

7. Мясичева, Н.В. Изучение биологически активных веществ ягод черной смородины в процессе хранения / Н.В. Мясичева, Е.Н. Артемова // Техника и технологии пищевых производств. – 2013. – № 3. – С. 31-35.
8. Оковитый, С.В. Клиническая фармакология антиоксидантов / С.В. Оковитый // ФАРМиндексПрактик. – 2001. – № 5. – С. 85-111.
9. Петрова, А.П. Химический состав пырея ползучего и изучение его антиоксидантной активности при аллергическом контактном дерматите / А.П. Петрова [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2009. – Т. 43, № 1. – С. 30-32.
10. Ройт, А. Основы иммунологии: пер. с англ. / А. Ройт. – М.: Мир, 1991. – 327 с.
11. Фархутдинов, Р.Р. Методики исследования хемилюминесценции биологического материала на хемилюминометре ХЛ-003 / Р.Р. Фархутдинов, С.И. Тевдоразде // Методы оценки антиоксидантной активности биологически активных веществ лечебного и профилактического назначения: сборник докладов / под ред. Е.Б. Бурлаковой. – М.: Изд-во РУДН, 2005. – С. 147-154.
12. Хасанова, С.Р. Сравнительное изучение антиоксидантной активности растительных сборов / С.Р. Хасанова, Т.И. Плеханова, Д.Т. Гашимова, Э.Х. Галиахметова // Вестник Воронежского университета. – 2007. – № 1. – С. 163-166.

УДК:[615.032.778:547.995.15:612.793.4]-0.92.9.

© Коллектив авторов, 2017

А.Г. Галеева, О.М. Капулер, Л.М. Саптарова, Ф.Х. Камилов
**ВЛИЯНИЕ ИНТЕРДЕРМАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ПРЕПАРАТА
 ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ГИАЛУРОНАНА НА УРОВЕНЬ НЕКОТОРЫХ
 ФАКТОРОВ РОСТА**

*ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
 Минздрава России, г. Уфа*

Среди воздействий, используемых для омоложения кожи в косметологии и эстетической медицине, особенно широко применяются инъекционные методы. Одним из наиболее физиологичных и безопасных в инъекционной косметологии является введение препаратов нативной и частично стабилизированной гиалуроновой кислоты (гиалуронан). Однако данные, характеризующие формирование терапевтических эффектов на молекулярном уровне, единичны и являются недостаточными для понимания биохимических механизмов, лежащих в основе их действия.

Целью исследования явилось определение в периферической крови содержания инсулиноподобного ростового фактора 1 (IGF1) и трансформирующего ростового фактора бета 1 (TGF-β1) при внутридермальном введении препарата – нестабилизированного высокомолекулярного гиалуронана в условиях эксперимента. Интердермальное трехкратное введение препарата нестабилизированной высокомолекулярной гиалуроновой кислоты проводили самкам белых крыс зрелого возраста (11-12 месяцев) массой 280-320 г. Содержание в сыворотке крови ростовых факторов определяли методом иммуноферментного анализа. Препарат, содержащий 13,5 мг/мл гиалуронана с молекулярной массой 1 млн Да, вводили на 1-е, 3-и и 6-е сутки эксперимента. Содержание сигнальных молекул определяли на 2-, 4-, 7-, 21-е и 37-е сутки опыта. Установили, что содержание IGF-1 повышается на 21- и 37-е сутки, а TGF-β1 – во все сроки исследования. В статье обсуждаются механизмы изменения уровня ростовых факторов и их значение.

Ключевые слова: высокомолекулярная гиалуроновая кислота, интердермальное введение, инсулиноподобный ростовый фактор 1, трансформирующий ростовой фактор – бета 1.

A.G. Galeeva, O.M. Kapuler, L.M. Saptarova, F.Kh. Kamilov
**INFLUENCE OF INTERDERMAL INJECTION OF A HIGH-MOLECULAR
 HYALURONAN ON THE LEVEL OF SOME GROWTH FACTORS**

In cosmetic and esthetic medicine injections are widely used to renew skin. One of the most physiological and safest method in injective cosmetology is injection of native and partially stabilized hyaluronic acid (hyaluronan). However, the data, characterizing emergence of therapeutic effects at molecular level are occasional and are insufficient to understand biochemical mechanisms, being the ground for their action.

