

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ЛЮБАС НАТАЛІЯ МИРОНІВНА

УДК 616-092.4:661.28:636.087.8:573.4:577.1

ДИСЕРТАЦІЯ

**АНТИМІКРОБНА ТА БІОХІМІЧНА ДІЯ СУЛЬФУРОВМІСНИХ
СИНТЕТИЧНИХ СПОЛУК НА ОКРЕМІ ЛАНКИ МЕТАБОЛІЗМУ В
ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ.**

091 – « Біологія»

09 – «Біологія»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ Наталія ЛЮБАС

Наукові керівники:

Іскра Руслана Ярославівна, доктор біологічних наук, професор;

Лубенець Віра Ільківна, доктор хімічних наук, професор

Львів – 2023

АНОТАЦІЯ

Любас Н. М. Антимікробна та біохімічна дія сульфуровмісних синтетичних сполук на окремі ланки метаболізму в організмі щурів. — Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія» (09 - Біологія). — Інститут біології тварин НААН, Львів, 2023.

Дисертація присвячена дослідженню антимікробних та радикал-поглинальних властивостей естерів тіосульфокислот, а також їх впливу на окремі ланки білкового та ліпідного обміну, інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів та активність системи антиоксидантної системи у крові та тканинах щурів.

У результаті дослідження фунгібактерицидної активності синтетичних тіосульфоестерів S-метил-4-амінобензентіосульфонату (МТС), S-етил-4-амінобензентіосульфонату (ЕТС), S-аліл-4-амінобензентіосульфонату (АТС), S-пропіл-4-амінобензентіосульфонату (ПТС) і S-аліл-4-ацетиламінобензентіосульфонату (ААТС) щодо 5 референтних штамів тест-мікроорганізмів *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium luteum*, *Candida tenuis*, *Aspergillus niger*, встановлено, що найвищу активність по відношенню до усіх штамів ілюстрували ЕТС, АТС та ААТС. Для тіосульфоестерів визначено мінімальні значення інгібувальних і бактерицидних концентрацій щодо тестованих штамів мікроорганізмів, що дозволяє характеризувати їх як перспективні антимікробні речовини. У досліджах *in vitro* з'ясовано, що найвищі показники радикал-поглинальної та антиоксидантної активності характерні для АТС, ААТС, ЕТС.

Результати, одержані в досліджах *in vitro*, враховані при подальших дослідженнях тіосульфонатів, які представляють інтерес як потенційні сполуки для захисту кормів від патогенів при їх виробництві та зберіганні. Тому в

наступних досліджах *in vivo* були використані сполуки – ЕТС, АТС, ААТС, які проявили найбільшу антимикробну та радикал-поглинальну активності.

Дослідження *in vivo* проведені у віварії Інституту біології тварин НААН на білих лабораторних щурах лінії Вістар масою тіла від 180 до 220 г. Експерименти проводили згідно із законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 26.02.2006 р. та «Загальними принципами роботи на тваринах», затвердженими I Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001), що погоджені з положеннями «Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, які використовують в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, Франція, 1985). Під час експерименту тварини утримувались у стандартних умовах за постійного температурного режиму, вологості та освітлення, з підтриманням годівельного та питного режиму на рівні, рекомендованому нормами утримання лабораторних тварин.

Дослідження проводили у два етапи, відповідно до досліджуваних доз естерів тіосульфонатів – 100 і 50 мг/кг маси тіла. Лабораторні щурі були поділені на чотири групи по 5 тварин у кожній: I – контрольна, II, III, IV – дослідні. Тваринам контрольної групи одноразово щодоби до корму додавали 0,5 см³ олії. Тваринам дослідних груп до корму додавали по 0,5 см³ олійних розчинів естерів тіосульфонатів у дозах 100 і 50 мг/кг маси тіла, зокрема II групі – ЕТС; III – АТС; IV – ААТС. Для приготування олійних розчинів синтезованих сполук, використовували олію марки «Олейна» (традиційна рафінована, дезодорована, виморожена; виробник ПрАТ з П «ДООЗ»; сертифікована згідно зі стандартом ДСТУ 4492:2017 та відповідно до вимог ISO 14024). У крові і тканинах щурів досліджували вплив ЕТС, АТС, ААТС на систему антиоксидантного захисту та окремі ланки білкового та ліпідного обміну.

Встановлено, що S-етил-4-амінобензентіосульфонат в дозі 100 мг/кг позитивно впливав на антиоксидантний профіль крові, за винятком глутатіонредуктазної активності. У тканинах ЕТС у цій же дозі впливав на зростання вмісту відновленого глутатіону у нирках, активності глутатіонпероксидази – у мозку, глутатіонпероксидази і супероксиддисмутази –

у скелетних м'язах, однак зниження глутатіонпероксидазної активності – у нирках і селезінці. В той час як ЕТС у дозі 50 мг/кг зумовлював зростання активності всіх ензимів антиоксидантної системи у крові і нирках, глутатіонової системи – у мозку, а також підвищення активності супероксиддисмутази і глутатіонпероксидази у печінці, супероксиддисмутази і глутатіонредуктази – у скелетних м'язах, однак зниження глутатіонпероксидази у скелетних м'язах і селезінці.

Виявлено, що S-аліл-4-амінобензентіосульфат в дозі 100 мг/кг у крові тварин зумовлював зростання супероксиддисмутазної та каталазної активності і вмісту відновленого глутатіону на тлі зниження глутатіонредуктазної активності, а у тканинах спостерігалися різноспрямовані зміни, зокрема зростання вмісту відновленого глутатіону у печінці і нирках, однак зниження його у селезінці та мозку, а також зменшення активності супероксиддисмутази – у нирках, каталази – у скелетних м'язах і селезінці, глутатіонпероксидази – у печінці, нирках і скелетних м'язах. А вплив АТС у дозі 50 мг/кг зумовлював зростання всіх ензимів АОС у крові, супероксиддисмутази – у печінці і нирках, глутатіонпероксидази – у печінці, нирках і мозку, однак зниження активності глутатіонредуктази у нирках, каталази – у скелетних м'язах та супероксиддисмутази – у мозку.

S-аліл-4-ацетиламінобензентіосульфат у дозі 100 мг/кг у крові зумовлював зростання супероксиддисмутазної та каталазної активності на тлі зниження глутатіонпероксидазної і глутатіонредуктазної активності. У тканинах ААТС в дозі 100 мг/кг призводив до зростання активності каталази у печінці, глутатіонпероксидази – у селезінці, вмісту відновленого глутатіону – у печінці і нирках, на тлі зниження активності супероксиддисмутази у нирках і селезінці, каталази – у селезінці, глутатіонпероксидази – у печінці, нирках і скелетних м'язах, глутатіонредуктази – у нирках і мозку та зменшення вмісту відновленого глутатіону – у скелетних м'язах і селезінці. За дії ААТС в дозі 50 мг/кг у крові зростали супероксиддисмутазна активність і вміст відновленого глутатіону, на тлі зниження глутатіонпероксидазної активності. У той час у

тканинах спостерігалось зростання супероксиддисмутазиної активності у печінці, глутатіонпероксидазиної – у нирках і скелетних м'язах, глутатіонредуктазиної – у скелетних м'язах, а вмісту відновленого глутатіону – у печінці і нирках, на тлі зниження активності супероксиддисмутази – у селезінці і мозку, каталази – у скелетних м'язах і мозку та глутатіонредуктази – у печінці.

З'ясовано, що S-естери тіосульфокислот впливали на загальну концентрацію ліпідів у крові щурів та співвідношення їхніх класів. Зокрема встановлено, що вміст загальних ліпідів у крові дослідних тварин знижувався за дії ААТС у дозі 100 мг/кг, а за дії ЕТС і АТС у дозі 50 мг/кг. Це свідчить про те що гіполіпідемічний ефект ААТС проявлявся у вищій дозі, ніж ЕТС і АТС. Виявлено, що зниження загальної концентрації ліпідів за дії естерів сульфокислот відбувалося за рахунок зменшення вмісту триацилгліцеролів та естерифікованого холестеролу в плазмі крові тварин.

Встановлено, що за дії ЕТС і АТС у дозі 100 мг/кг в плазмі крові щурів зростала загальна концентрація білків, що свідчить про посилення білоксинтезувальної функції печінки. Крім цього, у крові збільшувалося альбумін/глобулінове співвідношення, зростав коефіцієнт де Рітіса та знижувалася концентрація кінцевого продукту метаболізму білків сечовини, що підтверджує посилення їх анаболізму. За дії досліджуваних S-естерів тіосульфокислот в дозі 50 мг/кг підвищений рівень альбумін/глобулінового співвідношення у крові тварин усіх дослідних груп не впливав на загальну концентрацію білка, однак було виявлено зниження концентрації сечовини та активності лужної фосфатази у крові тварин усіх дослідних груп.

У проведених наукових дослідженнях вперше з'ясовано, що вплив S-етил-4-амінобензентіосульфонату, S-аліл-4-амінобензентіосульфонату та S-аліл-4-ацетиламінобензентіосульфонату на метаболічні процеси в організмі щурів залежить від їх доз та реалізується внаслідок їх безпосередньої дії на конкретні мішені, якими є окремі ланки білкового та ліпідного обміну, а також про/антиоксидантна система в крові й тканинах щурів. Отримані результати досліджень поглиблюють уявлення про новосинтезовані сполуки S-естерів

тіосульфокислоти, які завдяки високій реакційній здатності та широкому спектру дії у визначених дозах можуть бути запропоновані як нові терапевтичні засоби.

Вперше встановлено, що найвищу радикал-поглинальну активність проявляв АТС, дещо уступав по активності ААТС, який відрізнявся будовою радикалу в п-положенні бензенового кільця, а ЕТС проявляв нижчу радикал-поглинальну активність ніж АТС та ААТС.

Вперше виявлено, що S-естери тіосульфокислот у дозах 100 і 50 мг/кг є ефективними у регуляції стану про/антиоксидантної системи та окремих ланок білкового і ліпідного обмінів в організмі тварин. За регуляції антиоксидантної системи найкращий ефект виявляла сполука АТС, далі – ЕТС і ААТС у дозі 50 мг/кг, в той час як за дози 100 мг/кг найбільший ефект проявляв ЕТС. За регуляції ліпідного обміну було виявлено, що гіполіпідемічні ефекти проявляли ААТС у дозі 100 мг/кг, а ЕТС і АТС у дозі 50 мг/кг. За регуляції білкового обміну встановлено, що більш сприятливий вплив на білоксинтезувальну функцію проявляли ЕТС і АТС у дозі 100 мг/кг, однак і в дозі 50 мг/кг усі S-естери тіосульфокислот позитивно впливали на показники білкового обміну в крові.

У дослідженнях встановлено, що застосування S-естерів тіосульфокислот в дозах 100 і 50 мг/кг маси тіла дозволяє регулювати окремі ланки метаболізму в організмі щурів. Різна дія досліджуваних естерів сульфокислот на окремі ланки білкового і ліпідного обміну, про/антиоксидантну систему у крові та тканинах тварин може бути зумовлена як специфікою та фізіологічними особливостями цих тканин, так і біохімічними особливостями досліджуваних сполук в різних дозах. Ці сполуки представляють безперечний практичний інтерес як моделі для вивчення взаємозв'язку між їх структурою і біологічною активністю. Завдяки високій реакційній здатності тіосульфонати можуть бути запропоновані як нові терапевтичні засоби. Вони проявляють надзвичайно широкий спектр біологічної дії поруч з низькою токсичністю, мають сильніші лікувальні властивості і є стабільнішими, ніж їх близькі природні аналоги.

Отже, результати досліджень дозволяють припустити, що S-естери тіосульфокислот, які володіють антимікробними та радикал поглинальними властивостями, можна застосувати у відповідних кількостях як потенційні сполуки для захисту від патогенів кормів при їх виробництві та зберіганні. Завдяки антиоксидантним, білоксинтезувальним та атерогенним властивостям цих сполук в організмі тварин, які споживають дані корми, вони можуть бути основою для розробки нових засобів для регуляції окремих ланок метаболізму.

Результати досліджень впроваджені в навчальний процес та науково-дослідну роботу кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка».

Ключові слова: антимікробна активність, біохімічна дія, сульфуровмісні сполуки, щури, ліпіди, білки, пероксидне окиснення, антиоксидантна система.

SUMMARY

Liubas N. M. «Antimicrobial and biochemical effects of sulfur-containing synthetic compounds on individual links of metabolism in rats» — a qualifying scientific work on the right of the manuscript.

Thesis for a Doctor of Philosophy Degree in the specialty 091 «Biology» (09 – Biology) — Institute of Animal Biology of the National Academy of Agrarian Sciences, Lviv, 2023.

The dissertation is devoted to the study of antimicrobial and radical scavenging properties of thiosulfonic acid esters, as well as their effect on certain links of protein and lipid metabolism, the intensity of lipid peroxidation processes and the activity of the antioxidant system in the blood and tissues of rats.

The fungibactericidal activity of synthetic thiosulfones S-methyl-4-aminobenzene sulfonate (MTS), S-ethyl-4-aminobenzene sulfonate (ETS), S-allyl-4-aminobenzene sulfonate (ATS) was studied, S-propyl-4-aminobenzene sulfonate (PTS) and S-allyl-4-acetyl-amino-benzene sulfonate (AATS) against 5 reference strains of test microorganisms: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium luteum*, *Candida tenuis*, *Aspergillus niger*, it was found that ETS, PTS and AATS demonstrated the highest activity against all strains. The minimum values of inhibitory and bactericidal concentrations against the tested strains of microorganisms were determined for thiosulfoester, which allows characterising them as promising antimicrobial agents. In vitro experiments, it was found that the highest rates of radical scavenging and antioxidant activity are characteristic of ATS, AATS, and ETS.

The results obtained in the in vitro experiments were taken into account in further studies of thiosulfonates, which are of interest as potential compounds for protecting feed from pathogens during its production and storage. Therefore, in the following in vivo experiments, the compounds ETS, ATS, AATS were used, which showed the greatest antimicrobial and antioxidant activity.

The *in vivo* studies were conducted in the vivarium of the Institute of Animal Biology of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine on white laboratory rats of the *Wistar* line weighing 180 to 220 g. The experiments were conducted in accordance with the Law of Ukraine "On Protection of Animals from Cruelty" of 26.02.2006 and the "General Principles for Animal Work" approved by the First National Congress on Bioethics (Kyiv, Ukraine, 2001), which are in accordance with the provisions of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, France, 1985). During the experiment, the animals were kept in standard conditions under constant temperature, humidity, and lighting, with feeding and drinking regimens maintained at the level recommended by the standards for keeping laboratory animals.

The study was carried out in two stages, according to the studied doses of thiosulfonate esters — 100 and 50 mg/kg body weight. Laboratory rats were divided into four groups of 5 animals each: I — control, II, III, IV — experimental. Animals in the control group were given 0.5 cm³ of oil once daily in their food. Animals of the experimental groups were fed 0.5 cm³ of oil solutions of thiosulfonate esters at doses of 100 and 50 mg/kg body weight, in particular, group II — ETS; group III — ATS; group IV — AATS. For the preparation of oil solutions of the synthesized compounds, Oleina oil was used (traditional refined, deodorized, frozen; manufactured by PJSC with II "DOES"; certified according to DSTU 4492:2017 and in accordance with ISO 14024). The effect of ETS, ATS, AATS on the antioxidant defense system and individual links of protein and lipid metabolism was studied in the blood and tissues of rats.

It was found that ETS at a dose of 100 mg/kg had a positive effect on the antioxidant profile of blood, except for GR activity. In the tissues, ETS at the same dose increased the content of reduced glutathione in the kidneys, GP activity in the brain, GP and SOD — in the skeletal muscles, but decreased GP activity in the kidneys and spleen. Whereas ETS at a dose of 50 mg/kg causes an increase in the activity of all enzymes of antioxidant system in the blood and kidneys, system of

glutathione in the brain, as well as an increase in SOD and GP — in the liver, SOD and GR — in the skeletal muscles, but a decrease of GP in the skeletal muscles and spleen.

It was found that ATS at a dose of 100 mg/kg caused an increase SOD and CAT activity and GSH content in the blood against the background of a decrease of GR activity, and multidirectional changes were observed in tissues, in particular, an increase of GSH content in the liver and kidneys, but a decrease in the spleen and brain, as well as SOD in the kidneys, CAT in skeletal muscles and spleen, and GP in the liver, kidneys, and skeletal muscles. And the effect of ATS at a dose of 50 mg/kg caused an increase in all enzymes of antioxidant system of protection in the blood, SOD — in the liver and kidneys, GP — in the liver, kidneys and brain, but a decrease in GR in the kidneys, CAT — in skeletal muscles and SOD — in the brain.

S-allyl-4-acetylamino benzene sulfonate at a dose of 100 mg/kg caused an increase of SOD and CAT in the blood against the background of a decrease of GP and GR activity. In the tissues, AATS at a dose of 100 mg/kg led to an increase of CAT in the liver, GP in the spleen, and GSH in the liver and kidneys, against a decrease in SOD activity in the kidneys and spleen, CAT in the spleen, GP in the liver, kidneys and skeletal muscle, GR in the kidneys and brain, and GSH in the skeletal muscle and spleen. For the actions of the AATS at a dose of 50 mg/kg, SOD activity and GSH content increased in the blood, against the background of a decrease in GP activity. At the same time, an increase of SOD activity in the liver, GP — in the kidneys and skeletal muscle, GR — in the skeletal muscles, GSH content — in the liver and kidneys, against a decrease of SOD activity in the spleen and brain, CAT — in skeletal muscles and brain, and GR — in the liver was observed in tissues.

