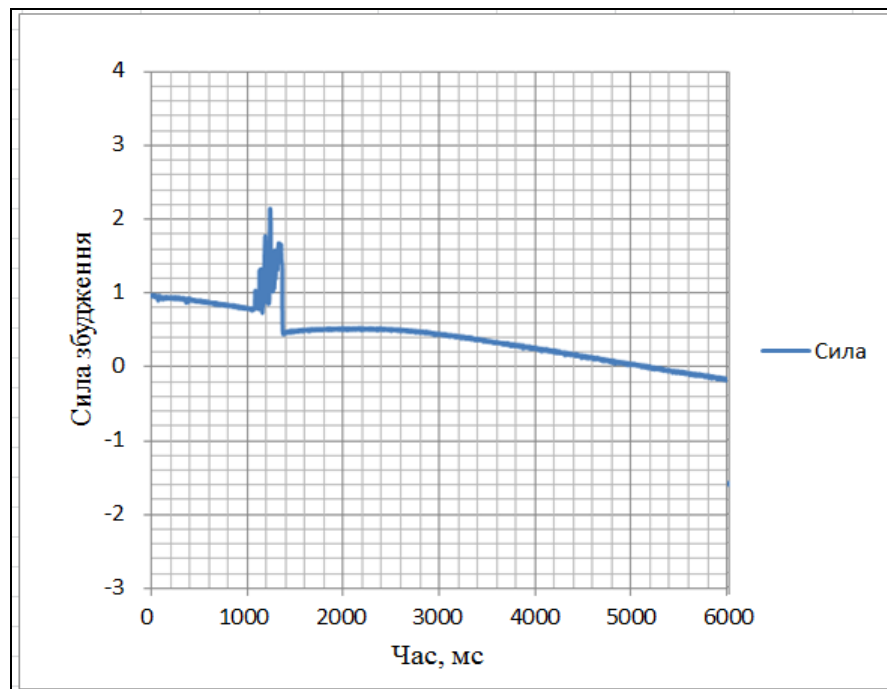


Рис. 3.4. Графік відповіді гладенького м'яза шлунка жаби на подразнення електричним струмом під впливом речовини групи №3 в концентрації 4,5 мкл.

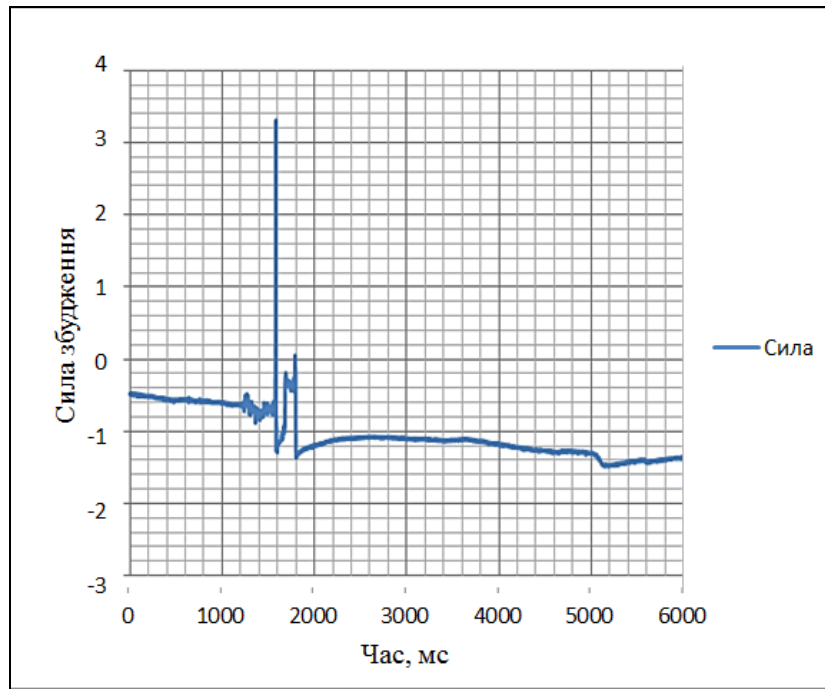


Рис. 3.5. Графік відповіді гладенького м'яза шлунка жаби на подразнення електричним струмом під впливом речовини групи №3 в концентрації 9 мкл.

Зі збільшенням концентрації 9 мкл речовини (2.1) відмінностей в реакції збудження не спостерігається, окрім часткового блокування Ca^{2+} каналів (рис.3.5.).