The objective of the work is to study peripheral blood to determine insulinoid growth factor 1 (IGF1) and transforming growth factor – beta 1 (TGF-β1) during interdermal injection of nonstabilized high-molecular hyaluronic acid under experiment. Females of mature white rats (11-12 months) weighing 280-320 g were injected nonstabilized high-molecular hyaluronic acid three times interdermally. Immunoenzymometric analysis was used to determine growth factors in blood plasma. The medicine containing 13,5 mg/ml of hyaluronan with a molecular weight of 1 or Da was injected on the 1st, 3rd and 6th days of the experiment. The content of signal molecules was defined on the 2nd, 4th, 7th, 21st and 37th days of experience. It is established that IGF-1 increases on the 21st and 37th days, and TGF-β1 – during all periods of the research. Mechanisms of change of growth level factors and their value are discussed in the paper.

Key words: high-molecular hyaluronic acid, interdermal introduction, insulinoid growth factor 1, transforming growth factor – beta 1.

Среди воздействий, используемых для омоложения кожи в косметологии и эстетической медицине, особенно широко применяются инъекционные методы. Одним из наиболее физиологичных и безопасных в инъекционной косметологии является препарат нативная и частично стабилизированная гиалуроновая кислота (гиалуронан), что объясняется особенностями структуры, свойств и биологических функций гиалуронана (ГУ) [3,4,14,15]. Вместе

с тем эффективность применения в целях коррекции инволюционных изменений кожи препаратов ГУ обоснованы преимущественно констатацией визуализируемых клинических результатов, а данные, характеризующие формирование терапевтических эффектов на молекулярном уровне, единичны и недостаточны для понимания биохимических механизмов, лежащих в основе их действия. С этих позиций внимание привлекают фрагмен-

ты ГУ с различной молекулярной массой, обладающие по некоторым данным [4,7,14] разной биологической активностью. Так, фрагменты с молекулярной массой более 500000 Da подавляют размножение и миграцию клеток, блокируют ангиогенез, а с молекулярной массой до 100000 Da, наоборот, индуцируют образование ряда цитокинов и факторов роста, потенцируя пролиферацию фибробластов, стимулируя ангиогенез, вызывая экспрессию комплекса ферментов ремодуляции внеклеточного матрикса. Однако имеются данные, указывающие на отсутствие эффекта, наличие явных и потенциальных побочных эффектов при мезотерапии препаратами этой группы [5].

Цель исследования – определить в периферической крови содержание инсулиноподобного ростового фактора 1 и трансформирующего ростового фактора бета 1 при внутридермальном введении препарата нестабилизированного высомолекулярного гиалуронана в условиях эксперимента.

Материал и методы

Исследования проведены на 72 самках белых крыс зрелого возраста (11-12 месяцев) массой 280-320 г. Крысам опытной группы под легким эфирным наркозом вводили препарат «Juvederm Hydrate™» (Франция), содержащий 13,5 мг геля гиалуронана с молекулярной массой 1 млн дальтон и 9 мг маннитола в 1 мл фосфатного буфера pH7,2 из расчета 0,06 мл на 1 кг массы. Контрольной группе крыс вводили стерильный физиологический раствор. Инъекции осу-

ществляли внутридермально техникой мезотерапии на боковые поверхности туловища (площадь 3×3 см) после удаления шерстяного покрова трижды с интервалами в трое суток (1-, 3- и 6-й дни эксперимента). Животных на 2-, 4-, 7-, 21- и 37-е сутки после первой инъекции выводили из опыта под легким эфирным наркозом.

В сыворотке крови определяли содержание факторов роста методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов реагентов фирмы Bendermed Systems (США) и анализатора Stat Fox 2100.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica 6 for Window с расчетом медианы, верхнего и нижнего квартилей. Межгрупповые различия показателей оценивали по критерию Манна – Уитни с поправкой Бонферони. За критический уровень значимости принимали $P \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Из представленных в таблице результатов исследования видно, что динамика изменений содержания определяемых сигнальных молекул в сыворотке крови на протяжении эксперимента значительно отличается. Уровень IGF-1 на следующие после введения препарата гиалуроновой кислоты дни (2-е, 3-и и 7-е сутки эксперимента) не подвергался статистически значимым колебаниям по сравнению с контролем. Повышение его содержания обнаруживалось в более отдаленные сроки: на 21-е сутки – статистически вероятно ($P=0,0529$), а на 37-е сутки – статистически значимо ($P=0,0245$).

Таблица

Содержание факторов роста в сыворотке крови самок крыс зрелого возраста при внутридермальной инъекции препарата гиалуронана, Me [Q₁-Q₃].