It was found that S-esters of thiosulfonic acids affected the total concentration of lipids in the blood of rats and the ratio of their classes. Including, it was found that the content of total lipids was reduced for the actions of AATS at a dose of 100 mg/kg, and for the action of ETS and ATS at a dose of 50 mg/kg in the blood of experimental animals. This indicates that the hypolipidemic effect of AATS was manifested at a higher dose than ETS and ATS. It was found that the decrease in total

lipid concentration under the action of sulfonic acid esters was due to a decrease in the content of triacylglycerols and esterified cholesterol in the blood plasma of animals.

It was found that for the action of ETS and ATS at a dose of 100 mg/kg, the total concentration of proteins in the blood plasma of rats increased, indicating an increase in the protein synthesising function of the liver. In addition, increased albumin/globulin ratio in the blood, increased de Ritis coefficient, and the concentration of the end product of urea protein metabolism decreased, which confirms the increase in their anabolism. For the action of the studied S-esters of thiosulfonic acids at a dose of 50 mg/kg, the increased level of albumin/globulin ratio in the blood of animals of all experimental groups did not affect the total protein concentration, but a decrease in urea concentration and alkaline phosphatase activity was detected in the blood of animals of all experimental groups.

The research has shown for the first time the effect of S-ethyl-4-aminobenzene sulfonate, S-allyl-4-aminobenzene sulfonate and S-allyl-4-acetylaminobenzene sulfonate on metabolic processes in the rat body depends on their doses and is realised through their direct action on specific targets, which are individual links of protein and lipid metabolism, as well as the pro/antioxidant system in the blood and tissues of rats. The results of the study deepen the understanding of the newly synthesised thiosulfonic acid S-esters, which, due to their high reactivity and broad spectrum of action in certain doses, can be proposed as new therapeutic agents.

For the first time, it was found that ATS exhibited the highest radical scavenging activity, slightly inferior to AATS, which differed in the structure of the radical in the p-position of the benzene ring, and ETS exhibited slightly lower radical scavenging activity than ATS and AATS.

For the first time, it was found that S-esters of thiosulfonic acids at doses of 100 and 50 mg/kg are effective in regulating the state of the pro/antioxidant system and certain links of protein and lipid metabolism of animals. In the regulation of the pro/antioxidant system, the compound ATS, followed by ETS and AATS at a dose of 50 mg/kg, had the greatest effect than at a dose of 100 mg/kg. In the regulation of

lipid metabolism, it was found that AATS at a dose of 100 mg/kg, and ETS and ATS at a dose of 50 mg/kg showed hypolipidemic effects. In the regulation of protein metabolism, it was found that ETS and ATS at a dose of 100 mg/kg had a more favorable effect on protein synthesising function, but at a dose of 50 mg/kg all S-esters of thiosulfonic acids had a positive effect on the indicators of protein metabolism in the blood.

The studies have shown that the use of S-esters of thiosulfonic acids at doses of 100 and 50 mg/kg body weight allows to regulate certain links of metabolism in the rat body. Different effects of the studied sulfonic acid esters on certain links of protein and lipid metabolism, pro/antioxidant system in the blood and tissues of animals can be due to the specificity and physiological characteristics of these tissues, as well as biochemical features of the studied compounds in different doses. These compounds are of undoubted practical interest as models for studying the relationship between structure and biological activity. Due to their high reactivity, thiosulfonates can be proposed as new medicinal products. They exhibit an extremely broad spectrum of biological effects along with low toxicity.

Thus, the results of the research suggest that the use of S-esters of thiosulfonic acids in appropriate amounts as potential compounds for protecting feed from pathogens during their production and storage can also have a beneficial effect on metabolic processes in the body of animals consuming this feed. These compounds, which have antioxidant, protein synthesising and atherogenic properties, can be the basis for the development of new agents for the regulation of metabolic processes in animals.

The results of the research are implemented in the educational process and research work of the Department Technology of Biologically Active Compounds, Pharmacy and Biotechnology of Lviv Polytechnic National University.

Key words: antimicrobial activity, biochemical effect, sulfur-containing compounds, rats, lipids, proteins, peroxidation, antioxidant system.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковано основні результати дисертації:

1. Liubas, N., Iskra, R., Stadnytska, N., Monka, N., Havryliak, V., Lubenets, V. (2022). Antioxidant activity of thiosulfonate compounds in experiments *in vitro* and *in vivo*. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 12(3), 3106–3116. <https://doi.org/10.33263/BRIAC123.31063116>. (Дисертантка провела експериментальні дослідження, опрацювала отримані дані, брала активну участь у аналізі результатів досліджень, написанні та оформленні статті).
2. Liubas, N. M., Iskra, R. Ya., Kotyk, B. I., Monka, N. Ya., Lubenets, V. I. (2022) Prooxidant-antioxidant profile in tissues of rats under the action of thiosulfonate esters. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 94(6), 18-29. <https://doi.org/10.15407/ubj94.06.018> (Дисертантка відібрала зразки тканин, здійснила визначення активності ензимів та вмісту метаболітів, провела аналіз та узагальнення результатів дослідження, написала статтю).
3. Liubas, N., Iskra, R., Lubenets, V. (2023) Antioxidant defense system of rat liver under the influence thiosulfonates esters. *Studia Biologica*, 17(2), 43–56. <https://doi:10.30970/sbi.1702.709> (Дисертантка провела дослідження активності ензимів та метаболітів, статистично опрацювала отримані дані, підготувала статтю до друку).
4. Іскра, Р. Я., Любас, Н. М. (2023). Вплив S-естерів тіосульфокислот на окремі біохімічні показники крові щурів. *Вісник Львівського університету. Серія Біологічна*, 89, 20-26. <http://dx.doi.org/10.30970/vlubs.2023.89> (Дисертантка провела відбір зразків для аналізу, статистично опрацювала отримані дані, брала участь у написанні та оформленні статті).
5. Liubas, N. M., Oliynyk, I. Y. (2023). The role of oil solutions of thiosulfonates in the modulation of antioxidant parameters in rat kidneys. *The Animal Biology*, 25(3), 13-18. <https://doi.org/10.15407/animbiol25.03.013>. (Дисертантка виконала

експериментальну частину досліджень, статистично опрацювала отримані дані, підготувала статтю до друку).

Праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

6. Любас, Н., Іскра, Р., Лубенець, В. Вплив естерів тіосульфонатів на стан антиоксидантної системи крові щурів. Матеріали V Міжнародної наукової конференції «Актуальні проблеми сучасної біохімії, клітинної біології та фізіології» (Дніпро, 1-2 жовтня 2020 р.). – С. 107-108.
7. Любас, Н., Іскра, Р. Особливості антиоксидантного захисту в мозку щурів за впливу естерів тіосульфонатів. Матеріали XIX Всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції молодих учених «Молоді вчені у розв'язанні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини». (Львів, 3 – 4 грудня 2020 р.). – С. 42.
8. Любас, Н. М., Іскра, Р. Я. Вплив тіосульфонатів на антиоксидантний баланс у нирках щурів. Матеріали VI Міжнародної науково-практичної конференції викладачів і студентів «Актуальні аспекти біології тварин, ветеринарної медицини та ветеринарно-санітарної експертизи». (Дніпро, 6 – 7 травня 2021 р.). – С. 78-79.
9. Liubas, N. M., Iskra, R. Ya. Influence of thiosulfonates on the activity of antioxidant protection enzymes in rat liver. Proceedings of the XV IMBG all-Ukrainian Conference of Young Scientists with international participation. (Kyiv, May 26–27, 2021) – P. 225. <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000A56> .
10. Любас, Н. М., Іскра, Р. Я., Стадницька, Н. І., Монька, Н. Я., Гавриляк, В. В., Лубенець В. І. Антиоксидантна активність тіосульфонатів у досліджах *in vitro* та *in vivo*. Матеріали міжнародної наукової конференції присвяченої 75-річчю від дня народження професора Є. В. Барковського «Фізико-хімічна біологія як основа сучасної медицини». (Мінськ, 21 травня 2021 р.). – С. 175-176.
11. Kotyk, B., Liubas, N., Iskra R. Effect of ethylthiosulfanylate on hematological indicators of rats under the toxic effect of Chromium(VI). Proceedings of the 1st

Ukrainian-Polish Scientific Forum AGROBIOPERSPECTIVES. (Lviv, September 29 – 30, 2021). – P. 60.

12. Liubas, N. M., Kotyk, B. I., Iskra, R. Ya., Lubenets, V. I. The effect of thiosulfonate esters on the glutathionr link of antioxidant protection in rats. Proceedings of the all-Ukrainian Conference on Molecular and Cell Biology with international participation, dedicated to the heroic struggle of the Ukrainian people against the Russian invaders. (Kyiv, June 15–17, 2022) – P. 58.
13. Любас, Н. Дослідження впливу естерів тіосульфонатів на активність КАТ та СОД в м'язах щурів. Збірник наукових праць «Сучасні тенденції розвитку освіти й науки: проблеми та перспективи». (Київ, 2022). – С. 212 -216.
14. Котик, Б., Іскра, Р., Любас, Н. Показники фосфоліпідного складу плазми крові щурів за впливу етилтіосульфанілату на фоні Хром(VI)-індукованої токсичності. Тези доповідей XX Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених, присвяченої 90-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора, члена-кореспондента НААН, заслуженого діяча науки і техніки України Макара Івана Арсентійовича. (Львів, 19 травня 2022 р.). – С. 42.
15. Liubas, N., Terletska, M., Bedrylo, A., Iskra, R., Lubenets, V. Activities of catalase and superoxide dismutase in the liver of rats under the thiosulfonate esters action. . Activities of catalase and superoxide dismutase in the liver of rats under the thiosulfonate esters action. Abstracts of XVIII International Scientific Conference for Students and PhD Students dedicated to the 195th anniversary from the birthday of Julius Planer «Youth and Progress of Biology» (Lviv, October 6–7, 2022). Lviv: SPOLOM, 2022. – P. 154 – 155.
16. Liubas, N.; Bedrylo, A.; Terletska, M.; Iskra, R. Effect of thiosulfonate esters on the activity of antioxidant defense enzymes in rat blood. Abstracts of XIX International Scientific Conference for Students and PhD Students «Youth and Progress of Biology». (Lviv, April 26–27, 2023). – P. 187–188.
17. Любас, Н. М., Іскра, Р. Я., Лубенець, В. І. Вплив тіосульфонатів на окремі показники антиоксидантного захисту в м'язах щурів. Збірник матеріалів VIII

Міжнародного молодіжного конгресу «Сталий розвиток: захист навколишнього середовища. Енергоощадність. Збалансоване природокористування». (Львів, 2-3 березня 2023). – С. 154.

18. Любас, Н., Котик, Б., Іскра, Р. Глутатионова ланка антиоксидантного захисту крові щурів за впливу естерів тіосульфонатів. Тези доповідей ХХ Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених. (Львів, 18 травня 2023 р.). Біологія тварин, 2023, 25(2), с. 63.
19. Іскра, Р., Любас, Н., Котик, Б., Бедрило, А., Терлецька, М. Вплив тіосульфонатів на систему антиоксидантного захисту у нирках і печінці тварин. Збірник тез доповідей Міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні проблеми фізіології тварин». (Львів, 25–26 травня 2023 р.). – С. 31-32.
20. Liubas, N. M., Iskra, R. Ya. Effect of thiosulfonate esters on the content of total protein and lipids in the blood of animals. Proceedings of X International scientific and practical internet conference «Food Additives. Healthy Man and Human Patient Diet». (Prague, Czech Republic, November 10, 2023). – P. 193-194. <https://doi.org/10.46489/FAHM-23-25>.
21. Liubas, N. M. Blood lipid profile in animals for the influence of synthetic sulfur-containing compounds. Proceedings of the 10th International scientific and practical conference «Modern problems of science, education and society». (Kyiv, December 4-6, 2023). – P. 88-90.

Публікації, які додатково відображають наукові результати дисертації:

22. Kotyk, B., Iskra, R., Slivinska, O., Liubas, N., Pylypets, A., Lubenets, V., Pryimych, V. (2020) Effects of ethylthiosulfanylate and chromium (VI) on the state of pro/antioxidant system in rat liver. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 92(05), 78-86. S. <https://doi.org/10.15407/ubj92.05.078> (Дисертантка була задіяна у виконанні частини експериментальних досліджень та аналізі результатів).
23. Polish, N., Yaremkevych, O., Marintsova, N., Zhurakhivska, L, Koretska, N., Pokynbroda, T., Liubas, N., Lubenets, V., Karpenko, E. (2023). *In vitro* antioxidant

activity of composition based on biosurfactants and amino-containing heterocyclic derivatives of 1,4-naphthoquinone. *J Microbiol Biotech Food Sci/Polishet al.*: x (x) e9771, 1-5. <https://doi.org/10.55251/jmbfs.9771/> (Дисертантка приймала участь у статичтичному опрацюванні частини експериментальних досліджень та обговоренні отриманих результатів)

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	21
ВСТУП.....	23
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	31
1.1. Властивості S-естерів тіосульфокислот	31
1.2. Антиоксидантна система за дії S-естерів тіосульфокислот.	45
1.3. Особливості протікання окремих ланок білкового обміну за дії S-естерів тіосульфокислот.....	48
1.4. Мікробіологічні особливості дії S-естерів тіосульфокислот.....	56
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	65
2.1. Схема дисертаційних досліджень.....	65
2.2. Тіосульфонатні сполуки, які були використані у дослідженнях.	68
2.3. Приготування матеріалу для досліджень.....	70
2.4. Застосовані методи досліджень	72
2.4.1. Визначення антимікробної активності методом дифузії в агарі	72
2.4.2. Визначення мінімальної інгібуючої (МІК) та мінімальної бактерицидної концентрації (МБК) або мінімальної фунгіцидної концентрації (МФК) методом серійних розведень.	73
2.4.3. Визначення радикалпоглинаючої дії естерів тіосульфонатів із стабільним вільним радикалом 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразином (ДФПГ) в дослідях <i>in vitro</i>	74
2.4.4. Визначення вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів.	75
2.4.5. Визначення показників системи антиоксидантного захисту.	77
2.4.6. Визначення показників білкового обміну.	81
2.4.7. Визначення показників ліпідного обміну.....	82
2.5. Статистична обробка результатів.	84

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	85
3.1. Дослідження антимікробної, радикалпоглинаючої та антиоксидантної активності естерів тіосульфокислот.	85
3.1.1. <i>Визначення антимікробної активності естерів тіосульфокислот in vitro..</i>	85
3.1.2. <i>Визначення радикалпоглинаючої та антиоксидантної дії естерів тіосульфокислот методом ДФПГ в дослідях in vitro.</i>	89
3.2. Дослідження впливу естерів тіосульфокислот: ЕТС, АТС, ААТС на показники пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи в крові щурів.	93
3.2.1. <i>Вплив S-естерів тіосульфокислот у дозах 100 та 50 мг/кг маси тіла на вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у периферичній крові щурів. ...</i>	93
3.2.2. <i>Вплив S-естерів тіосульфокислот у дозах 100 та 50 мг/кг маси тіла на активність ензимів антиоксидантної системи у крові щурів.</i>	95
3.2.3. <i>Вплив S-естерів тіосульфокислот у дозах 100 та 50 мг/кг маси тіла на активність ензимів глутатіонової ланки антиоксидантної системи та вмісту відновленого глутатіону у крові щурів.</i>	98
3.3. Біохімічні особливості дії ЕТС, АТС та ААТС у різних дозах на інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів та функціональний стан антиоксидантної системи у тканинах щурів.....	102
3.3.1. <i>Вплив S-естерів тіосульфокислот у дозах 100 та 50 мг/кг маси тіла на вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у тканинах щурів.</i>	102
3.3.2. <i>Вплив S-естерів тіосульфокислот у дозах 100 та 50 мг/кг маси тіла на активність ензимів антиоксидантної системи у тканинах щурів.</i>	105
3.4. Біохімічні особливості дії ЕТС, АТС та ААТС в дозах 50 і 100 мг/кг маси тіла на окремі показники білкового обміну в крові щурів.	115
3.4.1. <i>Визначення загальної концентрації білка та його фракцій у плазмі крові за дії ЕТС, АТС та ААТС.</i>	115
3.4.2. <i>Вплив естерів тіосульфокислот на біохімічні показники білкового обміну у плазмі крові щурів.</i>	118

3.5. Біохімічні особливості дії ЕТС, АТС та ААТС в дозах 50 і 100 мг/кг маси тіла на вміст загальних ліпідів та окремих їх фракцій у плазмі крові щурів....	121
РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ	128
ВИСНОВКИ.....	149
Список використаних джерел	152
ДОДАТОК 1	183
ДОДАТОК 2	187

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

- АлАТ — аланінамінотрансфераза
АсАТ — аспартатамінотрансфераза
АОС — антиоксидантна система
АРА — антирадикальна активність
АТС — S-аліл-4-амінобензентіосульфонат
АФН — активні форми Нітрогену
АФО — активні форми Оксигену
Арг — аргінін
Асн — аспарагін
Асп — аспарагінова кислота
ААТС — S-аліл-4-ацетиламінобензентіосульфонат
АДФ — аденозинфосфат
Вал — валін
ВГ — відновлений глутатіон
ГП — глутатіонпероксидаза
ГПЛ — гідропероксили ліпідів
ГР — глутатіонредуктаза
ДФПГ — 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразил
ЕДТА — етилендіамінтетраоцтова кислота
ЕК — ефективна концентрація
ЕТС — S-етил-4-амінобензентіосульфонат
КАТ — каталаза
Ліз — лізин
ЛПВЩ — ліпопротеїни високої щільності
ЛПНЩ — ліпопротеїни низької щільності
МТС — S-метил-4-амінобензентіосульфонат
НАДФ — нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат
НАДФН — нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат відновлений
ПНЖК — поліненасичені жирні кислоти

ПОЛ — пероксидна окиснення ліпідів

ПТС — S-пропан-4-амінобензентіосульфонат

РПА — радикалпоглинальна активність

СОД — супероксиддисмутаза

ТБК — тіобарбітурова кислота

ТХО — трихлорооцтова кислота

ЦЗК — циклінзалежна кіназа

$\cdot NO$ — оксид нітрогену

$\cdot O_2^-$ — супероксид-аніон

Nrf2-Keap1 — транскрипційний фактор у ссавців

PTS — пропілпропантіосульфінат

PTSO — пропілпропантіосульфонат

Yap1 — транскрипційний фактор дріжджів

ВСТУП

Актуальність теми. Дослідження сульфуровмісних сполук має важливе значення для розвитку різних галузей наук, зокрема біології, фармації, органічної хімії, медицини та ветеринарії. Ці сполуки, як природні, так і штучно створені, мають практичне застосування. Особливо важливі тіосульфоестери як сульфенілюючі реагенти, а також сполуки з широким спектром дії та високою біологічною активністю. Адже здатність сульфуру перебувати в різних ступенях окиснення дає можливість утворення низки моно- та дисульфуровмісних речовин [110]. Їх використання може бути основою для створення нових лікарських засобів [10].