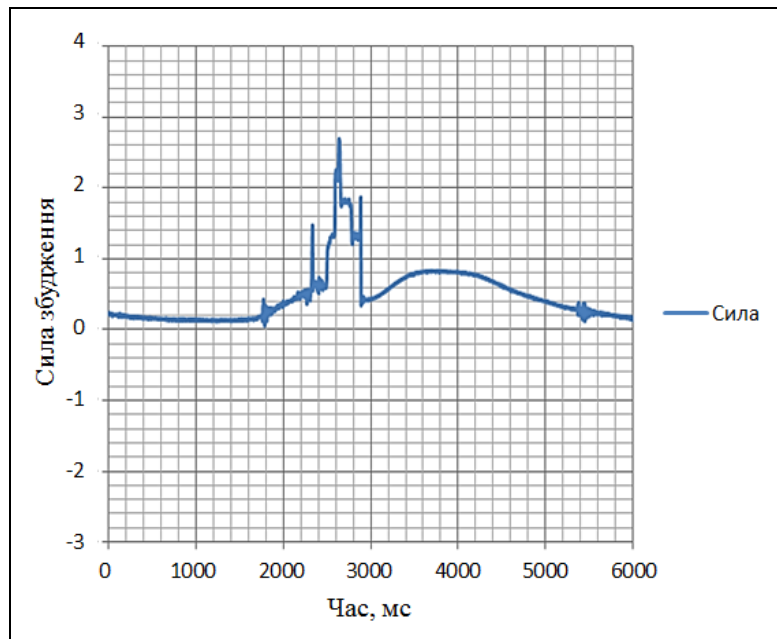


Рис.3.6. Графік відповіді гладенького м'яза шлунка жаби на подразнення електричним струмом під впливом речовини групи №4 в концентрації 4,5 мкл.

Результати експериментальної групи №4 показують значне збудження при малій концентрації речовини (2.2.) відносно експериментальної групи №3, та часткове відкриття кальцієвих каналів, внаслідок чого тканина повертається в тонус. Більша концентрація збільшує силу збудження в двічі, та в двічі збільшує кількість одиноких блокувань кальцієвих каналів.

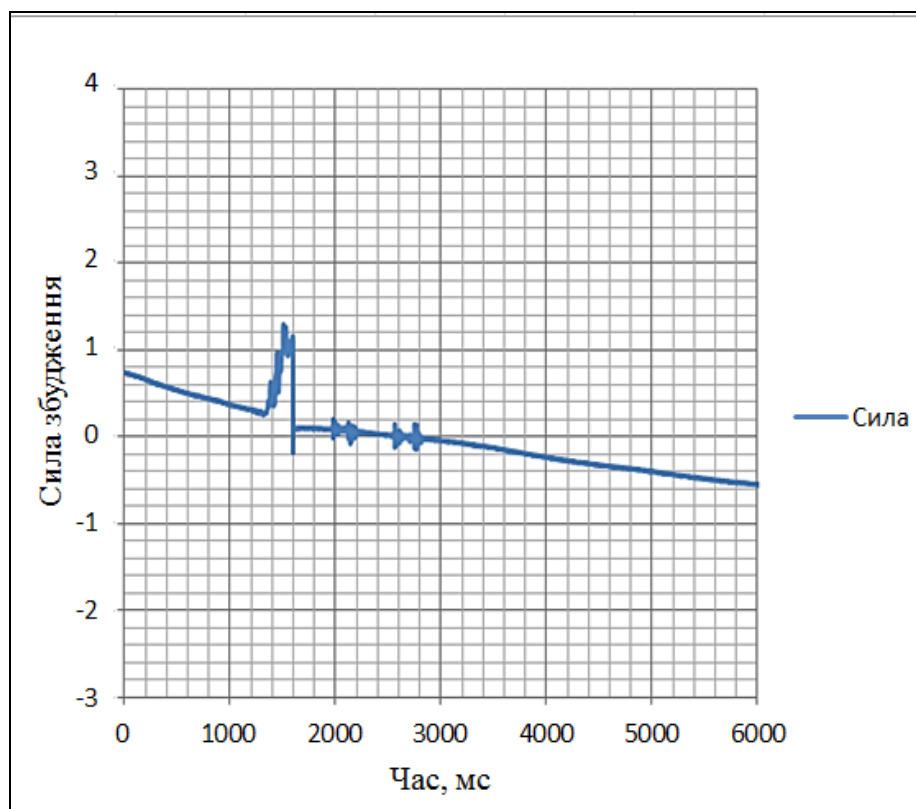


Рис. 3.7. Графік відповіді гладенького м'яза шлунка жаби на подразнення електричним струмом під впливом речовини групи №4 в концентрації 9 мкл.