Показатели	Контрольная группа n=14	Опытная группа				
		2-е сутки, n=8	4-е сутки, n=10	7-е сутки, n=10	21-е сутки, n=10	37-е сутки, n=10
IGF1	124 [88-163]	118 [85-136] P=0,3837	142 [83-152] P=0,3136	163 [105-184] P=0,1193	184 [125-188] P=0,0529	202 [174-223] P=0,0245
TGF	3248 [2563-4009]	4798 [4207-4930] P=0,0016	3945 [3606-4116] P=0,0259	4994 [3896-4779] P=0,0086	3988 [3521-4299] P=0,0377	4077 [3868-4479] P=0,0445

Уровень TGF-β1 увеличивался в сыворотке крови крыс опытной группы уже на 2-е сутки после инъекции препарата гиалуроновой кислоты ($p=0,0016$) и с некоторыми колебаниями сохранялся на более высоких значениях до конца эксперимента.

IGF-1 и TGF-β1 относятся к группе сигнальных молекул, основное действие которых направлено на стимулирование пролиферации и роста клеток, хотя они обладают плейотропным характером эффектов [11, 13].

IGF-1 по структуре близок к инсулину, продуцируется печенью, клетками соединительной и других тканей (частично под контролем соматотропина), обладает прямым эффектом как *in vivo*, так и *in vitro*, относится к аутокринно-паракринным факторам, вовлеченным в клеточную пролиферацию *in situ* [12].

Свое действие фактор оказывает через рецептор IGFR-1 и частично через рецептор инсулина IR. Его взаимодействие с цитоплазматическими рецепторами, обладающими ферментативной активностью тирозинкиназы, обуславливает в последующем активацию (фосфорилирование) белков, участвующих в интрацеллюлярном распространении сигналов [8,11].

Учитывая представленные данные, увеличение содержания IGF-1 в отдаленные сроки (21-, 37-е сутки) после завершения внутридермальной инъекции препарата гиалуроновой кислоты может косвенно отражать стимуляцию процессов пролиферации и роста клеток кожи в области введения гиалуронана.

TGF- β 1 входит в суперсемейство трансформирующего ростового фактора, насчитывающее около 100 представителей, действует на клетки через рецепторы – серин/треонин-протеинкиназы и использует SMAD-систему интрацеллярного распространения сигналов [13], продуцируется многими типами клеток, включая активированные макрофаги, Т-лимфоциты, фибробласты, фиброциты, эпителиальные и др. Фибробласты способны синтезировать разные ключевые посредники воспаления [9], а TGF- β 1 обладает противовоспалительным эффектом, подавляя синтез воспалительных цитокинов, ответ лимфоцитов на действие ИЛ-2, -4 и -7, формирование цитотоксических NK-и Т-клеток [13]. В серии исследований по оценке влияния нативного ГУ и его модифицированных формул на биологическую ткань и клеточные линии показано, что при субдермальном введении экспериментальным животным воспалительный ответ на повреждение и введение препарата сопровождался умеренной нейтрофильной инфильтрацией, сменяющейся в динамике на лимфоцитарно-макрофагальную [2]. Возможно, в этой связи, увеличение содержания TGF- β 1 в первую неделю эксперимента, когда через каждые 3 дня – 1-е, 3-и и 6-е сутки эксперимента проводились внутридермальные инъекции препарата ГУ, связано с реакцией на воспалительный ответ ткани дермы, проявляющийся в виде интенсификации секреции данного противовоспалительного регуляторного фактора.

Вместе с тем TGF- β 1 оказывает анаболическое действие, усиливая синтез белков внеклеточного матрикса, способствует заживлению ран и стимулирует ангиогенез [13]. Сохранение его повышенного уровня на 21- и 37-е сутки эксперимента, вероятно, является следствием интенсификации пролиферации фибробластов, усилением их биосинтетической функции. Так, при введении гелей гиалуроновой кислоты в кожу у экспериментальных животных наряду с интенсивной резорбцией ГУ активизировались процессы пролиферации фибробластов, синтез коллагена и неоангиогенез [2]. С этих позиций важны не только способность клеток соединительной ткани продуцировать TGF- β 1, но и возможность под его влиянием активной дифференциации циркулирующих фиброцитов в репаративных фибробластах [10] и эпителиально-мезенхимальный переход (трансдифференциация) клеток эктодермального происхождения в репаративные фибробласты [6,16], которые в свою очередь экспрессируют сигнальные молекулы – TGF- β 1 и ростовый фактор соединительной ткани, интенсивно продуцируют коллагены I и III типов [11]. Об активации продукции коллагена фибробластами дермы при внутридермальном введении препарата высокомолекулярного ГУ свидетельствуют и данные, полученные при непосредственном определении содержания в коже экспериментальных животных общего коллагена и его фракции [1].