Специфічні властивості S-естерів тіосульфокислот, особливо їхня висока реакційна активність, залежать від особливостей будови тіосульфогрупи ($-SO_2-S-$). Їхня біологічна активність в значній мірі залежить від властивостей кислотного та тіольного складників. Перерозподіл електронної густини та зміна реакційної здатності у біохімічних процесах надають цим сполукам можливість діяти як високоефективні біологічно активні речовини. Це відкриває нові перспективи для їхнього використання у розробці лікарських засобів та методів лікування, підсилюючи інтерес до подальших досліджень в цьому напрямку [9].

Природні тіосульфінати і тіосульфонати здавна використовувалися для лікування бактеріальних інфекцій, оскільки вони проявляють широкий спектр антибіотичної дії проти грампозитивних і грамнегативних бактерій [110].

У процесах біотрансформації тіосульфонати перетворюються на інші типи сполук сульфуру. Серед цих продуктів можуть утворюватися діалілсульфіди, вінільні похідні сульфуру, такі як S-алілцистеїн та D-алілмеркаптоцистеїн. Цей процес розкладу та перетворення тіосульфонатів має значення у біологічних системах, оскільки він впливає на утворення різноманітних сполук сульфуру, які можуть відігравати важливу роль у фізіологічних процесах та медичній практиці [241]. Так, S-алілцистеїн знижує рівень холестеролу у крові, проявляє антиоксидантні та імуномодуляторні властивості, інгібує ріст ракових клітин,

захищає печінку від токсичних речовин, запобігає тромбоутворенню, інгібуючи агрегацію та адгезію тромбоцитів, що суттєво впливає на перебіг серцево-судинних патологій [242]. Діалілсульфід та діалілдисульфід проявляють гіполіпідемічні ефекти, запобігають утворенню ракових клітин шляхом ініціації апоптозу та активації білків-супресорів пухлин [241].

Дослідження властивостей S-естерів тіосульфокислот — S-етил-4-амінобензентіосульфону, S-аліл-4-амінобензентіосульфону та S-аліл-4-ацетиламінобензентіосульфону дасть можливість зрозуміти, як саме будова молекул цих сполук впливає на їхню реакційну активність. Це дасть можливість синтезу сполук з заданими властивостями, що роблять їх цінними для практичного використання у розробці нових препаратів та методів лікування. Проведення ґрунтовного дослідження антимікробних властивостей синтетичних сульфуровмісних сполук як перспективних речовин для захисту кормів від контамінації їх грибами, а також їх впливу на організм тварин є необхідним для визначення їхнього використання у тваринництві. Головним критерієм оцінки можливого застосування нових сполук є з'ясування їх дії на метаболічні процеси в організмі тварин. Тому дослідження впливу новосинтезованих S-естерів тіосульфокислот на систему антиоксидантного захисту та окремі ланки білкового і ліпідного обміну в організмі тварин є вкрай важливими з метою застосування їх в лікувальних та профілактичних цілях.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження, що увійшли до дисертаційної роботи, виконувались упродовж 2019-2023 рр. та є частиною науково-дослідної роботи лабораторії біохімії адаптації та онтогенезу тварин Інститут біології тварин НААН згідно із завданнями «Вивчити фізіолого-біохімічні механізми дії біологічно активних речовин на метаболічні процеси в організмі тварин», ДР 0116U001413 (2019-2020 рр.) та «Дослідити адаптивні та метаболічні процеси в організмі тварин за дії біологічно активних речовин різного походження», ДР 01214109057 (2021-2023 рр.), у яких дисертантка була співвиконавцем і досліджувала процеси

пероксидного окиснення ліпідів, активність антиоксидантної системи, окремі показники білкового та ліпідного обміну за впливу різних естерів сульфоксилот.

Мета і завдання дослідження. Мета роботи — з'ясувати біологічну дію новосинтезованих S-естерів тіосульфоксилот на мікроорганізми, окремі ланки білкового та ліпідного обміну і систему антиоксидантного статусу у крові та тканинах щурів.

Для досягнення поставленої мети нами вирішувалися наступні завдання:

- дослідити антимікробну активність алкілових естерів n-амінобензентіосульфокислоти;
- дослідити радикалпоглинаючу та антиоксидантну активності алкілових естерів n-амінобензентіосульфокислоти;
- з'ясувати вплив S-етил-4-амінобензентіосульфонату, S-аліл-4-амінобензентіосульфонату та S-аліл-4-ацетиламінобензентіосульфонату у дозах 100 та 50 мг/кг маси тіла на інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів та функціональний стан антиоксидантної системи у крові щурів;
- вивчити вплив S-естерів тіосульфоксилот у дозах 100 та 50 мг/кг маси на стан про/антиоксидантної системи у печінці, нирках, селезінці, скелетних м'язах і мозку щурів;
- оцінити інтенсивність протікання білкового обміну в організмі щурів за впливу різних S-естерів тіосульфоксилот у дозах 100 та 50 мг/кг маси;
- дослідити вплив S-естерів тіосульфоксилот у дозах 100 та 50 мг/кг маси на окремі ланки ліпідного обміну в організмі щурів.

Об'єкт дослідження: мікробіологічна та біохімічна дія S-етил-4-амінобензентіосульфонату, S-аліл-4-амінобензентіосульфонату та S-аліл-4-ацетиламінобензентіосульфонату в організмі щурів.

Предмет дослідження: антимікробна і радикал поглинаюча активність, процеси пероксидного окиснення ліпідів, активність ензимів антиоксидантного захисту, окремі ланки ліпідного та білкового обміну в організмі щурів.

Методи дослідження: мікробіологічні, біохімічні (визначення концентрації продуктів пероксидного окиснення ліпідів, відновленого глутатіону, активності ензимів антиоксидантного захисту та білкового обміну), хроматографічні (визначення класів ліпідів, фракції білків) та статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше з'ясована біологічна дія новосинтезованих S-естерів тіосульфокислот на мікроорганізми та метаболічні процеси в організмі тварин. Зокрема, встановлені високі фунгібактерицидні властивості S-етил-4-амінобензентіосульфону (ЕТС), S-аліл-4-амінобензентіосульфону (АТС), S-аліл-4-ацетиламінобензентіосульфону (ААТС) по відношенню до штамів мікроорганізмів *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium luteum*, *Candida tenuis*, *Aspergillus niger*, що дозволяє характеризувати досліджувані тіосульфоестери як перспективні антимікробні речовини.

Вперше встановлено, що найвищу радикалпоглинальну активність проявляв АТС, дещо уступав по активності ААТС, який відрізнявся будовою радикалу в п-положенні бензенового кільця, а ЕТС проявляв нижчу радикалпоглинальну активність ніж АТС та ААТС, але все ж достатню, щоб проявляти антиоксидантні властивості.

Вперше виявлено, що S-естери тіосульфокислот у дозах 100 і 50 мг/кг є ефективним у регуляції стану про/антиоксидантної системи та окремих ланок білкового і ліпідного обмінів в організмі тварин. За регуляції антиоксидантної системи захисту найкращий ефект виявляла сполука АТС, нижчий – ЕТС і ААТС у дозі 50 мг/кг, в той час як за дози 100 мг/кг найкращий ефект проявляв ЕТС. За регуляції ліпідного обміну було виявлено, що гіполіпідемічні ефекти проявляли ААТС у дозі 100 мг/кг, а ЕТС і АТС у дозі 50 мг/кг. За регуляції білкового обміну встановлено, що більш сприятливий вплив на білоксинтезувальну функцію проявляли ЕТС і АТС у дозі 100 мг/кг, однак і в дозі 50 мг/кг усі S-естери тіосульфокислот позитивно впливали на показники білкового обміну в крові. З'ясовано, що біологічна дія ЕТС, АТС, ААТС на метаболічні процеси в організмі щурів залежить від їхньої дози і проявляється

через їхню пряму дію на конкретні мішені в організмі. Ці мішені пов'язані з про/антиоксидантною системою у крові та тканинах щурів, а також білковим та ліпідним обміном.

Результати досліджень дають глибокі знання щодо новосинтезованих сполук S-естерів тіосульфокислоти, які у відповідних дозах, володіють фунгібактерицидними, радикалпоглинальними, антиоксидантними, гіполіпідемічними та білоксинтезувальними властивостями.

Практичне значення одержаних результатів. У дисертації експериментально обґрунтовано можливість застосування S-естерів тіосульфокислот як антимікробних речовин для захисту кормів від контамінації їх грибами, а також для регуляції окремих ланок метаболізму в організмі тварин. Результати досліджень дозволяють припустити, що застосування у відповідних кількостях S-естерів тіосульфокислот у тваринництві може бути корисним для корегування метаболічних порушень в організмі. Встановлено, що застосування S-естерів тіосульфокислот в дозах 100 і 50 мг/кг маси тіла дозволяє регулювати окремі ланки обмінних процесів в організмі. Різна дія досліджуваних естерів сульфокислот у крові та тканинах тварин може бути зумовлена як специфікою та фізіологічними особливостями цих тканин, так і біохімічними властивостями досліджуваних сполук в різних дозах. Ці сполуки представляють безперечний практичний інтерес як моделі для вивчення взаємозв'язку між структурою і біологічною активністю. Завдяки високій реакційній здатності тіосульфонати можуть бути запропоновані як нові терапевтичні засоби. Вони проявляють надзвичайно широкий спектр біологічної дії поруч з низькою токсичністю, мають сильніші лікувальні властивості і є стабільнішими, ніж їх близькі природні аналоги.

Результати досліджень впроваджені в навчальний процес та науково-дослідну роботу кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка».

Особистий внесок здобувача. Автором особисто опрацьовано літературу за темою дисертаційної роботи, виконано експериментальну частину роботи,

проведено аналіз отриманих результатів і статистичне опрацювання матеріалу, оформлено та написано дисертаційну роботу. Дисертантка, спільно з науковими керівниками д.б.н., професором Р. Я. Іскрою та д.х.н., професором В. І. Лубенець, сформулювала робочу гіпотезу дослідження, основні положення, мету і завдання, обґрунтувала методичні підходи, здійснила обговорення отриманих результатів досліджень, сформулювала висновки, які виносяться на захист дисертаційної роботи. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, використано фактичний матеріал, отриманий автором у процесі виконання роботи.

Апробація результатів досліджень. Основні результати дисертаційної роботи були представлені на V Міжнародній науковій конференції «Актуальні проблеми біохімії, клітинної біології та фізіології» (1-2 жовтня 2020 р., м. Дніпро); XIX Всеукраїнській науково-практичній інтернет-конференції молодих учених «Молоді вчені у розв'язанні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (3 – 4 грудня 2020 р., м. Львів); VI Міжнародній науково-практичній конференції викладачів і студентів «Актуальні аспекти біології тварин, ветеринарної медицини та ветеринарно-санітарної експертизи»: матеріали (6-7 травня 2021 р., м. Дніпро.); Міжнародній науковій конференції присвяченій 75-річчю з дня народження професора Є. В. Барковського «Фізико-хімічна біологія як основа сучасної медицини» (21 травня 2021р., м. Мінськ); XV Всеукраїнській конференції молодих вчених з міжнародною участю Інституту молекулярної біології і генетики НАН України (26-27 травня 2021 р., м. Київ); I-му українсько-польському науковому форумі "Агробіоперспективи" (29-30 вересня 2021р. м. Львів); XX Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених, присвяченій 90-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора, члена-кореспондента НААН, заслуженого діяча науки і техніки України Макара Івана Арсентійовича (19 травня 2022 р., м. Львів); Всеукраїнській конференції молекулярної та клітинної біології з міжнародною участю, присвяченій героїчному спротиву українського народу проти російських загарбників. Інститут молекулярної біології і генетики НАН України

(15-17 червня 2022р., м. Київ); XVIII Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології» присвяченої 195-річчю від дня народження Юліуса Планера (6-7 жовтня 2022 р., м. Львів); XI Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні тенденції розвитку освіти і науки: проблеми та перспективи» (1 листопада 2022р., м. Львів); VIII Міжнародному молодіжному конгресі «Сталий розвиток: захист навколишнього середовища. Енергоощадність. Збалансоване природокористування» (02 - 03 березня 2023 р., м. Львів); XIX Міжнародній науковій конференції студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології», присвяченій 90-річчю від дня народження академіка НАН України, професора Шеляга-Сосонка Юрія Романовича (26–28 квітня 2023 р., м. Львів); XXI Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених, присвяченій 100-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора Василя Юхимовича Шавкуна (18 травня 2023 р., м. Львів); Міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні проблеми фізіології тварин», присвячена 100-річному ювілею ректора ЛНУВМ С.В. Стояновського, Львів (25-26 травня 2023 р., м. Львів); IX Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні проблеми науки, освіти та суспільства» (06-08 листопада 2023 р., м. Київ); X Міжнародній науково-практичній конференції «Харчові добавки. Харчування здорової та хворої людини» (10 листопада 2023р., м. Кривий Ріг); VI Міжнародній науково-практичній конференції «KyivLvivPharma – 2023. Фармацевтична технологія та фармакологія в забезпеченні активного довголіття» (16-18 листопада 2023 р., м. Львів-Київ).

Публікації за темою дисертації. За результатами дисертації опубліковано 21 наукова праця: 5 статей (з них 3 – в наукових виданнях, індексованих у міжнародних базах даних Scopus і Web of Science та 2 – у наукових фахових виданнях, затверджених МОН України), 16 тез доповідей.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається із вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, результатів досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел і

додатків. Дисертацію викладено на 188 сторінках друкованого тексту (з них 128 — основного тексту) і проілюстровано 24 рисунками та 19 таблицями. Список використаних джерел налічує 242 найменувань.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Властивості S-естерів тіосульфокислот

S-алкілові естери тіосульфокислот ($R-S(O)_2S-R'$) є структурними аналогами природних сульфуровмісних речовин і володіють широким спектром біологічної активності. Часто їхня дія виявляється сильнішою, ніж природних речовин-аналогів, таких як фітонциди часнику, цибулі та капусти [110, 111]. Вони ефективні як антимікробні чинники [110, 111], це саме стверджується і в інших авторів [123, 125, 142], мають антитромботичну [18, 64], протипухлинну [60, 106], протипаразитарну дію [33]. Проте застосування синтетичних сульфуровмісних сполук з лікувальною та профілактичною метою передбачає попереднє ґрунтовне вивчення їх впливу на організм тварин [153].

Активність тирозинкінази (ТК) під впливом естерів тіосульфокислот представляє собою значущий аспект у розумінні впливу цих сполук на клітинні сигнальні шляхи та біохімічні процеси в організмі [177]. Детально розглянемо основні аспекти цього взаємодії.

Естери тіосульфокислот можуть взаємодіяти з тирозинкіназою шляхом зв'язування з конкретними локусами білка [70]. Це може відбуватися через формування водневих зв'язків, гідрофобних взаємодій та інших хімічних взаємодій. Крім того вони можуть впливати на тирозинове фосфорилування, каталізоване тирозинкіназою. Це може визначати активність тирозинкінази та впливати на сигнальні шляхи клітини [67].

Вплив на проліферацію та диференціацію активно вивчався в контексті лікування онкологічних захворювань [91, 209]. Активність тирозинкінази під впливом естерів тіосульфокислот може модулювати клітинні сигнали, що регулюють процеси проліферації та диференціації.

Якщо естери тіосульфокислот мають антиоксидантні властивості, вони можуть впливати на тирозинкіназу, захищаючи її від окислювального стресу та підтримуючи її функціональність [132].

S-естери тіосульфокислот можуть виявляти антиоксидантні властивості, захищаючи клітини від окислювального стресу та подальших уражень, оскільки можуть модифікувати тирозинкіназні субстрати, впливаючи на їхню взаємодію з самою тирозинкіназою та іншими білками [177].

Оскільки естери тіосульфокислот виявляються ефективними модуляторами тирозинкінази, їх можна розглядати як потенційні лікувальні засоби у контексті серцево-судинних та онкологічних захворювань [161, 197], де регулювання тирозинкіназного шляху є важливим.

Ці аспекти взаємодії активності тирозинкінази з естерами тіосульфокислот визначають біохімічний та клітинний вплив цих сполук, а також можливі перспективи їхнього застосування у медицині. Це окреслює актуальні напрямки дослідження тіосульфоестерів, зокрема детальні експерименти *in vitro* та *in vivo* можуть вивчити вплив естерів тіосульфокислот на антиоксидантну, білкову та ліпідну системи, враховуючи специфіку кожної з цих систем.

При дослідженні активності тирозинових протеїнкіназ, які пов'язані з клітинними мембранами, науковцями було перевірено вплив різних нових сполук, зокрема S-алкілових та гетероциклічних естерів тіосульфокислоти, на цю активність і показано інгібуючий вплив таких естерів тіосульфокислоти —4-метилбензентіосульфокислоти [226] (рис. 1.1., А) та бензтіазольний S-естер 4-фталідометил-бензентіосульфокислоти (рис. 1.1, Б). Експерименти проводилися на базі Навчально-наукового центру «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка з метою виявлення нових сполук, які можуть впливати на тирозинові протеїнкінази [226].