Це свідчить про антогонізм дії речовин експериментальної групи №3 2.1. та №4 2.2. на м'язову тканину.

Отже, проведені нами дослідження вказують на те, що досліджувані сполуки володіють певною біологічною активністю та є перспективними для подальших досліджень.

ВИСНОВКИ

1. При проведенні реакції Біджинеллі шляхом синтезу утворилися кінцеві продукти - гетероциклічні сполуки - теофілін. Як типовий представник метилксантинів має фармакологічні ефекти, які забезпечуються кількома механізмами. Серед них: пригнічення циклічної нуклеотидфосфодіестерази та зміни внутрішньоклітинної транслокації іонів кальцію, що призводить до розслаблення гладкої мускулатури, відповідно знижує супротив судин, гальмує агрегацію тромбоцитів і зменшує тромбоутворення та нормалізує мікроциркуляцію. Швидко всмоктується в гладку мускулатуру шлунково-кишкового тракту. Теофілін має накопичувальну властивість в тканинах, та проявляє лікувальні властивості у вузькому проміжку концентрацій, отже, підбір доз є необхідним для досягнення вмісту препарату у крові від 5 до 15 мг/л. Виходячи з цього, фармакокінетичні дослідження форми теофіліну тривалої дії фокусуються на вивченні стійких рівнів у плазмі та факторів, що на них впливають.

2. Речовина ДМСО 2.1. викликає характерну реакцію гладкого м'яза під дією струму, яка не визиває блокаду кальцієвих каналів. З концентрацією 4,5 мкл пробуджує зростання помірного скорочення гладкого м'яза з наступним ослабленням тканини, що одразу повертається в тонус. Зі збільшенням концентрації речовини до 9 мкл скорочення, після подразнення струмом, відбувається декількома скоротливими рухами. Перший швидко досягає максимального збудження відносно стану спокою тканини за декілька мілісекунд, а другий скоротливий рух продовжний в часі та за силою збудження в 4 рази менший, що завершується поверненням тонусу м'яза.

3. Досліджувана речовина ДМСО 2.2. в малій концентрації речовини має вплив на скорочення м'яза довше за часом, ніж речовина ДМСО 2.1. Збудження досягає максимального значення почерговою зміною збудження та різького ослаблення, що згодом повертає тонус

гладкому м'язу. Що свідчить про здатність речовини впливати на помірність та збільшення частоти хвиль деполяризації, яка веде за собою більшу кількість відкритих каналів кальцію. Експериментальна група 4 з концентрацією речовини у 9 мкл, дещо відрізняється за дією від малої концентрації. Ще без впливу подразника було помічено, що м'яз втрачає свій тонус. Під дією подразника виникає активна деполяризація, що змінюється швидким розслабленням м'яза із завершенням негативним слідовим потенціалом. Це свідчить про те, що синтезована речовина має накопичувальний ефект. Згідно з тим що концентрація є гранично допустима, то ефект більш помітний.