Заключение

Внутридермальное введение препарата высокомолекулярной нестабилизированной гиалуроновой кислоты методом мезотерапии у животных зрелого возраста усиливает секрецию IGF-1 и TGF- β 1, что может отражаться на пролиферации и росте клеток дермы в области инъекции.

Сведения об авторах статьи:

Галеева Айгуль Гафуровна – аспирант кафедры биологической химии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: galeevmt@mail.ru
Капулер Ольга Марселевна – д.м.н., заместитель главного врача по лечебной работе ЗАО «Косметологическая лечебница». Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Комсомольская, 37.
Саптарова Лилиана Минкаировна – к.б.н., ассистент кафедры биологической химии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: broo-raops@yandex.ru
Камилов Феликс Хусаинович – д.м.н., профессор кафедры биологической химии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: broo-raops@yandex.ru

ЛИТЕРАТУРА

1. Галеева, А.Г. Метаболизм коллагена при внутридермальной инъекции нестабилизированной гиалуроновой кислоты в эксперименте / А.Г. Галеева, Ф.Х. Камилов, О.М. Капулер // Медицина: актуальные вопросы и тенденции развития: материалы VII международной научно-практической конференции. – Краснодар, 2016. – С.33-38.
2. Михайлова, Н.П. Сравнительное исследование взаимодействия инъекционных гелей немодифицированной и модифицированной гиалуроновой кислоты с биотканью / Н.П. Михайлова, А.Б. Шехтер // Вестник эстетической медицины. – 2014. – Т.13, № 3-4. – С.55-62.
3. Хабаров, В.Н. Гиалуроновая кислота / В.Н. Хабаров, П.Л. Байков, М.А. Селянин. – М.: Практическая медицина, 2012. – 224 с.
4. Чайковская, Е.А. Гиалуроновая кислота и ее фрагменты. Биологические свойства в ракурсе фармакотерапии / Е.А. Чайковская, А.А. Шарова // Инъекционные методы и композиции. – 2012. – № 1. – С. 9-16.
5. Efficacy of mesotherapy in facial rejuvenation: a histological and immunohistochemical evaluation / M. El-Damyati [et al.] // Int. J. Dermatol. – 2012. – Vol.51 (8). – P.913-919.

6. Fan L., Sebe A., Peterfi Z. [et al.]. Cell contact-depended regulation of epithelial-mesenchymal transition via the Rho-Rho kinase – phosphomyosin payhway / L. Fan [et al.] // Mol. biol. Cell. – 2007. – Vol. 18. – P.1083-1097.
7. Ferguson E.L., Evaluation of the physical and biological properties of hyaluronan and hyaluronan fragments // Int. J. Pharm. – 2011. – Vol. 420, № 1. – P.84-92.
8. Firth, S.M. Cellular uction of the insulin-like growth factor binding proteins / S.M. Firth, R.C. Baxter // Endocrin.Rev. – 2000. – Vol. 23. – P.824-840.
9. Gompets, B.N. Fibrocytes in lung diseases / B.N. Gompets, R.M. Strieter // J. Lenkoc. Biol. – 2007. – Vol. 82, № 3. – P.449-456.
10. Hong, K.M. Differentiation of human circulating fibrocytes as mediated by treansforming growth factor – β and peroxisome proliferator-activated receptor Y / K.M. Hong, J.A. Belperlo, M.P. Keano // J. Biol. Chem. – 2007. – Vol. 282, № 31. – P.22910-22920.
11. Monzani R., cohen P. IGFs and IGFsPs: role in health and disease // Best.Pract.Res.Clin.Endocrin.Litab. – 2002. Vol. 16. – P.433-447.
12. Planque N. Nuclear trafficking of secreted factors and cell-surface receptors: new pathways to regulate cell proliferation and differentiation, and involvement in cancers // Cell Commun.signal. – 2006. – Vol. 4. – P.7.
13. Rifkin D.B. Latent transforming growth factor – β (TGF- β) binding proteins: orchestration of TGF- β availability // J.Biol.Chem. – 2004. –Vol. 280, № 9. – P.7409-7412.
14. Stern, S. Hyaluronan in skin: aspects of aging and farmocologuie modulation / S. Stern, H.I. Maibach // Clinies in Dermatology. – 2008. – Vol. 26, № 2. – P.1006-1022.
15. Tedeschi, A. Mesatherapy with an intreadermal hyaluronic acid formulation for skin requenation: an intrapatient, placebo-controlled, long-term trial using high-frequency ultrasound / A. Tedeschi, F. acarubba, G. Micall //Aesthetic Plast.Surg. – 2015. – Vol. 33(1). – P.129-133.
16. Aproximal activator of transcription in epithelial – messenchymal transition / C.D. Venkov [et al.] // J.Clin. Invest. – 2007. – Vol. 117, № 2. – P.482-491.
17. Fibrocytes from burn patients regulate the activities of fibroblasts / J.F. Wang [et al.] // Wound Repar.Regen. – 2007. – Vol.15, № 1. – P.113-121.