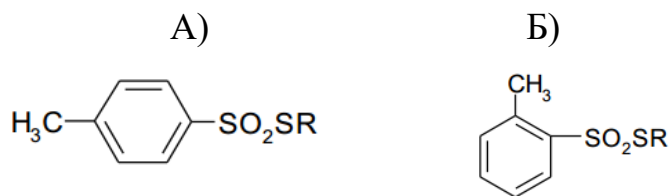


Рис. 1.1. Структурні формули естерів тіосульфокислот:

А) 4-метилбензентіосульфокислоти,

Б) бензтіазольний S-естер-4-фталімідометил-бензентіосульфокислоти.

Наукові дослідження показали, що синтетичні S-естери тіосульфокислот можуть виявитися перспективними у ролі можливих антипухлинних засобів [106, 218].

Особливо цікавим є їхні антипроліфераційні властивості в контексті ракових захворювань. Деякі з цих S-естерів тіосульфокислот вже показали високий рівень інгібування проліферації ракових клітин у проведених експериментах. Їхні антипухлинні властивості можуть бути пов'язані з їхнім впливом на активність тирозинкіназ, які відомі своєю рольовою участю в регуляції клітинного росту та проліферації. Дослідження в цьому напрямку має важливе значення для подальшого розвитку нових протипухлинних ліків та може відкрити нові перспективи в лікуванні ракових захворювань.

Цитотоксична активність та інші види біологічної активності S-алкілових естерів арилзаміщених та гетероциклічних тіосульфокислот є предметом інтенсивного дослідження в біомедичній науці, оскільки вони можуть представляти потенційно важливий клас сполук для розвитку нових лікарських препаратів [226].

Естери тіосульфокислот можуть впливати на клітинний цикл, призводячи до призупинення проліферації клітин та зниження їхньої репродуктивної активності. S-алкілові естери можуть індукцію апоптозу, сприяючи програмованому клітинному вмиранню, що є важливим процесом для знищення уражених клітин. Досліджено вплив S-алкілових естерів на тирозинкіназні сигнальні шляхи, які можуть брати участь у регуляції клітинної відповіді. Ці дослідження висвітлює важливі аспекти біологічної активності S-алкілових

естерів арилзаміщених та гетероциклічних тіосульфокислот, визначаючи їхню потенційну роль у сучасній медицині та біотехнології [9, 226].

Відомо, що тіосульфінати, зокрема аліцин, є потужними інгібіторами агрегації тромбоцитів [23], яка відіграє ключову роль у розвитку серцево-судинних захворювань та є важливим фактором у виникненні ішемії серця та головного мозку. Це складний біохімічний процес, необхідною умовою якого є активація рецептора GPIIb/IIIa тромбоксаном A₂, що викликає зв'язування фібриногену [190]. Класичні інгібітори агрегації тромбоцитів, такі як ацетилсаліцилова кислота (аспірин), пригнічують ендогенний біосинтез тромбоксану і, таким чином, активацію рецептора GPIIb/IIIa.

Завдяки реактивності аліцину, він діє як антигіпертензивний засіб, адже гіпертонія також сприяє розвитку серцево-судинних захворювань. Оскільки аліцин дуже нестійка сполука і швидко розкладається, було показано, що складний каскад реакцій його продуктів розпаду з тіолами (зокрема глутатіоном) призводить до вивільнення гідрогенсульфіду (H₂S), і це знижує артеріальний тиск шляхом розслаблення клітин гладеньких м'язів, що оточують кровоносну судину [12]. На рис. 1.2. представлена схема, на якій показано як органічні полісульфіди часнику з алільними фрагментами та більш ніж двома атомами сульфуру (див. рис. 1.2) реагують з тіолами екзофасіальної мембрани та перетинають клітинну мембрану, де вступають у реакцію з відновленим глутатіоном (GSH) з утворенням H₂S. Глюкоза є основним джерелом енергії для еритроцитів, підтримуючи гліколіз і пентозофосфатний шлях (ПФП), відновлення НАДФ⁺ до НАДФН, кофактора глутатіонредуктази (ГР), який підтримує внутрішньоклітинний пул GSH, який також може брати участь у трансмембранному перенесенні електронів для відновлення екзофасіальних тіолів [78]. Утворення H₂S призводить до вазорелаксації через Катр-зв'язану гіперполяризацію клітин гладеньких м'язів судин [201].

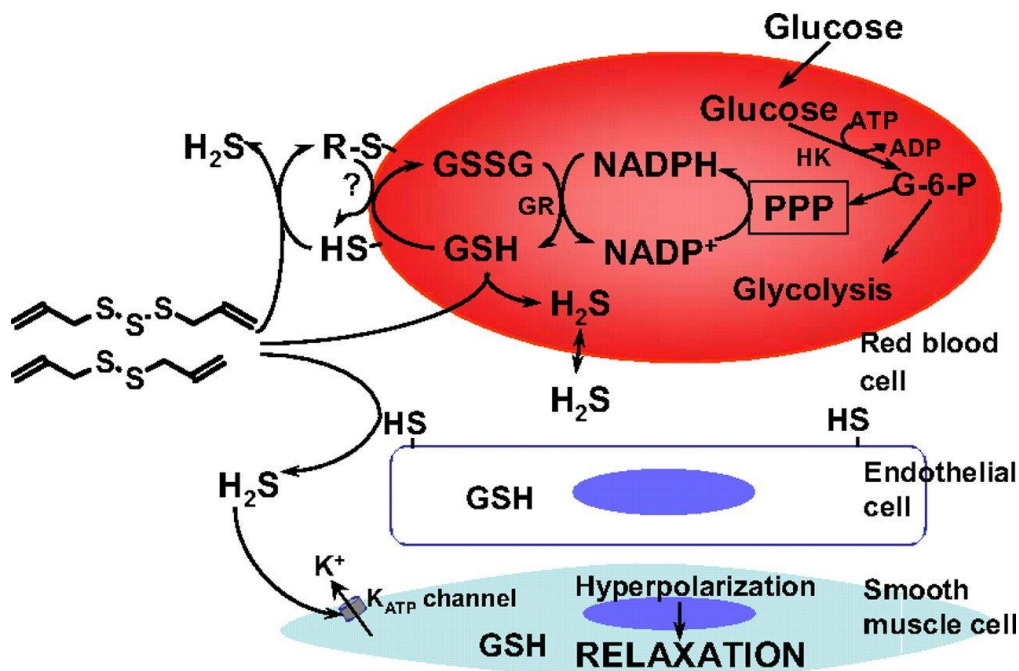


Рис. 1.2. Схема індукованого аліцином синтезу H₂S і функції H₂S у судинній системі [78].

H₂S є важливою газоподібною сигнальною молекулою щодо регуляції артеріального тиску, він відкриває K⁺-канали в клітинах гладеньких м'язів. Антиатеросклерозні властивості H₂S добре відомі [199] і, з точки зору еволюції, здатність живих організмів синтезувати H₂S переує розвитку серцево-судинної системи. Біохімічні шляхи синтезу H₂S пов'язані із сульфуровмісними амінокислотами — гомоцистеїном (який утворюється з метіоніну шляхом відокремлення термінальної метильної групи) і цистеїном, як показано на рис. 1.3, регулюються двома ензимами (піридоксаль-залежними) — цистатіонін-β-синтазою (ЦБС) і цистатіонін-ліазою (ЦСЛ), які локалізуються переважно у клітинах гладких м'язів та ендотелію [202].

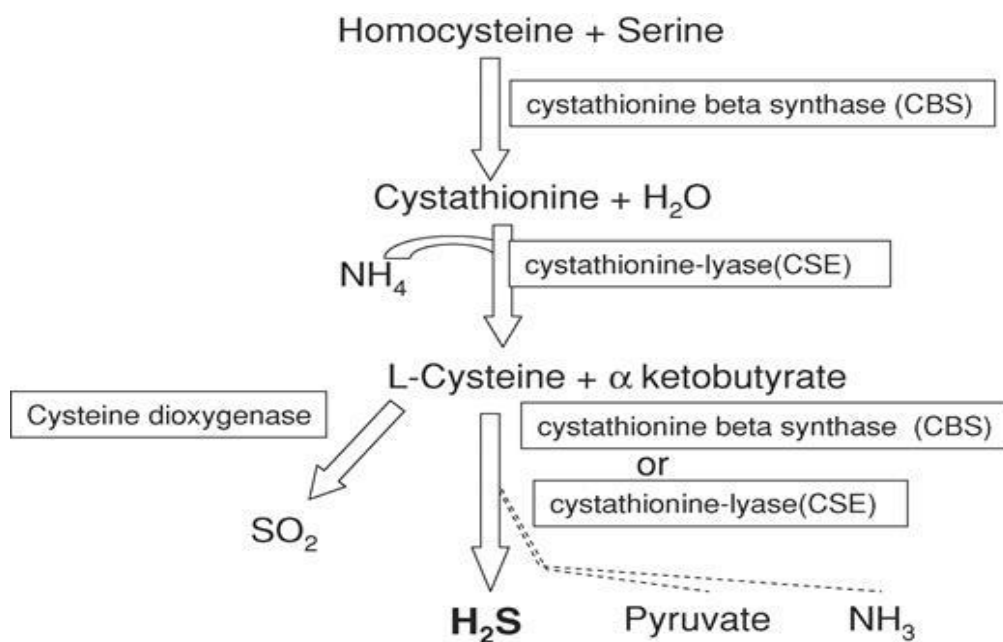


Рис. 1.3. Біохімічні шляхи синтезу H₂S [202].

Спостереження Янг та його команди надають низку послідовних доказів того, що цей газотрансмітер є сильним судинорелаксантом і визначальним фактором артеріального тиску. У дослідженнях [188], проведених з допомогою методів генної інженерії на мишах із цілеспрямованою делецією гена, що кодує цистатіонін-ліазу (ЦСЛ), показано зниження рівня H₂S в сироватці і розвитку вікової гіпертензії мутантних мишей, при чому цей ефект не пов'язаний із центральним механізмом синтезу або втратою NO-опосередкованої вазорелаксації чи нирковими змінами [202].

Відомо, що три основні газотрансмітери — NO, CO і H₂S — взаємодіють складним чином на рівні розчинної гуанілатциклази, регулюючи їх взаємну діяльність, але як саме ця взаємодія відбувається *in vivo*, все ще дуже невизначено. Деякі дослідники повідомляли, що H₂S посилює судинорелаксуючий ефект NO [69], тоді як інші стверджують, що H₂S знижує таку активність, можливо, шляхом хімічної реакції з NO з утворенням неідентифікованої нітрозотіолової сполуки [187]. З'ясування динаміки регуляції газотрансмітерів є важливим викликом для фізіологів та судинних біологів. Розширене розуміння цих взаємозв'язків у майбутньому може відкрити нові

перспективи для розробки терапевтичних стратегій та лікування захворювань у людини.

Зростання агрегації тромбоцитів відіграє суттєву роль у етімології серцево-судинних захворювань, а саме артеріальних тромбозів, призводячи до таких захворювань, як інфаркт міокарда, інсульт та ін. [115]. Пошук нових, ефективних, без побічних ефектів антитромботичних засобів, здатних модулювати активність рецепторів тромбоцитів, таким чином, впливати на процеси активації та агрегації тромбоцитів є надзвичайно актуальним. Серед новосинтезованих похідних тіосульфонатів, зокрема, із 1,4-нафтохіноновим фрагментом, визначено препарати з високою антиагрегаційною активністю. Ці сполуки залежно від дози пригнічували індуковану аденозиндифосфатом (АДФ) і колагеном агрегацію тромбоцитів [18, 63]. Тромбоцити, завдяки своїй адгезивній та агрегаційній функціям, є важливими елементами не тільки нормального процесу гемостазу, але й процесу патологічного тромбоутворення [45, 185]. Мембрана тромбоцитів містить численні рецептори, за допомогою яких відбувається передача сигналу від індуктора (АДФ, колаген, фактор Віллебранда тощо) на внутрішньоклітинні месенджери, які спричиняють клітинну активацію, секрецію тромбоцитами протромботичних медіаторів, а також процес агрегації [24, 75].

На сучасному етапі основними механізмами дії антитромбоцитарних препаратів є блокування або зменшення активності тромбоцитів шляхом інгібування ензиму циклооксигенази і метаболізму арахідонової кислоти, завдяки чому утруднюється утворення простагландинів, які стимулюють агрегацію (злиття) тромбоцитів або перешкоджання зв'язуванню АДФ з рецепторами на поверхні тромбоцитів, інгібуванням фактора активації тромбоцитів (антагоністів фібриногенових рецепторів) запобігаючи таким чином їхній агрегації [7]. Механізми дії можуть варіювати в залежності від конкретного препарату, і вони можуть використовуватися як для лікування, так і для профілактики тромбозу та інших серцево-судинних ускладнень. На агрегацію тромбоцитарних пластинок впливає миттєве збільшення вільного

кальцію Ca^{2+} у цитоплазмі, генерація тромбоксану A_2 та активація рецепторів фібриногену GPIIb/IIIa .

Тромбоксан A_2 , що виробляється тромбоцитами, спричиняє агрегацію тромбоцитів та звуження судин, тоді як простациклін PGI_2 , який утворюється у стінках кровоносних судин клітинами ендотелію та гладких м'язів, навпаки, пригнічує агрегацію тромбоцитів і зумовлює розширення судин. За допомогою тромбоксану A_2 та простацикліну забезпечується локальна агрегація тромбоцитів із подальшим тромбоутворенням [120]. Обидві речовини утворюються за участю циклооксигенази з арахідонової кислоти, метаболізм якої зображено на рис. 1.4. Баланс між тромбоксаном A_2 та простацикліном може зсуватися у бік простацикліну у разі введення метаболітів часнику, малих доз аспіриноподібних речовин, причинюючи при цьому незворотнє пригнічення циклооксигенази, ацетилюючи залишок серину в активному центрі ензиму. Оскільки дія нестероїдних протизапальних речовин на тромбоцити є тривалішою, ніж дія на стінки кровоносних судин, тому дані речовини зумовлюють антикоагуляційний ефект, важливий для запобігання міокардіальних ускладнень та інсульту [148].

Вплив природних тіосульфонатів — складових часнику на ігнібування циклооксигеназної реакції та утворення тромбоксану A_2 описано в роботі [155].

Дослідження різноманітних біологічно активних сполук, незалежно від їх природного або синтетичного походження, які здатні пригнічувати синтез простагландинів, є важливою стратегією, адже це дасть можливість використовувати їх як протизапальні препарати. Це пов'язано з їх здатністю блокувати біосинтез ейкозаноїдів через циклооксигеназний шлях, включаючи утворення тромбоксану A_2 . Такий підхід має біохімічне обґрунтування для антиагрегантної та антитромботичної дії при тривалому застосуванні малих доз ацетилсаліцилової кислоти (аспірину) [209]. Ейкозаноїди, зокрема простагландини та лейкотрієни, утворюються під час метаболізму арахідонової кислоти (рис. 1.4) і виконують важливу функцію у розвитку та регуляції запальних процесів. Запалення є захисною реакцією організму на пошкодження

тканин. Виявлено, що в ділянках запалення виробляється велика кількість простагландинів, особливо PGE₂, які збільшують інтенсивність запального процесу через підсилення впливу гістаміну, брадикініну, серотоніну та інших медіаторів запалення. Крім того, самі простагландини можуть спричиняти активізацію окремих компонентів запальної реакції [178].

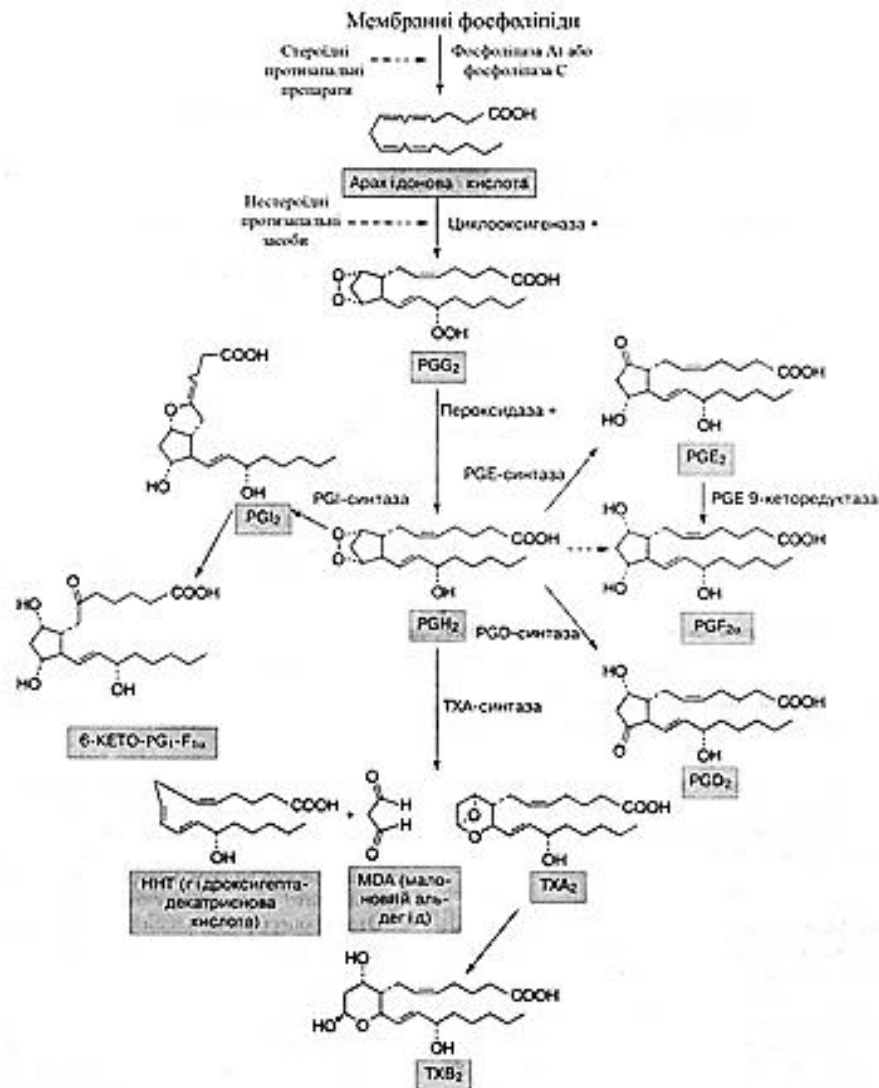


Рис. 1.4. Метаболізм арахідонової кислоти [241].