4. Препарат №2 можна використовувати як засіб для розслаблення гладкої мускулатури шлунково-кишкового тракту, серцево-судинної системи. Речовина №3 навпаки- активує Ca^{2+} каналів та відповідно – посилення тонусу гладкої мускулатури. Дія досліджуваного препарату №4 є дозо-залежною, який пригнічує транспортування іонів кальцію через «повільні» канали клітинних мембран і зменшувати його вихід із внутрішньоклітинних депо.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Анатомія та фізіологія з патологією/ Підручник. Я. І.Феднонюк та інш., Терн.:Укрмедкнига, 2001.- 680 с.
2. Біохімія рослин : навч. посіб. / М.М. Сирий, М.М. Кулешов, Н.М. Гаджиева ; Харк. нац. аграр. ун-т ім. В.В. Докучаєва. — Харків, 2006. — 175 с
3. Бобкова І. А. Фармакогнозія : підручник / І.А. Бобкова, Л.В. Варлахова. – 3 – є вид., переробл. і допов. – К. : ВСВ «Медицина», 2018.- 504 с.
4. Бобкова І.А., Фармакогнозія. Посібник для практичних занять: навчальний посібник – К.: Медицина, 2006 – 272 с.
5. Большой практикум по физиологии человека и животных [Текст] : учебное пособие для гос. ун-тов / М. П. Березина, Н. Е. Василевская, М. С. Авербах [et al.] ; под общ. ред.: Л. Л. Васильева, И. А. Ветюкова. – М. : Высшая школа, 1961. – 675 с. – 2,04.
6. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. М., ФБК-ПРЕСС, 1999;
7. Бутенко, Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений /Р.Г. Бутенко. – М.: Наука, 1988. – 272с.
8. Вільям Ф. Ганонг, Фізіологія людини, Л., 2002р., С. 518-544.
9. Гаммерман А.Ф. Курс фармакогнозии. - Л.: Медицина, 1967. 703 с.
10. Гонський ЯЛ. Біохімія людини / Гонський ЯЛ., Максимчук Т.П., Калинський М.І. – Т.: Укрмедкнига, 2002. – 744 с.
11. Губський Ю.І. Біологічна хімія. – Київ-Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. – 508с.
12. Державна Фармакопея України / Держ. п-во “Науково-експертний фармакопейний центр”. – 1-е вид., 2 допов. – Х. :

- Держ. п–во “Науково–експертний фармакопейний центр”, 2008. – 620 с.
13. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 1-е вид. – Доповнення 4. – Харків: «Державне підприємство Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2011. — 540 с.
 14. Державний формуляр лікарських засобів / МОЗ України, Державний фармакологічний центр ; за ред. В.Т.Чумака. – К.: Моріон, 2009. – вип..1. – 1160с.
 15. Джоуль Дж., Миллс К. Химия гетероциклических соединений. – М.: Мир, 2004. – 728 с.
 16. Енциклопедичний тлумачний словник фармацевтичних термінів: українсько-латинсько російсько-англійський.: Навчальний посібник для ВМНЗ/Черних В. П. (за ред.): Нова Книга, 2014 – 824 с.
 17. Європейська конвенція про захист хребетних тварин від 1986 р. [Електронний ресурс]. – Режим доступу : http://zakon5.rada.gov.ua/laws/show/994_137.
 18. Кобзар А.Я. Фармакогнозія в медицині. – К.:б.в., 2004. – 476 с.
 19. Ковальов В. М. Фармакогнозія з основам біохімі рослин/ О. І. Павлі, Т. І. Ісаков/ Підручник для студентів фармц ф-тів навч закл т фарма ф-ті вищи мед нав закл III—IV рівні акре (2- ви) — X Вид-в НФаУ, МТК-книга. 2004 — 704 с.
 20. Ковальов В.М., Павлій О.І., Ісакова Т.І. Фармакогнозія з основами біохімії рослин / За ред. проф. В.М. Ковальова. – Харків: Прапор, вид-во НФаУ, 2004.-704 с.
 21. Копильчук Г.П. Біохімія: Навчальний посібник / Копильчук Г.П., Волощук О.М., Марченко М.М. – Чернівці: Рута, 2004. – 224 с.

22. Крамаренко В.П. Токсикологічна хімія: Підруч.: Пер. з рос. - К.: Вища школа, 1995. - 423с.: іл. – Бібліогр.: с. 409-410 (28 найм.).
23. Ластухін Ю.О. Хімія природних органічних сполук: Навч. посібник. – Львів: Національний університет «Львівська політехніка», 2005. – 560с.
24. Лекарственное растительное сырье. Фармакогнозия: учебное пособие / под ред. Г.П.Яковлева и К.Ф.Блиновой. – СПб.: СпецЛит, 2004. – 765 с.
25. Лекарственное сырье растительного и животного происхождения. Фармакогнозия: учебное пособие /под ред. Г.П.Яковлева. – СПб.: СпецЛит, 2006. – 845 с.
26. Лікарські рослини / Лихочвор В.В., Борисюк В.С., Дубковецький С.В. та ін. – Львів: Українські технології, 2003. – 265с.
27. Лікарські рослини в таблицях та схемах: Навчальний посібник. / Укладачі: О. О. Аннамухаммедова, А. О. Аннамухаммедов. - Житомир: Вид-во ЖДУ ім. І. Франка, 2016 - 187 с.
28. Лікарські рослини. Енциклопедичний довідник / За ред. А.М.Гродзінського. - Київ: вид. Українська енциклопедія, 1992.- 544с.
29. Маміна О.О. Порівняльна оцінка методів ізолювання «лікарських» отрут основного характеру з біологічних об'єктів // Фармацевт. журн. – 2001. - № 5.- С.70-74.
30. Марчишин С., Демидяк О. Арніка лікує. – Тернопіль: Підручники і посібники, 2009. – 64с.
31. Машковский М.Д. Лекарственные средства. – 15-е изд., перераб. и доп. – М.: ООО «Издательство Новая Волна», 2005. – 1200 с.
32. Методичні рекомендації з контролю якості лікарських засобів. Модуль «Лікарські засоби, похідні гетероциклів, алкалоїдів, вуглеводів та вітамінів» / В. А. Георгіянц [та ін.] – Х. : Вид-во НФаУ, 2018. – 67 с.