УДК 547.853.1/718

© А.В. Шумадалова, 2017

А.В. Шумадалова

СИНТЕЗ НОВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ТИЕТАНСОДЕРЖАЩИХ ПРОИЗВОДНЫХ ТИОПИРИМИДИНА

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»

Минздрава России, г. Уфа

В результате данного исследования осуществлены синтез и прогнозирование биологической активности и токсичности новых *O*-тиетансодержащих производных 2-тиопиримидина.

Индивидуальность синтезированных соединений подтверждена методом тонкослойной хроматографии и определением температуры плавления. Установление структуры и возможных изомеров полученных соединений осуществлено методом спектроскопии ЯМР.

Исследовано взаимодействие этил-2-[6-метил-4-(тиетан-3-илокси)пиримидин-2-илтио]ацетата с гидразингидратом, разработана методика получения гидразида 2-[6-метил-4-(тиетан-3-илокси)пиримидин-2-илтио] уксусной кислоты. Согласно данным спектров ЯМР наличие двух сигналов протонов фрагмента тиацетогидразида свидетельствует о наличии характерной для гидразидов *E,Z*-изомерии за счет заторможенного вращения вокруг гидразидной связи N-C.

На основе гидразида 2-[6-метил-4-(тиетан-3-илокси)пиримидинилтио]уксусной кислоты получены соответствующие гидразоны реакцией с карбонильными соединениями при кипячении в среде этанола без применения кислотных катализаторов.

Осуществлен предварительный прогноз возможных видов биологической активности впервые синтезированных *O*-тиетансодержащих производных 2-тиопиримидина с использованием компьютерных программ PASS и GUSAR.

Согласно прогнозу синтезированные соединения относятся к малотоксичным веществам и могут проявлять противомикробную, противовирусную, ноотропную активности, быть ингибиторами реакции Мейларда, ингибиторами тиюловых протеаз и стимулировать лейкопоэз.

Ключевые слова: тиопиримидин, тиетан, биологическая активность.

A.V. Shumadalova

SYNTHESIS OF NEW BIOLOGICALLY ACTIVE THIETHANE CONTAINING DERIVATIVES OF THIOPYRIMIDINE

As a result of this research, synthesis, prediction of biological activity, toxicity of new *O*-thiethane containing derivatives of 2-thiopyrimidine was carried out.

The individuality of the synthesized compounds was confirmed by thin-layer chromatography and the determination of the melting point, the determination of the structure and possible isomers of the obtained compounds was made using the NMR spectroscopy method.

The interaction of ethyl-2-[6-methyl-4-(thiethan-3-yloxy)pyrimidin-2-ylthio]acetate with hydrazine hydrate was studied, a method of the preparation of 2-[6-methyl-4-(thiethan-3-yloxy)pyrimidin-2-ylthio]acetic acid was developed. According to the NMR spectra, the presence of two proton signals of the thioacetohydrazide fragment indicates *E,Z*-isomerism characteristic for hydrazides due to inhibited rotation around the hydrazide N-C bond.

Based on 2-[6-methyl-4-(thiethan-3-yloxy)pyrimidinylthio]acetic acid hydrazide, the corresponding hydrazones were prepared by reaction with carbonyl compounds by boiling in ethanol without the use of acid catalysts.

A preliminary prediction of possible types of biological activity for the new synthesized *O*-thiethane containing derivatives of 2-thiopyrimidine was carried out using computer programs PASS and GUSAR.

According to the prediction, the synthesized compounds belong to low-toxic substances and can exhibit antimicrobial, antiviral, nootropic activity, be Maillard reaction inhibitor, thiol protease inhibitor and stimulate leukopoiesis.

Key words: thiopyrimidine, thiethane, biological activity.