Виділений з часнику N-ферулоїлтіамін у концентрації 0,05 мкМ достовірно інгібував P-селективну експресію тромбоцитів на 31% [143]. У процесі агрегації тромбоцитів приймають участь циклічний аденозинмонофосфат (цАМФ), циклічний гуанінмонофосфат (цГМФ) та оксид азоту (NO), який бере участь у міжклітинній комунікації в центральній та периферичній нервовій системі, діє як ендотеліальний фактор розширення

судин, регулює агрегацію тромбоцитів та адгезію нейтрофілів до ендотелію, приймає участь в нейромедіаторних процесах шляхом активації гуанілатциклази та є необхідним для цитотоксичної активності макрофагів [242]. NO впливає, відповідно, на активність Ca^{2+} -залежних ензимів та внутрішньоклітинну концентрацію іонів Ca^{2+} [241]

Антитромботичні властивості екстрактів часнику, також було описано вченим Фукао. У своїй статті [48] він повідомляє, що тіосульфонати здатні активувати NO-синтазу. Підтримуючи необхідний рівень NO як необхідного фактора для регуляції судинного тонууса, тіосульфонати можуть взаємодіяти безпосередньо з фібриногеновими рецепторами GPIIb/IIIa , зменшуючи при цьому здатність тромбоцитів зв'язуватись із фібриногеном. Окрім цього, антитромботична дія часникового порошку — без запаху була продемонстрована у фібринолітичних та коагуляційних системах крові [197]. Показано, що часник не тільки активує фібринолітичну діяльність, прискорюючи t-PA-опосередковану активацію плазміну, але й пригнічує коагуляційну систему зменшеним утворенням тромбіну, синтез та експресію білку фібрилярного колагену I типу [197], тобто може бути використаним для попередження патологічного тромбоутворення в серцево-судинних патологіях. Отже, активні метаболіти часнику множинними механізмами активно інгібують агрегацію тромбоцитів та відіграють велику роль у попередженні серцево-судинних захворювань. Сполука, яку виділено зі спиртового екстракту часнику — ажоен, чинить інгібувальну щодо інтегринів тромбоцитів GPIIb/IIIa , і таким чином запобігає їх агрегації [158].

У літературних даних [4] є відомості, що тіосульфонати з ароматичною структурою, шляхом блокування рецепторів GPIIb/IIIa фібриногену та утворення тромбоксану A_2 , ефективно зупиняють злипання тромбоцитів і використовуються як антикоагулянти. Це може стати основою для розробки нових препаратів проти утворення тромбів, спрямованих на запобігання серцевих проблем та інсультів. [4, 152]. Також про сульфуровмісні органічні сполуки, які є ефективними інгібіторами агрегації тромбоцитів описано в роботі

[112]. Базуючись на експериментальних даних про властивості АДФ, як одного з ключових фізіологічних факторів, що спричиняє агрегацію тромбоцитів, було розроблено низку препаратів (таких як тиклопідин, клопідогрель та інші), які інгібують рецептори АДФ і це призводить до зменшення ймовірності утворення тромбозів [3]. Група науковців Національного університету «Львівська політехніка» та Навчально-наукового центру «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка працюють над розробкою нових сполук з антитромботичним ефектом, серед яких вже є визначені перспективні об'єкти тіосульфонатної та дитіокарбаматної будови для поглиблених фармакологічних досліджень і встановлено, що залежно від дози, ці сполуки пригнічували індуковану АДФ і колагеном агрегацію тромбоцитів [18, 63, 64].

У дослідженнях вивчалися рівні агрегації тромбоцитів, спричинені введенням тестированих речовин у плазму. Оцінювалася ступінь агрегації та визначалося пригнічення АДФ-залежної агрегації в порівнянні з контрольною групою, взятою за 100% для зручності аналізу [226]. Результати досліджень проілюстрували, що деякі сполуки мають потенціал інгібувати АДФ-залежну агрегацію тромбоцитів, однак важливо, що всі досліджувані похідні тіосульфонатної кислоти, у досліджуваних концентраціях, не викликали самостійної агрегації тромбоцитів. На практиці було показано, що S-метиловий естер з ароматичним-бензеновим сульфонільним фрагментом здатен знижувати агрегацію тромбоцитів. Вчені виявили, що зміни в окремому фрагменті сполук, що належать до класу S-естерів 4-амінобензентіосульфоїкислоти, призводять до втрати їх здатності інгібувати процес згортання тромбоцитів. Зокрема, ацетилювання аміногрупи цих сполук, знижувало інгібуючу активність. Наприклад, метиловий S-естер 4-ацетиламінобензентіосульфоїкислоти виявив у два рази меншу активність, ніж його аналог без ацетилю. Отримані результати підтвердили чутливість агрегації тромбоцитів, викликаній колагеном, до впливу вивчених сполук [226].

За дії нітробензентіосульфону калію спостерігаються виражені зміни серцево-судинної системи, які проявлялися розширенням кровоносних судин та капілярів і, як наслідок, набряку тканин тіла. Нітробензентіосульфат калію, очевидно, завдяки присутності у структурі вільної нітрогрупи, здатний впливати на стінки кровоносних судин та регулювати тонус судин, можливо, за рахунок активації NO-синтази. Адже відомо, що оксид нітрогену (NO) бере участь у міжклітинній комунікації в центральній та периферичній нервовій системі, регулює агрегацію тромбоцитів та адгезію нейтрофілів до ендотелію, приймає участь у нейромедіаторних процесах шляхом активації гуанілатциклази та є необхідним для цитотоксичної активності макрофагів. Оксид нітрогену збільшує утворення циклічного ГМФ у гладеньких міоцитах судин через активацію розчинної гуанілатциклази, яка своєю чергою активує Ca^{2+} -АТФазу, що сприяє зниженню вмісту внутрішньоклітинного Ca^{2+} , забезпечує релаксацію гладеньких міоцитів та діє як ендотеліальний фактор розширення судин. Отже, NO є регулятором внутрішньоклітинної концентрації іонів Ca^{2+} та, відповідно, активності ряду Ca^{2+} -залежних ензимів. Тому, ймовірно, що нітробензентіосульфат калію здатен активувати фібринолітичну активність, інгібуючи агрегацію тромбоцитів, тобто зумовлює антикоагуляційний ефект, що є важливим для запобігання міокардіальних ускладнень та інсульту [241].

Проаналізувавши досліджувані тіосульфати у програмі Swiss Target Prediction, який служить цінним онлайн-ресурсом для прогнозування макромолекулярних мішеней біоактивних малих молекул [10], зокрема протеїнів, які містяться в організмі людини, мишей та щурів, з'ясувалося, що найвищу ймовірність активності проти певної мішені виявив ETC. Циклінзалежна кіназа типу 2 (ЦЗК₂), також відома як CDK₂, є ключовим протеїном, який бере участь у регуляції клітинного циклу. Він відіграє значну роль у переході від фази G₁ до фази S, де клітина готується до реплікації ДНК. Порушення регуляції активності ЦЗК₂ може призвести до неконтрольованої проліферації клітин, що є однією з ознак раку.

У терапії раку націлювання на ЦЗК₂ було досліджено як потенційну стратегію зупинки росту ракових клітин і індукування клітинної смерті. Мета полягала в тому, щоб пригнічувати аномальну активність ЦЗК₂ і запобігати прогресуванню ракових клітин через клітинний цикл, що зрештою призводить до їх смерті. Було розроблено кілька інгібіторів ЦЗК, причому, одні специфічні для ЦЗК₂, а інші націлені на декілька ЦЗК, включаючи ЦЗК₂. Ці інгібітори діють шляхом зв'язування з АТФ-зв'язуючим сайтом ЦЗК₂, блокуючи його активність і запобігаючи його взаємодії з циклінами, важливими кофакторами, які керують прогресуванням клітинного циклу [19].

Отже, результати використання молекулярного докінгу для оцінки біологічної активності сполук ЕТС, АТС і ААТС свідчать про високий потенціал пошуку нових антивірусних препаратів серед цих речовин. Серед усіх досліджуваних сполук, сполука ААТС видається найбільш перспективною для подальших досліджень у цьому напрямку.

Ацетильний фрагмент в ААТС утримується в активному центрі звичайними водневими зв'язками з амінокислотою Асп при взаємодії з білком. Сульфогрупа встановлює зв'язок з амінокислотою Арг через звичайний водневий зв'язок. Бензеновий фрагмент також зв'язується з Арг через п-алкільний зв'язок. Взаємодія сил Ван-дер-Ваальса представлена між лігандом і білком через зв'язок із Вал А:189, Асп А:215, Асн А:221, Ліз А:73, Асп А:218, Арг А:223.

Результати показують, що з досліджених S-естерів 4-амінобензентіосульфокислоти найбільш перспективною для пошуку ліків, ефективних проти вірусу covid, є АТС з 86,68 % потенційною активністю.

Варто зазначити, що в процесі скринінгу були виявлені перспективні сполуки з протипухлинними властивостями. Наприклад, ААТС показав потенційну активність проти мішеней, відповідальних за рак молочної залози. Сполука ЕТС показала потенційну активність проти мішеней, відповідальних за гостру і хронічну серцеву недостатність.

Таблиця 1.1.

Прогнозування біологічної активності з використанням ресурсу SuperPred.

Сполука	Назва цілі	Показання	Ймовірність, %	Точність моделі, %
ААТС	Циклінзалежна кіназа 1/циклін В1	Рак молочної залози [МКХ-11: 2С60-2С65].	94,41	91,24
	Цитохром Р450 3А4	Солідна пухлина/рак [МКХ-11: 2А00-2F9Z].	88,13	91,19
	Адаптор-асоційована кіназа	Коронавірусна хвороба 2019 (COVID-19) [МКХ-11: 1D6Y]	79,81	83,10
	Рецептор тромбоксану А2	Алергічний риніт [МКХ-11: СА08.0]	69,14	92,62
АТС	Рецептор аденозину А1	Гостра та хронічна серцева недостатність	92,35	95,93
	Адаптор-асоційована кіназа	Коронавірусна хвороба 2019 (COVID-19) [МКХ-11: 1D6Y].	86,68	83,10
	Катепсин D	Гіпертонічна хвороба [МКХ-11: ВА00-ВА04]	83,36	98,95
	Цитохром Р450 2А6	Вульгарний псоріаз [МКХ-11: ЕА90].	77,58	71,78
ЕТС	Рецептор аденозину А1	Гостра та хронічна серцева недостатність [МКХ-11: BD1Z].	95,82	95,93
	Катепсин D	Гіпертонічна хвороба [МКХ-11: ВА00-ВА04].	91,88	98,95
	Альфа-субодиниця білка натрієвих каналів типу III	Стенокардія [МКХ-11: ВА40].	76,52	96,90
	Амінопептидаза N	Псоріаз вульгарний [МКХ-11: ЕА90].	72,2	93,31

1.2. Антиоксидантна система за дії S-естерів тіосульфокислот.

Антиоксидантна система (АОС) в організмі відіграє ключову роль у запобіганні негативного впливу вільних радикалів та окиснювальних процесів, нейтралізуючи вільні радикали, які можуть ушкоджувати молекули ДНК, білків та ліпідів у клітинах. Основними компонентами цієї системи є антиоксиданти, які містять рухливий атом гідрогену, що слабо зв'язаний з карбоном (C-H) або сульфуром (S-H). У результаті взаємодії антиоксидантів та вільних радикалів утворюються менш активні радикали антиоксидантів, що обривають ланцюги вільно-радикальних реакцій окиснення [209].

Ензими АОС — супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза вважаються першою лінією захисту від вільних радикалів, яка практично виключає вільно-радикальні реакції. Супероксиддисмутаза має різні ізоферментні форми та каталізує інактивацію супероксидного аніон-радикала. Каталаза розщеплює гідрогенпероксид (H_2O_2) і перешкоджає його накопиченню. Глутатіонпероксидаза каталізує перетворення H_2O_2 та ліпідних гідропероксидів на менш токсичні сполуки, використовуючи відновлений глутатіон. В еритроцитах, при високій концентрації H_2O_2 , домінує глутатіонпероксидаза, при низькій — каталаза. Однак різноманітні фактори можуть знижувати їх ензиматичну активність, наприклад, глутатіонпероксидаза є селензалежним ензимом і нестача селену може пригнічувати її роботу [209].

Наступні лінії захисту АОС формуються макромолекулярними та низькомолекулярними неензиматичними компонентами, такими як церулоплазмін, трансферин, феритин, які беруть участь у транспорті та зв'язуванні іонів металів. Церулоплазмін нейтралізує вільні радикали з супероксиддисмутазною активністю, захищає мембрани та інактивує вільні радикали під час запалення [234].

Жиророзчинні (токофероли, віт. А, флавоноїди, каротиноїди, убіхінон, естрогени) та водорозчинні (віт. С) неензиматичні антиоксиданти взаємодіють для оптимальної дії. Токофероли, особливо α -токоферол, є потужними антиоксидантами, зупиняючи ланцюгові реакції вільних радикалів. Вітамін А

взаємодіє з різними вільними радикалами та нормалізує функції біомембран, взаємодіє з іншими компонентами антиоксидантної систем [211].

Для ефективної роботи антиоксидантної системи важливими є сполуки, що містять сульфгідрильні групи (SH-), зокрема, глутатіон. Антиоксидантна активність глутатіону пов'язана з функціонуванням ензимів — глутатіонпероксидази (з селеном) та глутатіонредуктази. Глутатіон є необхідним кофактором для глутатіонпероксидази, яка відновлює гідропероксиди ліпідів та пероксид гідрогену, захищаючи клітинні структури від окиснення [214]. В результаті утворюється окиснений глутатіон $GS - SG$ (дисульфід глутатіону), подальше відновлення якого виконує глутатіонредуктаза за участю НАДФН та $НАДФ^+$:

До природних антиоксидантів, регуляторів окислювальних процесів в організмі, належить дипептид карнозин, який складається з гістидину та β -аланіну. Його антиоксидантні властивості ґрунтуються на здатності діяти як "пастка" для пероксильних та гідроксильних радикалів, а також синглетного кисню. Крім того, карнозин здатний нейтралізувати гіпохлорит-аніон, утворюючи стабільні хлорамінові комплекси [209].

У результаті вільнорадикального пероксидного окиснення (ВРПО), разом із активними формами кисню, утворюються і інші активні радикали (кетони, альдегіди, пероксиди та спирти), як здатні взаємодіти із окремими функціональними групами протеїнів. Це призводить до полімеризації та деструкції амінокислот у них, зокрема тих, які мають сульфгідрильні групи, таких як цистеїн та метіонін, що може спричинити зміни у функціонуванні ензимів.

Від активних радикалів можуть також «постраждати» біоантиоксиданти, такі як убіхінон, вітаміни, стероїдні гормони, в результаті це впливає на склад фосфоліпідів мембран та може ініціювати процеси іонного транспорту, модифікацію ліпідного складу мембран та конформацію протеїнів.

До водорозчинних біоантиоксидантів, які містять тіолові групи належать цистеїн, цистин та глутатіон [210]. Цистеїнові залишки у протеїнах S-

тіоалкілюються, що призводить до зміни біохімічної функції протеїнів (у більшості випадків до інгібування). Це проявляється у загальній реакції на оксидативний стрес, змінах метаболізму та цитоскелету, зміні імунної відповіді та впливі на метаболізм поліамінів. Також спостерігається прямий вплив на цілісність клітинної мембрани. Клітини також реагують на вплив природних сульфуровмісних тіосульфінатів, зокрема аліцину, через редокс-чутливі фактори транскрипції, до яких належать система Nrf2-Keap1 у ссавців або транскрипційний фактор Yap1 у дріжджів, які можуть активуватися аліцином. Вони призводять до активації захисних механізмів проти оксидативного стресу. Поступово активуються різні захисні механізми, серед яких особливе значення має синтез відновленого глутатіону (ВГ). З цим пов'язаний пентозофосфатний шлях, який у гетеротрофних організмів є найважливішим джерелом НАДФН, донора електронів для глутатіонредуктази. Експресія антиапоптичних генів також важлива для захисту від аліцину, як і фітогормону жасмонової кислоти в рослинах. Тіоредоксини, особливо Trx2, відіграють другорядну роль, і їхній внесок не такий помітний, як глутатіонової системи.

S-глутатіонілювання — це специфічна посттрансляційна модифікація залишків цистеїну в протеїнах шляхом приєднання глутатіону, яка стимулюється оксидативним або нітрозативним стресом, але також відбувається і в клітинах без стресу. Це може слугувати для регулювання різноманітних клітинних процесів шляхом модуляції функції протеїну та запобігання незворотньому окисненню білкових тіолів. Нещодавні дослідження підтверджують важливу роль S-глутатіонілювання в контролі клітинних сигнальних шляхів, пов'язаних з вірусними інфекціями та апоптозом, індукованим фактором некрозу пухлин (ФНП). Виявлено, що гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа залучена до регуляції синтезу ендотеліну-1 за допомогою нового механізму, заснованого на S-глутатіонілюванні, що включає стабільність мРНК. Більше того, нещодавні дослідження ідентифікували S-глутатіонілювання як редокс-сигнальний механізм у рослин [31].