33. Мінареченко В. М., Серета П. І. Ресурсознавство. Лікарські рослини. навчально-методичний посібник.- К.: Фітосоціоцентр, 2004.- 71 с.
34. Мороз А.С., Луцевич Д.Д., Яворська Л.П. Медична хімія/ Видання друге, стереотипне/. – Вінниця: НОВА КНИГА, 2008. – 776 с. – ISBN 978-966- 382-086-6.
35. Мусянко М.М. Фізіологія рослин. – К.: Вища школа, 1972.-415с.
36. Николаев С. Г., Электромиография: клинический практикум, Иваново, 2013;
37. Носов А.М. Вторичный метаболизм/ Физиология растений/ Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. и др./Под ред. И.П.Ермакова. - М.: Академия, 2005. 640 с.
38. Общая химия. Биофизическая химия. Химия биогенных элементов: Учеб. для вузов / Ю.А. Ершов, В.А. Попков, А.С. Берлянд и др.; Под ред. Ю.А. Ершова. – 4-е изд., стер. – М.: Высш. шк., 2003. – 560 с.
39. Орехов А. П. Химия алкалоидов. — Изд. 2. — М.: АН СССР, 1955. — 859 с.
40. Практикум по фармакогнозии: Учеб.пособие для студентов вузов / В.Н.Ковалев, Н.В.Попова, В.С.Кисличенко и др. – Х.: Изд-во НФаУ; Золотые страницы, 2003. – 512 с.
41. Протипухлинні алкалоїдні препарати нового покоління / М. Луцик, Н. Бойко, М. Луцик, Р. Стойка // Праці Наукового товариства ім. Шевченка. — Л., 2008. — Т. XXI: Хемія і біохемія. — С. 227–241. — Бібліогр.: 57 назв. — укр.
42. Сербін А.Г., Сіра Л.М., Слободянюк Т.О. Фармацевтична ботаніка. Підручник / Під ред. Л.М.Сірої. - Вінниця: Нова книга, 2007. - 488 с.
43. Сировинні джерела продуктів біотехнології та їх аналіз : навч. посіб. для студ. вищ. навч. закл. III–IV рівнів акредитації, освітній

- напрямок «Біотехнологія» / В.С. Кисличенко, А.М. Комісаренко, І.О. Журавель та ін. ; за ред. проф. В.С. Кисличенко. — Харків, 2009. — 304 с.
44. Солодовниченко Н. М. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати: посібник з фармакогнозії з основами біохімії лікарських рослин / Солодовниченко Н. М., Журавльов М. С., Ковальов В. М. – Х. : Вид-во НФАУ «Золоті сторінки», 2001. – 408 с.
45. Трахтенберг І.М. Книга про отрути та отруєння: Нариси токсикології: пер. з рос. –Тернопіль: ТДМУ, 2008. - 364с.: іл., табл. – Бібліогр.: с. 355- 360 (116 найм.). – ISBN 978-966-673-108-4.
46. Фармакогнозія з основами біохімії рослин : підруч. для студ. вищ. фармац. закл. освіти та фармац. ф-тів вищ. мед. закл. Освіти III–IV рівнів акредитації / В.М. Ковальов, О.І. Павлій, Т.І. Ісакова; за ред. проф. В.М. Ковальова. — Харків : Прапор ; Вид-во НФаУ, 2000. — 703 с.
47. Фармакопея України / Держ. п-во “Науково–експертний фармакопейний центр”. – 1–е вид., 3 допов. – Х. : Держ. п-во “Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”, 2009. – 280 с.
48. Фармацевтична енциклопедія/Голова ред. ради В.П. Черних – К.: Моріон, 2010 – 1632 с.
49. Фармацевтична хімія. Підручник для вищ. фармац. навч. закл. і фармац. ф-тів вищ. мед. навч. закл. III- IV рівнів акредитації /За загальною редакцією П.О. Безуглого. – Вінниця, Нова книга, 2008. -560 с.
50. Фізіологія [Текст] : навчальний посібник для студ. вищ. мед. навч. закл. / С. М. Белан, О. О. Вернигор, Н. М. Зеленіна [et al.] ; за ред. В. Г. Шевчука. – Вінниця : Нова Книга, 2005. – 576 с. – ISBN 966-8609-17-4 : 48.00.