1.3. Особливості протікання окремих ланок білкового обміну за дії S-естерів тіосульфокислот.

Білковий обмін специфічний і забезпечує безперервність відтворення й оновлення білків організму. Характерною особливістю є його розгалуженість: в обміні білків амінокислот беруть участь сотні проміжних метаболітів, тісно пов'язаних з обміном вуглеводів і ліпідів. Кожний організм має свій неповторний склад білків, який генетично детермінований. Білки не депонуються в організмі, тому необхідне постійне надходження білків з їжею, що розщеплюється у травному тракті на вільні амінокислоти, з яких синтезуються власні структурні білки [240].

Майже всі білки організму включно із структурними білками, гемоглобіном, білками плазми та інших біологічних рідин організму піддаються розпаду та оновленню з високою швидкістю. Стан білкового обміну визначається багатьма чинниками – як екзогенними (агресивні чинники довкілля, харчування) так і ендогенними (фізіологічний стан організму). Будь-які відхилення від нормального фізіологічного стану організму позначаються на азотистому обміні. Білки, на відміну від вуглеводів і ліпідів, не депонуються. Про стан білкового обміну судять за азотистим балансом. Він визначається різницею між кількістю нітрогену введеного в організм з їжею та кількістю нітрогену, виведеного з організму у вигляді кінцевих продуктів азотистого обміну, головню зі сечею. Щоб синтезувати специфічні для даного організму білки необхідні вільні амінокислоти. Вони утворюються внаслідок розпаду білкових речовин які надходять з їжею. Проміжний метаболізм амінокислот білкових молекул містить катаболічні, анаболічні процеси, а також ряд інших специфічних перетворень що супроводжуються утворенням біологічно активних сполук. Умовно проміжний метаболізм амінокислот можна поділити на спільні шляхи обміну і індивідуальні перетворення окремих амінокислот. Спільні шляхи перетворення амінокислот містять реакції декарбоксілювання,

трансамінування, біосинтезу та рецимації (характерний для мікроорганізмів) [234].

Амінокислоти є основними компонентами білків, які в свою чергу складаються з поліпептидних ланцюгів, і є ключовими структурними та функціональними елементами клітин, виконуючи різноманітні завдання, такі як транспорт речовин, імунний захист (глутамін і аргінін є важливими для активації імунних клітин та антитіл), регуляція енергетичного обміну, каталіз біохімічних реакцій і багато інших. Деякі амінокислоти, такі як серотонін, дофамін, γ -аміномасляна кислота (ГАМК) є нейромедіаторами, що впливають на передачу нервових сигналів у мозку. Сірковмісні амінокислоти, такі як цистеїн, метіонін і таурин, відіграють важливу роль у фізіології та життєдіяльності організму, зокрема, метіонін є основним джерелом органічної сірки в організмі, а також впливає на обмін ліпідів і може мати значення для здоров'я серця та печінки. Таурин відіграє роль у регуляції імпульсів в нервовій системі, що важливо для правильної функції мозку та забезпечення нормального роботи серця [232].

Важливість сульфуромісних амінокислот, зокрема цистеїну, полягає в їхній ролі у різноманітних біологічних процесах за дії S-естерів тіосульфокислот. L-цистеїн (або α -аміно- β -тіопропіонова кислота) — це амінокислота, яка є одним з важливих будівельних блоків білків та відіграє ключову роль у біологічних процесах, зокрема в регуляції метаболічних процесів, захисті від оксидативного стресу та пошкодження через біосинтез трипептиду глутатіону та амінокислоти таурину, необхідних для функціонування імунної системи. Цистеїн у клітинах синтезується з серину та метіоніну, як джерела сульфуру, а також в результаті розщеплення білків, що надходять до організму з їжею [237].

В молекулі цистеїну наявна тіольна група (SH), яка проявляє реакційну здатність і завдяки цьому цистеїн має досить широкий спектр біологічної дії. Розщеплення цистеїну під впливом десульфогідази призводить до утворення пірвіноградної кислоти та гідрогенсульфіду. При певних умовах цистеїн може

легко віддавати гідроген і між двома молекулами цистеїну формується дисульфідний зв'язок, результатом чого є утворення нової сульфуровмісної амінокислоти — цистину. Завдяки окисно-відновному процесу між цистеїном і цистином, вони можуть легко перетворюватися один в одного і цей процес відіграє важливу роль у регуляції обміну речовин в організмі. Крім того, цистеїн бере участь у біосинтезі глутатіону, таурину та коферменту А і є одним із найсильніших антиоксидантів. Цистеїн здатен захищати тварин від дії летальних доз рентгенівського випромінювання, якщо ввести його тваринам перед опроміненням. Відома здатність цистеїну та його похідного – цистеаміну (якщо їх ввести перед опроміненням) до захисту тварин від дії летальних доз рентгенівського опромінення. Найбільш ефективним радіопротектором серед досліджених похідних цистеїну — гуанідинове похідне, яке також є найменш токсичним порівняно з іншими SH-протекторами [205]. Через наявність у цистеїні трьох функціональних груп можливе утворення відповідно трьох рядів похідних, серед яких найбільш відомі N-заміщені цистеїни, хоча досліджено і інші деривати цієї сульфуровмісної амінокислоти. Це дало можливість для широкого застосування їх у медицині та ветеринарії як ефективних лікарських засобів, у харчовій промисловості, у сільському господарстві – як рістрегулюючі препаратів та цинковмісні мікродобрива. [205].

Серед N-заміщених похідних цистеїну найбільш відомим є ацетилцистеїн (*N*-ацетил-L- цистеїн (флуїмуцил), АЦЦ) (рис. 1.5), у молекулі якого наявна вільна тіольна група, яка здатна до зв'язування вільних радикалів і, відповідно, відіграє важливу роль в антиоксидантну, антитоксичну, імуномодельючу дії ацетилцистеїну [34, 38]

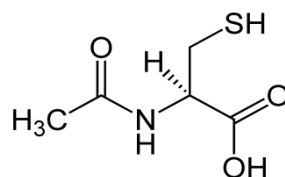


Рис. 1.5. Структурна формула ацетилцистеїну.

Присутність у сполучі ациламіногрупи забезпечує стійкість сполуки до окиснення. Антиоксидантна дія цистеїну краще проявляється у синергізмі із сеоленом та вітаміном С. [229]. У харчовій промисловості цистеїн використовується для збереження віт. С в готових продуктах [233]. *N*-ацетилцистеїн нормалізує антиоксидантний статус клітин шляхом взаємодії з вільними радикалами (за рахунок SH-груп), підвищує активність глутатіон-S-трансферази, стимулює синтез в печінці глутатіону, який далі поступає з кров'ю в пошкодженій орган [6]. Дія *N*-ацетил-цистеїну також пов'язана зі здатністю вільної сульфгідрильної групи розщеплювати внутрішньомолекулярні дисульфідні зв'язки агрегатів глікопротеїнів мокроту. Це зменшує в'язкість мокроту та слизу, тому на основі *N*-ацетил-*L*-цистеїну створенні такі препарати як мукоміст, мукосольвін, містаброн, мукобене, флуїмуцил [229]

Ряд дослідників [120] запропонували використовувати ацетилцистеїн як засіб лікування пацієнтів з хворобою Паркінсона. У досліджах з використанням лінії клітин LLC-PK1 *in vitro* вивчено нейтралізуючий вплив *N*-ацетилцистеїну на цитотоксичність кадмію [140, 149, 202], який полягає в порушенні проникнення кадмію у внутрішньоклітинний простір.

N-Ацетилцистеїн комплексно впливає на імунітет у ВІЛ-інфікованих пацієнтів. Ряд дослідників припускають [11, 193], що розвиток СНІДу, може в значній мірі бути зумовленим нестачею цистеїну. Дефіцит цистеїну у ВІЛ-інфікованих пацієнтів відповідальний за клітинну дисфункцію та цілий ряд патогенетичних факторів хвороби. Наводяться докази впливу цистеїну на ІЛ-2-залежну проліферацію Т-лімфоцитів і активацію фактору транскрипції NF-карраВ. Таким чином, *N*-ацетилцистеїн можна розглядати як засіб поповнення вмісту цистеїну і відновлення рівня глутатіону в організмі ВІЛ-інфікованих пацієнтів. Одночасно *N*-ацетилцистеїн має властивості і неспецифічної токсикотропної протиотрути (вступає у фізико-хімічну взаємодію з токсичними речовинами в організмі людини), і токсично-кінетичної протиотрути (впливає на швидкість процесів руйнування токсичних молекул). Легко проникаючи у

внутрішню частину клітини ацетилцистеїн деацетилюється і вивільняє L-цистеїн, який необхідний для синтезу глутатіону [241].

Важливим фактором внутрішньоклітинного захисту від екзогенних та ендогенних окиснювальних радикалів та різних цитотоксичних речовин є сульфуровмісний трипептид глутатіон, який складається із залишків γ -глутамінової кислоти, гліцину та цистеїну. Значущість глутатіону у клітині визначається його антиоксидантними властивостями. Під час реакції дегідрування SH-групи, дві молекули глутатіону об'єднуються дисульфідним зв'язком, утворюючи окиснену форму глутатіону (GSSG). Результатом цієї реакції у молекулах речовин, які піддаються детоксикації, виникають гідрофільні групи, що полегшує їхнє виведення з організму [214]. Крім того, хімічна модифікація токсичних речовин сприяє зменшенню їх токсичності [137]. Поміж інших функцій, глутатіон впливає на активність ензимів, забезпечує оптимальний стан біомембран, реалізує коферментні функції, бере участь у обміні ейкозаноїдів, сприяє біосинтезу нуклеїнових основ, підвищує стійкість клітин до інтоксикацій, стимулює імунологічний захист організму, збільшує фагоцитарну активність лейкоцитів, бере участь у метаболізмі ксенобіотиків, сприяє проліферації та відновленню клітин печінки, забезпечуючи пластичні та енергетичні потреби організму [217]. В клітинах еукаріотів та грамнегативних бактерій, сульфуровмісна сполука – діалілтіосульфінат (аліцин) взаємодіє з тіоловими залишками цистеїну в протеїнах і низькомолекулярних тіолах, таких як глутатіон, а також бацилітіол (BSH, глікозид L-цистеїніл-D-глюкозаміну з L-яблучною кислотою) і змінює їх біологічну дію [49].

Тіольна група має винятково складну хімічну структуру, але, можливо, найбільш відома своєю здатністю утворювати дисульфіди (RS-SR) в умовах окиснення. Утворення дисульфідного зв'язку між тіолами цистеїну забезпечує стабільність і визначає структуру білків. Однак, у більшості клітин протеїнові тіоли в основному знаходяться у відновленому стані. Під впливом пероксидів, у результаті окисного стресу утворення дисульфідного зв'язку може відбуватися

між тіолами протеїнів або між протеїновими тіолами та низькомолекулярними тіолами. Наприклад, *S*-глутатіонілювання залишків активного центру цистеїну інактивує деякі ензими [31]. *S*-тіолування захищає цистеїн від подальшого окиснення, яке може призвести до незворотнього пошкодження білків, що містять цистеїн сульфїнової та сульфоновної кислот. Відновлення білкових дисульфїдів зазвичай опосередковується тіол-дисульфїдоксидоредуктазами, включаючи тіоредоксини і глутаредоксини [128]. Окиснені глутаредоксини відновлюються GSH, генеруючи окиснений GSSG, який, у свою чергу, відновлюється глутатіонредуктазою за рахунок НАДФН. Тіоредоксини безпосередньо відновлюються тіоредоксин-редуктазою. Узагальнена схем впливу алїцину на еукарїотичну клітину зображена на рис. 1.6.

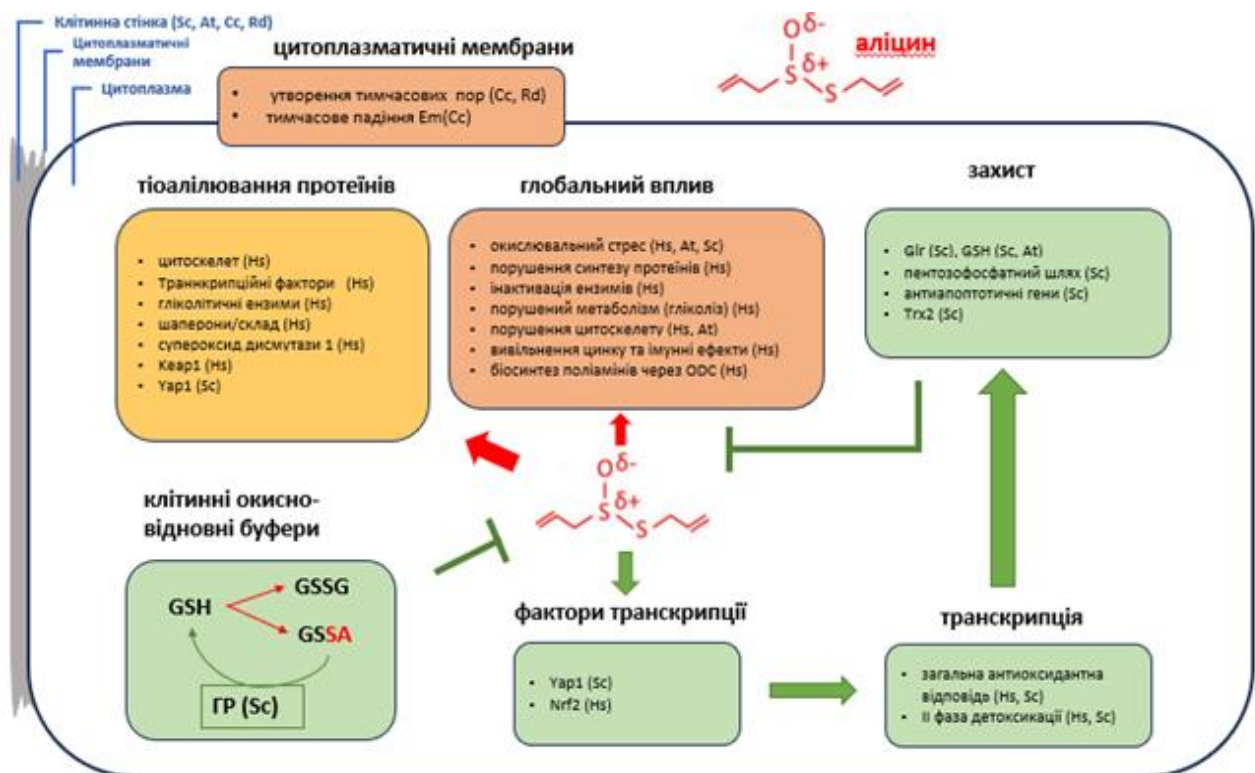


Рис. 1.6. Вплив алїцину на еукарїотичну клітину .

Окрім утворення дисульфїдних зв'язків, тіоли можуть функціонувати як нуклеофіли, утворюючи *S*-кон'югати. Тіоли швидко реагують з деякими алкілюючими агентами (наприклад, *N*-етилмалеїмідом, йодоацетамідом) та з електрофілами (формальдегідом, метилглюксалем, *S*-нітросполуками). Тіоли

забезпечують захист від цих типів сполук, як мінімум, діючи як буфер і, в деяких випадках, утворюючи продукти, які можуть бути ензиматично перетворені в менш шкідливі сполуки [49]. Аліцин, у великих дозах, у клітинах еукаріотів може індукувати апоптоз або некроз, тоді як менші, біосумісні концентрації, можуть впливати на активність окисно-відновних білків та клітинну передачу сигналів [21].

Додатковим аспектом його діяльності є вплив на ендогенну імунну систему. Якщо аліцин здатний впливати на імунокорельовані сигнальні шляхи в клітинах, то можуть бути реалізовані нові можливості для терапевтичного розвитку: у випадку, якщо аліцин стимулює активність імунних клітин, це має призвести до посилення захисту від патогенів і пригнічення імунних процесів, а також може представляти інтерес щодо алергії або аутоімунних захворювань. Щоб довести вплив аліцину на різні процеси, пов'язані з імунною системою було проведено дослідження на мишачій моделі *Morbus Bechterew*, дегенеративного ревматоїдного захворювання тіла хребця. Початкове спостереження полягало в тому, що аліцин пригнічує міграцію нейтрофільних гранулоцитів в епітелій, що є ключовим процесом при запаленні [59]. Крім того, аліцин діє на Т-клітинні лімфоцити, інгібуючи хемотаксис, який індукується SDF1 α -хемокінами, і цей ефект корелюється з порушенням динаміки актинового цитоскелету. Було показано, що аліцин пригнічує трансендотеліальну міграцію нейтрофілів [163]. Слід зазначити, що аліцин впливав на цитоскелет у різних біологічних системах. Наприклад, було показано на фібробластах мишей (NIH-3T3), що аліцин спричиняє деполімеризацію тубулінового цитоскелету протягом декількох хвилин при низькій концентрації (2 мкМ), тоді як при цій концентрації актиновий цитоскелет залишався незмінним [151]. Ключовим гравцем в активації лімфоцитів є білок p21^{ras}, який запускає інактивацію RAS-GTP-ази шляхом посилення її ензиматичної активності. Цікаво, що p21^{ras} є прямою мішенню аліцину, оскільки в результаті тіоаліцилювання аліцином, він активується [145] і згодом ця активація може призвести до посиленого фосфорилування кінази

ERK1/2, яка бере участь у різних сигнальних шляхах (рис. 1.7). Ці процеси мають вирішальне значення для активації лімфоцитів.

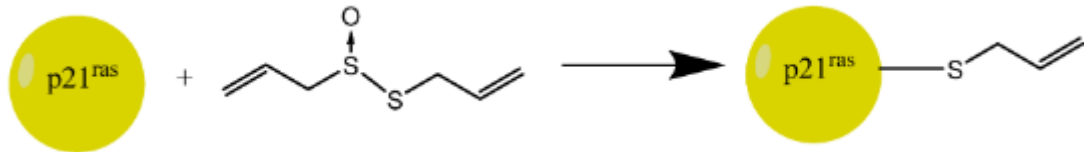


Рис. 1.7. Аліцин стимулює лімфоцити, впливаючи на p21^{ras}: тіоалкілювання, тобто зв'язування алілсульфенової кислоти з тіолом цистеїну призводить до активації p21^{ras} і, як наслідок, до стимуляції фосфорилування ERK1/2.

Іншим центральним регулятором скоординованої імунної відповіді є цитокін TNF [88]. Порушення секреції TNF суттєво впливає на регуляцію імунної відповіді. З цієї причини цікаво, що аліцин пригнічує вивільнення TNF-залежних прозапальних цитокінів в епітелії кишечника. Це, однак, відображає вплив аліцину на фактори, розташовані нижче TNF. Оскільки TNF в основному секретується макрофагами [88], вплив аліцину на макрофаги досліджували щодо того, як він впливає на експресію самого TNF. Цікаво, що стимуляція макрофагів ліпополісахаридом (ЛПС) після попередньої інкубації в присутності аліцину, посилює активність промотору TNF, що свідчить про TNF-тригерну роль аліцину в клітинах, стимульованих ЛПС.

Аліцин пригнічує активність фосфатази, корелюючи з посиленням фосфорилуванням ERK1/2, який є центральним компонентом сигнального каскаду, що передає позаклітинні сигнали у внутрішньоклітинні сигнальні каскади. Крім того, вивільнення реактивних форм нітрогену (РФН) ЛПС-стимульованими макрофагами пригнічувалося аліцином. На запалення аліцин може впливати як безпосередньо, проявляючи антимікробну дію, так і змінюючи сигналізацію імунних клітин [62].

У експериментах із синтетичними аналогами аліцину, коли тваринам внутрішньоочеревинно вводили метил- та алілтіосульфони [108], було встановлено, що білковий спектр печінки за нетривалої дії тіосульфонатів, не змінювався, що свідчить про відсутність впливу цих біологічно активних

сполук на синтез білків у печінці, а у нирках — загальний вміст білка знижувався, що свідчить про те, що естери тіосульфокислот можуть чинити нефротоксичну дію [108], тому вивчення впливу новосинтезованих тіосульфонатів на організм тварин потребує подальших досліджень. Враховуючи ліпофільну природу синтезованих тіосульфонатів, очевидно, що ці сполуки можуть швидко проникати через плазматичні мембрани шляхом пасивної дифузії [129], що становить значний інтерес щодо їх впливу на ліпідний профіль плазматичних мембран. Тому, важливим буде подальше вивчення впливу як аліцину, так і синтетичних його аналогів, на імунні клітини на молекулярному рівні та вплив на розвиток запальних процесів.

1.4. Мікробіологічні особливості дії S-естерів тіосульфокислот.

У ході наукових вивчень, особлива увага була спрямована на розгляд біологічної активності тіосульфонатів, зокрема, на їхню здатність боротися з мікроорганізмами та розкриття механізмів, за допомогою яких це відбувається [109, 110]. Завдяки великому рівню ефективності та широкому спектру антимікробних можливостей тіосульфоестерів, а також їхній стійкості та низькій токсичності, виникла можливість рекомендувати ці речовини як можливі лікарські засоби [16, 203]. Адже, незважаючи на успіхи антимікробних препаратів у лікуванні інфекцій, спостерігається різке зростання захворюваності на стійкі до антимікробних препаратів патогени [35]. Захворювання, які колись легко піддавалися лікуванню, стають все більш несприйнятливими до звичайних методів лікування [22]. У зв'язку зі зростанням стійкості до протимікробних препаратів, лише кілька методів лікування за останні роки дійшли до клінічних випробувань [63, 64]. Сірковмісні антибіотики охоплюють широкий спектр біологічно активних органічних сполук, головною особливістю яких є зв'язок —S—S—, а кілька нових класів антибіотиків, що містять сірку, використовуються для лікування мультирезистентних патогенних інфекцій. [41]. Сульфуровмісні сполуки мають давню історію вивчення їхньої біологічної активності як антибактеріальних агентів у боротьбі зі збудниками інфекційних захворювань. Багато зі

сульфуороганічних сполук (дисульфіди, тіосульфінати, тіосульфонати) можна знайти в таких поширених рослинах, як часник, цибуля, цибуля-шарлот і шніт-цибуля, і вони мають антибактеріальну активність проти різних патогенних мікроорганізмів [132].

В лабораторії Еріка Блока [14] було проведено експерименти по виділенню та вивченню біологічної дії метаболітів часнику, які становлять особливий інтерес як антибактеріальні сполуки (рис. 1.8).

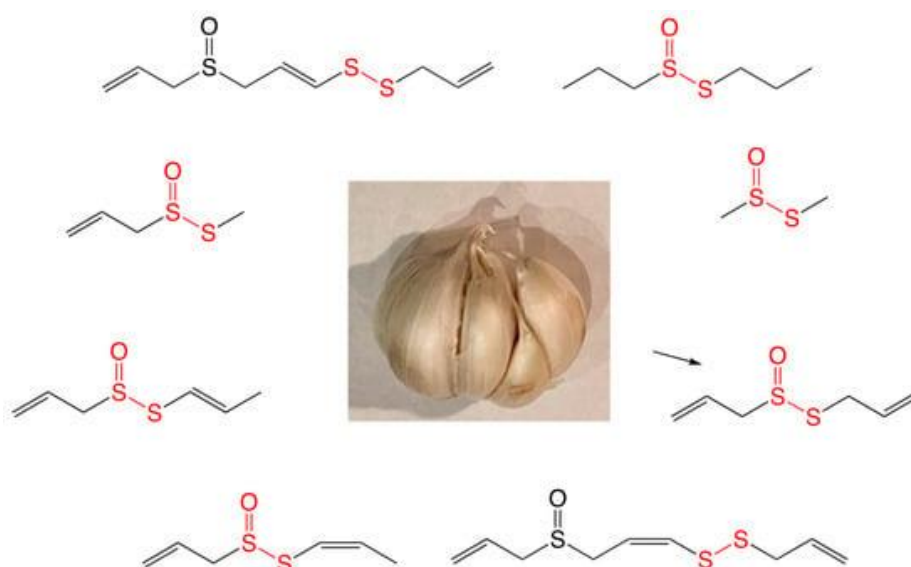


Рис. 1.8. Антимікробні сульфуроорганічні сполуки, виділені з часнику *Allium sativum*.

Усі виділені сполуки містять електрофільний атом сульфуру, представлений як R-S-X, який, функціонує як антибактеріальний агент і діє шляхом створення активних форм кисню (АФО) та інгібування метаболічних шляхів, таких як біосинтез жирних кислот типу II. [17]. Цей шлях передбачає перенесення тіогрупи від електрофілу сульфуру до реакційно здатної тіофільної речовини всередині клітини, наприклад, глутатіону, коензиму А чи цистеїнових ензимів. Перенесення сульфуровмісного фрагменту (R-S-), в свою чергу, створює змішаний дисульфід, здатний порушувати метаболізм та індукувати оксидативний стрес, перешкоджаючи детоксикації оксидантів за допомогою глутатіону або утворюючи активні форми кисню, які пошкоджують бактеріальну ДНК [14].

Таким чином, пошкодження може бути значним, внаслідок чого порушується біосинтез ліпідів та формування біомембран, структура ДНК зазнає розривів, а також інші окиснювальні процеси, що впливають на структурну та метаболічну цілісність клітини бактерії [157].

Вперше у 1844 німецьким хіміком Т. Вертгеймом методом парової дистиляції з екстракту часнику була виділена у вигляді часникової олії невідома активна сполука. Розкрити секрет цієї рослини науковцям вдалося лише у середині ХХ століття. [186]. У 1948 році швейцарські вчені А. Штолем та Е. Сібеком з'ясували, що специфічний аромат з'являється в результаті руйнування алііну під дією ензиму – аліїнази (рис. 1.9).

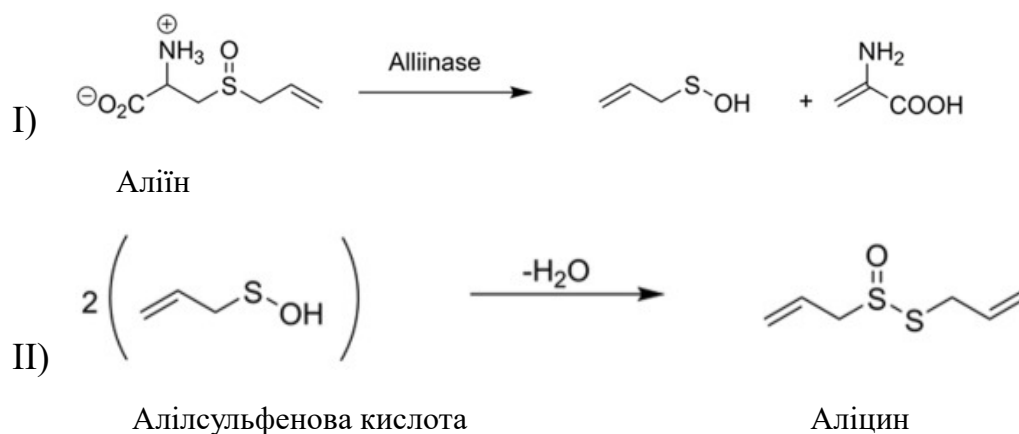


Рис. 1.9. Хімічна структура аліцину та механізм його утворення з алііну під дією аліїнази [186].

Аліїназа гідролізує аліїн з утворенням алілсульфенової кислоти, яка спонтанно конденсується з втратою води з утворенням аліцину. Неушкоджені цибулини часнику містять велику кількість γ -глутамілцистеїну. Ці резервні сполуки можуть бути гідролізовані та окиснені з утворенням алііну. У незруйнованих клітинах часнику реагенти розділені (ензим – знаходився у вакуолях, а субстрат – в цитоплазмі). Під час механічного руйнування тканин або дегідратації, ензим, що міститься в вакуолях — аліїназа, швидко лізує цитозольні сульфоксиди цистеїну (аліїн) з утворенням цитотоксичних і пахучих алкіл-алкан-тіосульфінатів, до яких належить аліцин (S-аліловий естер тіо-2-

пропен-1-сульфінової). Аліцин та інші тіосульфінати миттєво розкладаються на інші сполуки, такі як диалілсульфід (ДАС), диалілдисульфід (ДАДС) і диалілтрисульфід (ДАТС), дитиїни та ажоен.

У той же час γ -глутамілцистеїни перетворюються на S-алілцистеїн іншим шляхом, ніж аліїн/аліцин. S-алілцистеїн відіграє важливу роль у значенні часнику для здоров'я. Аліїназа – це глікопротеїн, що містить 5,5-6% цукрів і може формувати комплекс з часниковим манозо-специфічним лектином, який конкурентно інгібується метил- α -D-манозитом. [154]. Часник містить ефірні та жирні олії, вуглеводи, аліїн, вітаміни груп В і С, різні мікроелементи, такі як магній, кальцій, фосфор, хлор, йод, селен, германій, цинк та інші. Особливо ефективними є сульфідні компоненти, екстраговані з часнику, адже вони володіють фунгібактерицидними властивостями щодо бактерій та грибків, а також сприяють розрідженню крові. Лікування часником успішно застосовується при різних захворюваннях серця та судин, при діабеті, катаракті, артриті, фурункульозі, зокрема, екстракт з перестиглого часнику виявляється більш ефективним у цьому відношенні [242].

Аліцин - летюча та нестабільна сполука, яка відноситься до групи фітонцидів, які під час обробки трансформується та розпадається на різні органічні сульфуровмісні сполуки - алілдисульфіди, включаючи ажоен і дитиїни (рис. 1.10).

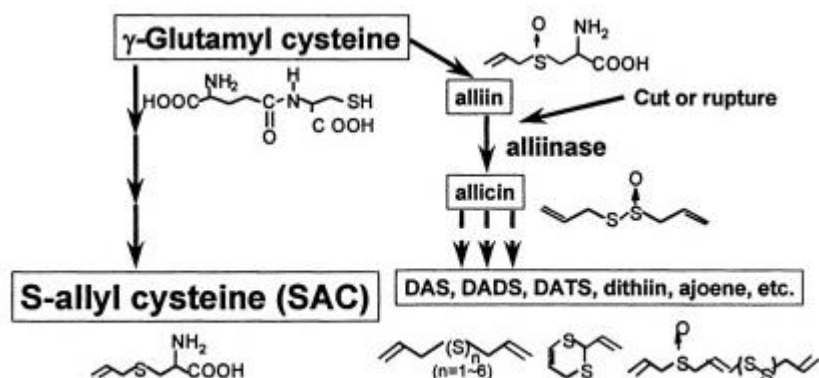


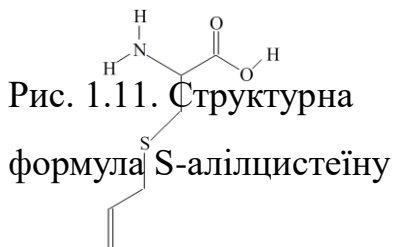
Рис.1.10. Схема перетворення γ -глутамілцистеїну у сульфуровмісні сполуки часнику.

Тому, через нестабільність аліцину, його терапевтичне або антисептичне використання було не ефективним. Після попадання аліцину в кров, він швидко

проникає у клітини та метаболізується у печінці протягом декількох хвилин [46, 47, 89].

Після вживання сирого часнику або чистого аліцину його не було виявлено у крові або сечі. Ці результати показують, що сам аліцин не має ефектів дії часнику *in vivo*. Але інші активні складові часнику, такі як діалілсульфід, діалілдисульфід, діалілтрисульфід, S-аліцистеїн, N-ацетилцистеїн, N-ферулолтіамін мали виражений лікувальний ефект [89].

S-Аліцистеїн (рис. 1.11) накопичувався в крові після вживання часнику [143]. Це стабільна, без запаху, розчинна у воді сполука, що здатна знижувати в



крові рівень холестеролу [119, 173, 189], проявляє антиоксидантні, протипухлинні, імуномодуляторні властивості [27, 39, 133], допомагає печінці нейтралізувати токсини [133], запобігає тромбоутворенню, інгібуючи агрегацію та адгезію тромбоцитів [172], запобігає дисфункції нирок – нефротоксичність, викликану циклоспорином [114], забезпечуючи значне зниження рівнів пероксидів ліпідів та збільшуючи антиоксидантний статус [173].

Аліїназа, яка вивільняється після подрібнення часника, може реагувати з пропіїном (S-пропіл-L-цистеїн сульфоксидом) з утворенням пропілпропан-тіосульфінату (PTS) і пропілпропан-тіосульфонату (PTSO). Ці вторинні метаболіти часнику мають потужну антимікробну дію проти *Salmonella enterica*, *E. coli* та інших ентеробактерій, тому PTS і PTSO використовуються як антибактеріальний матеріал для промислового пакування, а також як дієтичні добавки, що можуть полегшити системне запалення, пов'язане з ожирінням, а також покращувати гомеостаз кишкової мікробіоти, що вказує на їх потенційне використання як ліків при запальних захворюваннях та метаболічному синдромі [200]. Нещодавно було описано, що PTS-PTSO має протизапальну активність у клітинах макрофагів мишей *in vitro* та послаблює запалення, спричинене кишковою гельмінтозною інфекцією, змінюючи експресію генів,

залучених до імунної функції та оксидативного стресу. Однак механізми антиоксидантної активності потребують подальшого вивчення. Автори дослідження [201] припускають, що PTS-PTSO має антиоксидантні властивості, які можуть модулювати середовище кишечника, щоб мінімізувати запалення і захистити організм хазяїна від кишкової інфекції. PTS-PTSO можуть знижувати рівень АФК та оксиду азоту (NO) в мишачих макрофагах і регулювати склад мікробіоти кишечника мишей. Крім того, PTS-PTSO посилювали експресію антиоксидантних білків, пов'язаних з активацією транскрипційного фактора *Nrf2* як у неінфікованих, так і в інфікованих мишей. Ці результати демонструють, що PTS-PTSO мають сильні антиоксидантні властивості, опосередковані *Nrf2*, можуть захищати організм хазяїна від кишкової інфекції. Результати таких досліджень допомагають розробляти дієтичні добавки на основі часнику або споріднених біологічно активних сполук, для підвищення стійкості організму до кишкових захворювань [201].

Окрім того, в сечі після вживання часнику були виявлені N-ацетил-S-(2-карбоксіпропіл)-цистеїн, N-ацетил-L-цистеїн, N-ацетил-S-цистеїн-аліл і гексагідрогіпурова кислота [74].

Потенційними імуномодуляторами серед аліфатичних похідних амінокислот є N-пальмітоїл-L-цистеїн та N-пальмітоїл-S-[1,2-біс(гексадецилоксикарбоніл)-етил]-L-цистеїн, метиловий естер N-пальмітоїл-S-[1,2-біс(гексадецилоксикарбоніл)етил]-L-цистеїніл-L-серин та N-пальмітоїл-S-[1,2-біс-гексадецилоксикарбоніл)етил]-L-цистеїніл-L-серил-L-серин. N,S-добензоїлцистеїн включено до банку потенційних антипухлинних речовин. Отже, таке поєднання привело до посилення певних видів біологічних активностей. Також, прикладом таких поєднань є сполуки, які об'єднують в одній молекулі нітрогеновмісні гетероцикли та цистеїн [241].

Відомо, що жиророзчинні сульфуровмісні сполуки токсичніші, ніж розчинні у воді [143]. Диалілсульфід, диалілдисульфід та диалілтрисульфід — основні біологічно активні сполуки, що містяться у екстракті часнику, викликають алергічні реакції при контакті зі шкірою [143].