51. Фундаментальна та клінічна фізіологія / За ред. Камкіна А.Г. і Кам'янського А.А. - М.: Видавничий центр "Академія", 2004. - 1072 с.
52. Чечеткін І.Р., Неуструева С.Н., Сіянова Н.С., Вінтер В.Г. Влияние экстремальных факторов на накопление алкалоидов в культуре ткани *Rauwolfia serpentina* Benth./Растительные ресурсы. 2001. Т.37, вып.2. С.90-95.
53. Шмалей С.В., Гайдай М.І., Гасюк О.М., Кравченко Ю.В. Методичні розробки лабораторних занять з фізіології людини та тварин. У 2 ч.- Ч. I - Херсон: Вид-во ХДПУ, 2002.
54. Шмалей С.В./Методичні розробки лабораторних занять з фізіології людини та тварин (частина I)/ М.І.Гайдай, О.М.Гасюк, Ю.В.Кравченко. Херсон: Видавництво ХДПУ, 2002.- 64 с.
55. Hansel R., Sticher O., Steinegger E. Pharmacognosy, Phytopharmacy. – Berlin, Heidelberg: Springer–Verlag, 1999. – 1403 p.
56. Harborne J. B., Baxter H., Moss G. P. Phytochemical dictionary: a handbook of bioactive compounds from plants. Second Edition. – London: Taylor & Francis Ltd, 1999. – 961 p
57. Karrer W. Die Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe. – BaselStuttgart, 1958. – 1120 p.
58. Evans W. C. Trease and Evans' Pharmacognosy. – 15th Edition. – London: Saunders Ltd., 2002. – 616 p.
59. Bourgaud F., Gravot A., Milesi S., Gontier E. Production of Plant Secondary Metabolites: a Historical Perspective/ Plant Science. 2001. V.161. PP.839-851.
60. Davies K. Transcriptional Regulation of Secondary Metabolism /Functional Plant Biology. 2003. V. 30. PP. 913-925.
61. Gershenzon J. Plant Defenses: Surface Protectants and Secondary Metabolites. In: Plant Physiology, 3rd ed., Eds. L.Taiz and E.Zeiger. - Massachusetts: Sinauer Associates, Sunderland, 2003. P. 347-376.

62. Medicinal Spices : A Handbook of Culinary Herbs, Spices, Spice Mixtures Their Essential Oils. Eberhard Teuscher. — Stuttgart : medpharm GmbH Scientific Publishers, 2006. — 459 p
63. P.Biginelli. Chem. Ber., 24, 2962 (1893)
64. The United States Pharmacopoeia 37 : The National Formulary 32. — New York, 2014. — 2569 p.

ДОДАТКИ

**Коротка фармакогностична характеристика
лікарської рослинної сировини
Алкалоїди**

		Дія	Представники
<p>Насіння кави – Semina Coffeae Кавове дерево аравійське (кава арабіка) – <i>Coffea arabica</i> L. маренові – Rubiaceae</p>	Кофеїн (як АФІ), кофеїн-бензоат натрію	Психостимул ювальна, аналептична	Пуринові алкалоїди (кофеїн, теобромін, теофілін);
<p>Листя чаю – Folia Theae Чай китайський (Камелія китайська) – <i>Thea sinensis</i> L. (<i>Camellia sinensis</i> Kuntze) чайні – Theaceae</p>	Настій; густий екстракт; збори (садіфіт); антифронт кофеїн (як АФІ)	Психостимул ювальна, аналептична	Пуринові алкалоїди (кофеїн, теобромін, теофілін); катехіни; таніди
<p>Насіння какао – Semina Cacao Какао, шоколадне дерево – <i>Theobroma cacao</i> L. мальвові – Malvaceae (раніше – Sterculiaceae)</p>	Теобромін	Психостимул ювальна, діуретична	Пуринові алкалоїди (кофеїн, теобромін, теофілін);
<p>Листя фірміани простої (стеркулії платанолистої) – Folia Firmianae simplicis (Folia Sterculiae platanifoliae) Фірміана проста (стеркулія платаноліста) – <i>Firmiana simplex</i> (<i>Sterculia platanifolia</i>) мальвові – Malvaceae</p>	Настойка (1:5, 70% спирт)	Психостимул ювальна, тонізуюча	Таніди (3,6%), алкалоїди; У насінні: пуринові алкалоїди (кофеїн, теобромін, теофілін), жирна олія

2

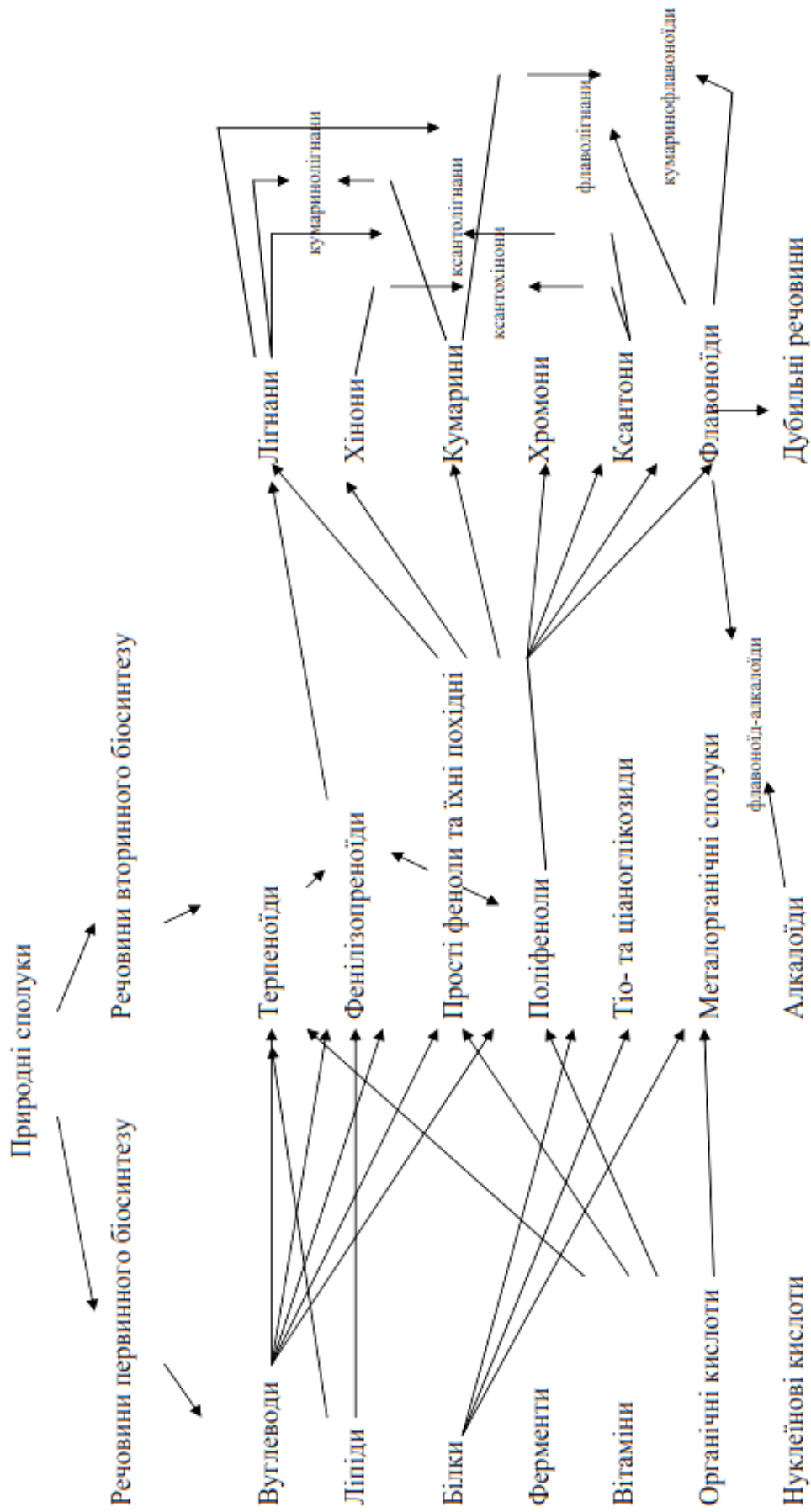
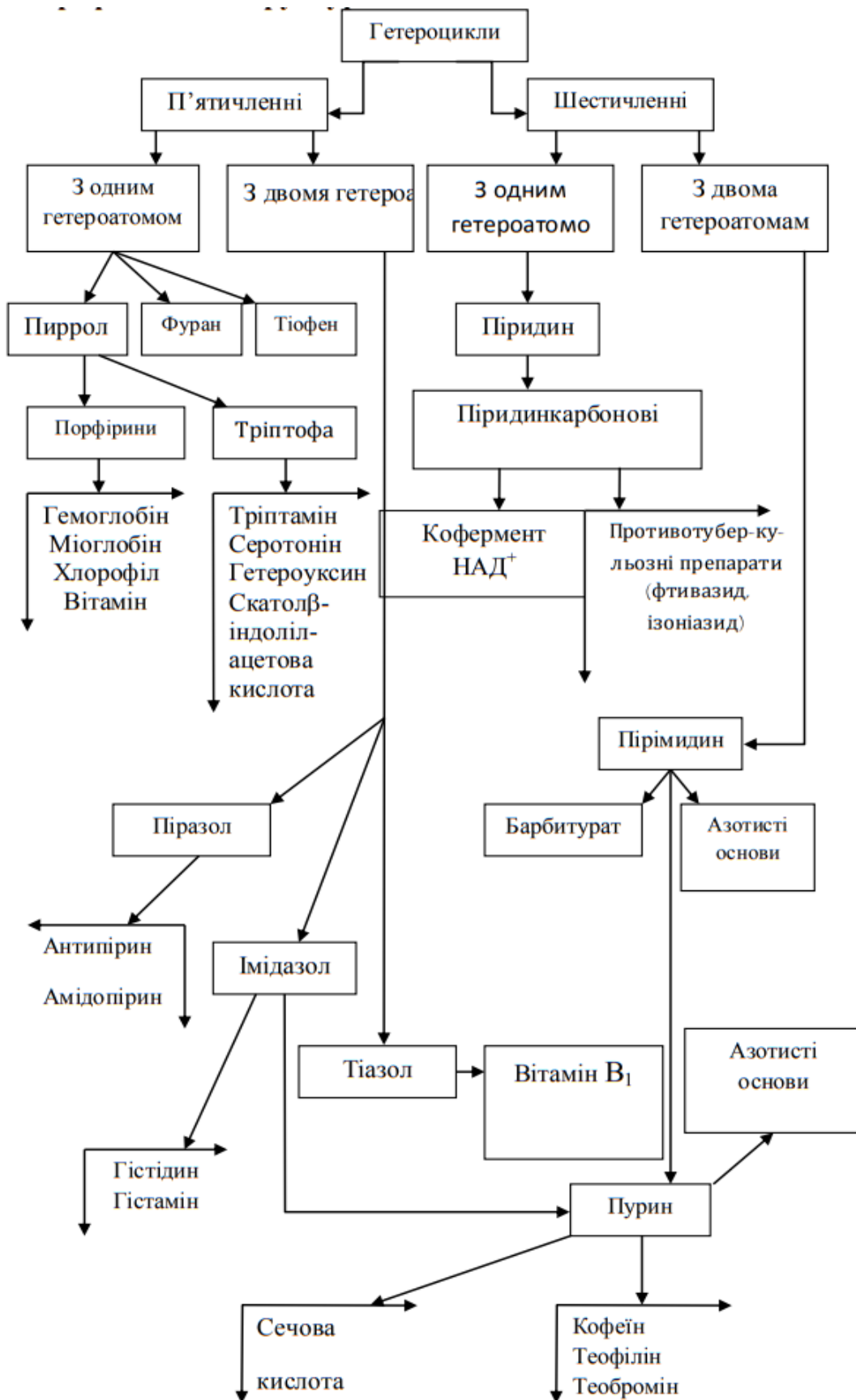


Рис. 1. Загальна класифікація природних сполук. Прямі та криві стрілками показано біогенетичні метаболічні зв'язки між класами сполук, меншим шрифтом наведено «перехідні» класи речовин.



Графологічна структура гетероциклічних речовин