У ході наукових досліджень спеціальної уваги було приділено аналізу біологічної активності синтетичних сульфуровмісних органічних сполук, зокрема тіосульфокислот та їх похідних. Ці речовини володіють потенціалом для різноманітних впливів в організмі, зокрема, участь у азотистому обміні та синтезі різних біологічно важливих компонентів (протеїнів, ензимів, гормонів тощо). Активність тіосульфоестерів у біологічних системах полягає в порушенні метаболічних процесів у мікроорганізмів, таких як ензиматична активність, порушення дихання та поділ клітин, пригнічення біосинтезу різних клітинних компонентів. Це можливо завдяки їхній здатності блокувати нуклеофільні фрагменти клітин мікроорганізмів, зокрема через сульфенілюючі властивості тіосульфоестерів [10].

Взаємозв'язок між структурою та біологічною активністю тіосульфоестерів визначається природою замісників у сульфонільному та тіольному фрагментах [10]. Радикали, приєднані до бензентіосульфокислоти, впливають на реакційність та антимікробну активність тіосульфоестерів, наприклад, метоксигрупи у пара-положенні арилсульфонільного фрагмента збільшують індекс біологічної дії, а при введенні хлору - стабілізують цей індекс [202]. Введення в це положення вільної аміногрупи сприяє підвищенню індексу біологічної дії порівняно з аналогічним естером 4-ацетиламінобензентіосульфокислоти, але також частково збільшує його дозу смертельної дії [202].

Отже, зв'язок між будовою та біологічною активністю тіосульфоестерів дозволяє розробляти нові біологічно активні сполуки з певними властивостями. Дослідження біологічної активності синтезованих похідних тіосульфокислот має важливе значення для визначення можливих застосувань цих сполук [10]. S-естери тіосульфокислот володіють високою протимікробною активністю та високою стійкістю в порівнянні з їхніми структурними аналогами — естерами тіосульфінних кислот [55, 203].

Було проведено перші стадії експериментальних випробувань, щоб дослідити біологічну активність синтезованих S-естерів тіосульфокислот, які

містять 3,4-дизаміщений бензольний фрагмент [204]. Дослідження антимікробної активності S-естерів проводилося із застосуванням методу дифузії з використанням дисків для попереднього відбору ефективних препаратів і визначенням ефективних концентрацій цих препаратів за допомогою методу серійних розведень. [236]. Результати показали, що всі досліджувані сполуки, за винятком окремих сполук, володіють фунгібактерицидними властивостями [204]. Тому було проведено подальші дослідження фунгібактерицидної активності синтетичних тіосульфоестерів [194, 225, 227], які підтвердили високу активність алкілових естерів тіосульфоїкислот по відношенню до штамів тест-мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (F-49), *Staphylococcus epidermidis*, *Corynebacterium xerosis* NCTC 12078, *Klebsiella pneumoniae* 43, *Bacillus licheniformis* C, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATC 27853 (F-51), *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus lysodeikticus* AC 634, *Candida albicans* ATCC 885-653. Зокрема, до метилового естеру 4-фталімідометилбензен-тіосульфоїкислоти досліджувані тікроорганізми проявили вищу чутливість ніж до гетероциклічних естерів 4-фталімідометилбензен-тіосульфоїкислоти [33, 10, 226]

Експериментальними дослідженнями показано, що тіосульфоестери діють ефективно проти збудника пневмонії *Klebsiella pneumoniae* навіть у низьких концентраціях [226]. Виявлено, що всі вивчені тіосульфоонати проявляють високу активність у боротьбі з бактеріями та грибками. Цікаво, що експерименти з протимікробною активністю S-естерів 4-ацетиламінометилбензен-тіосульфоїкислоти показали, що ефективна дія речовини залежить від довжини алкілтіольного фрагменту, зокрема подовження алкільної тіольної складової призводить до посилення її дії [10, 111].

Тіосульфонати можуть мати потенціал для подальшого розвитку як можливі агенти для антивірусної терапії або в якості бази для створення нових препаратів для боротьби з вірусами. Вірусні інфекції (грип, ковід, ентеровірусні захворювання, герпетичні інфекції та інші) можуть тимчасово обмежувати

працездатність [239], а також можуть уражувати рослини і впливати на врожайність [236]. Антивірусні властивості тіосульфонатів досліджують у контексті їх здатності запобігати розмноженню та поширенню вірусів, а також їхній можливості пригнічувати вірусну активність у клітинах, адже незважаючи на багаторічний інтенсивний пошук антивірусних препаратів ця проблема є актуальною досі [239]. Тіосульфонати можуть мати потенціал для подальшого розвитку як можливі агенти для антивірусної терапії або в якості бази для створення нових препаратів для боротьби з вірусами. На базі Інституту іммунології та експериментальної терапії Польської академії наук (Польща) було проведено дослідження антивірусної активності *in vitro* ряду новосинтезованих тіосульфоестерів і встановлено виражену активність по відношенню до вірусу герпесу другого типу (HHV-2) алілового естеру 2-(карбамоїламіно)-1H-бензімідазол-6-ілтіосульфоїкислоти (рис. 1.12, А); щодо вірусу везикулярного стоматиту (VSV) — метилового S-естеру 4-амінобензентіосульфоїкислоти (рис. 1.12., Б) та піридинметилового S-естеру 4-амінобензентіосульфоїкислоти (рис. 1.12., В) [226].

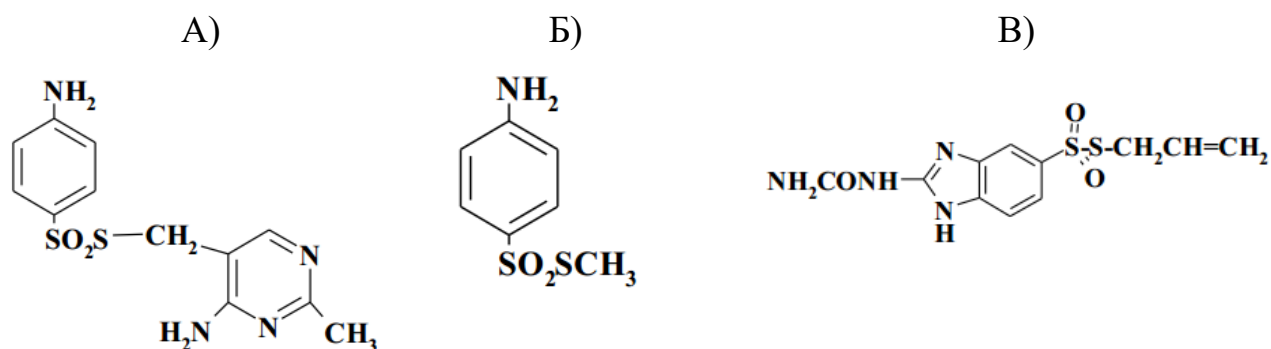


Рис. 1.12 Структурні формули тіосульфоестерів: А) аліловий естер 2-(карбамоїламіно)-1H-бензімідазол-6-ілтіосульфоїкислоти; Б) метиловий S-естер 4-амінобензентіосульфоїкислоти; В) піридинметиловий S-естер 4-амінобензентіосульфоїкислоти .

Отримані дані про активність досліджуваних тіосульфоестерів щодо вірусів відповідають результатам дослідження токсичності цих речовин [226].

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Схема дисертаційних досліджень

Експериментальна частина дисертаційної роботи складалася з трьох етапів експериментальних досліджень.

На першому етапі досліджень, який проходив на базі кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету "Львівська політехніка", визначали радикалпоглинаючу та антиоксидантну активності новосинтезованих тіосульфонатів, з метою з'ясувати найперспективніші сполуки із ряду алкілових естерів 4-амінобензентіосульфоїкислоти: S-метил-4-амінобензентіосульфонат (МТС), S-етил-4-амінобензентіосульфонат (ЕТС), S-аліл-4-амінобензентіосульфонат (АТС), S-пропіл-4-амінобензентіосульфонат (ПТС) і S-аліл-4-ацетиламінобензентіосульфонат (ААТС) в досліджах *in vitro*. Для цього проводили взаємодію досліджуваних сполук із стабільним вільним радикалом 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразином (ДФПГ). Також здійснено експериментальні дослідження антимікробної активності новосинтезованих S-алкілових- і S-алілового естерів 4-амінобензентіосульфоїкислоти та S-алілового естеру 4-ацетиламіно- бензентіосульфоїкислоти методом дисків та серійних розведень.

Тому в досліджах *in vivo*, які виконувалися при лабораторії біохімії адаптації та онтогенезу тварин Інституту біології тварин НААН, на другому та третьому етапах досліджень були використані сполуки ЕТС, АТС, ААТС, які проявили найвищі показники активності. Досліджували вплив ЕТС, АТС, ААТС на систему антиоксидантного захисту та метаболічні процеси в організмі тварин. Загальна схема досліджень представлена на рис. 2.1.

Експерименти на тваринах проводили згідно із законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 26.02.2006р. та «Загальними принципами роботи на тваринах», затвердженими I Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001), що погоджені з положеннями «Європейської

конвенції із захисту хребетних тварин, які використовують в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, Франція, 1985). Дослідження погодженні комісією з біоетики Інституту біології тварин НААН (протокол №82 від 20 грудня 2019р.).

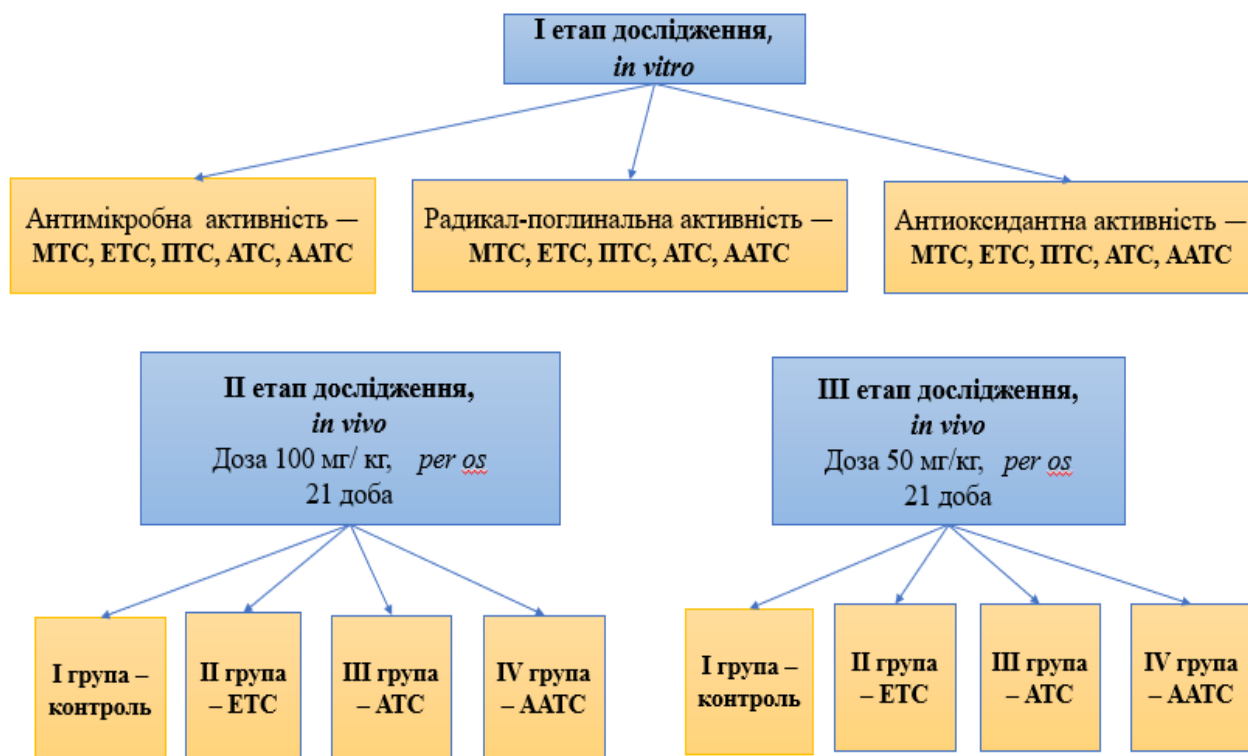


Рис. 2.1. Загальна схема дослідження.

Досліди проведені у віварії Інституту біології тварин НААН на білих лабораторних щурах лінії Вістар масою тіла від 180 до 220 г. Під час експерименту тварини утримувались у стандартних умовах віварію за постійного температурного режиму режиму ($24\pm 1^\circ\text{C}$), вологості ($45\pm 5\%$) та освітлення, з підтриманням годівельного та питного режиму на рівні, рекомендованому нормами утримання лабораторних тварин [216]. Тварини мали вільний доступ до комбікорму та води (з розрахунку 25 г корму, 20 мл води на одного щура на добу). Кількість спожитого комбікорму визначали за його залишком у годівниці. Стандартний повноцінний гранульований комбікорм для лабораторних щурів забезпечував повноцінне харчування тварин, виготовлений за науково-обґрунтованим рецептом ПК 121-7 (Наказ №1179, від 10.10.1983 «Про затвердження нормативів затрат кормів для

лабораторних тварин у закладах охорони здоров'я). Раціон був обезжирений та збалансований по білках (не менше 8% сирого протеїну) і вуглеводах (не більше 30% сирої клітковини), вітамінах, мінералах. Контроль за ростом і розвитком тварин проводили шляхом зважування їх на початку, впродовж та в кінці досліду. Всі щури були клінічно здорові.

В адаптаційний період щурів, протягом 5-ти днів перед дослідом, експериментальним методом визначили кількість корму, який щурі споживають за добу. Щурі були розміщені по одному в клітку і щоранку в годівничку отримували 25 г комбікорму. Проводили контроль за спожитим кормом двічі на добу. Раз у три дні щурів зважували і робили корекцію раціону відносно їхньої ваги, з метою отримання однакової дози досліджуваних сполук на кг маси тіла протягом всього 21-добового періоду досліджень.

Опираючись на літературні дані [1, 182] та результати попередніх досліджень лабораторії біохімії адаптації та онтогенезу тварин Інституту біології тварин НААН [82, 108, 153, 215], визначено тривалість та дві дози тіосульфонатів, які мають вплив на організм тварин та не викликають звикання або токсичних змін.

На другому етапі досліджень вивчали біологічну дію тіосульфонатів у дозі 100 мг/кг маси тіла на показники системи антиоксидантного захисту, ПОЛ та білкового і ліпідного обміну. Лабораторні щурі були поділені на чотири групи по 5 тварин у кожній: I — контрольна, II, III, IV — дослідні. Тваринам контрольної групи одноразово щодоби до корму додавали 0,5 см³ олії. Тваринам дослідних груп до корму додавали по 0,5 см³ олійних розчинів естерів тіосульфонатів, з розрахунку 20 мг/добу на щура вагою 200 г, зокрема II групі — ЕТС; III — АТС; IV — ААТС. Для приготування олійних розчинів синтезованих сполук, використовували олію марки «Олейна» (традиційна рафінована, дезодорована, виморожена; виробник ПрАТ з П «ДООЗ»; сертифіковано згідно зі стандартом ДСТУ 4492:2017 та відповідно до вимог ISO 14024, див. додаток 1). Згідно кодексу Аліментаріус (Codex Standard for Named Vegetable Oils) вміст насичених жирних кислот в олії — 11 г на 100 г

продукту, мононенасичених — 29 г, поліненасичених (лінолевої кислоти) — 6 г, вітаміну Е — 440-1520 мг/кг.

Третій етап дослідження базувався на вивченні впливу тіосульфонатів у меншій дозі – 50 мг/кг на показники системи антиоксидантного захисту, ПОЛ та білкового і ліпідного обміну в організмі тварин. Аналогічно до другого етапу дослідження протягом 21 доби тварини I групи (контроль) споживали корм, до якого щодоби одноразово додавали 0,5 см³ олії, а тваринам дослідних груп додавали 0,5 мл олійного розчину сульфоестерів з розрахунку 10 мг/добу на щура вагою 200 г, причому тваринам II групи додавали — ЕТС; тварини III групи — АТС; тварини IV групи — ААТС. Вибірка становила 5 тварин у кожній групі.

На 22-у добу другого та третього етапів досліджень тварин виводили з експериментів шляхом декапітації після внутрішньовенного введення 2–2,5% розчину тіопенталу натрію для анестезії. Матеріалом для дослідження були кров тварин (використаний гепарин в якості антикоагулянта) та тканини: печінка, нирки, селезінка, скелетні м'язи та мозок.

2.2. Тіосульфонатні сполуки, які були використані у дослідженнях.

Як об'єкти досліджень використовували МТС, ЕТС, АТС, ПТС та ААТС. синтезовані на кафедрі технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету "Львівська політехніка". Протокол одержання, фізико-хімічні та деякі біологічні властивості зазначених тіосульфоестерів описані у роботах [107, 110, 231]. Структурні формули досліджуваних тіосульфонатів наведено на рис. 2.2.

Для дисертаційного дослідження алкілові естери тіосульфоєкислот (А-Д) були отримані згідно схеми рис 2.3. Цільові сполуки отримуються з високим ступенем чистоти і не потребують додаткового очищення. Вихідними сполуками для їх синтезу є відповідні сульфохлориди. Окисно-відновною реакцією сульфохлоридів з розчином натрій сульфіді одержані солі натрій 4-

карбметоксиамінобензен- та 4-ацетиламінобензентіосульфокислот. Шляхом деацилювання водним розчином натрій гідроксиду солі перетворювали в 4-амінобензентіосульфонат натрію. S-алкільні естери 4-амінобензен- та 4-ацетиламінобензентіосульфокислот (А-Д) отримували у водно-ацетоновому середовищі алкілюванням галогеноалкілами натієвих солей 4-амінобензен- і 4-ацетиламінобензентіосульфокислот [110].

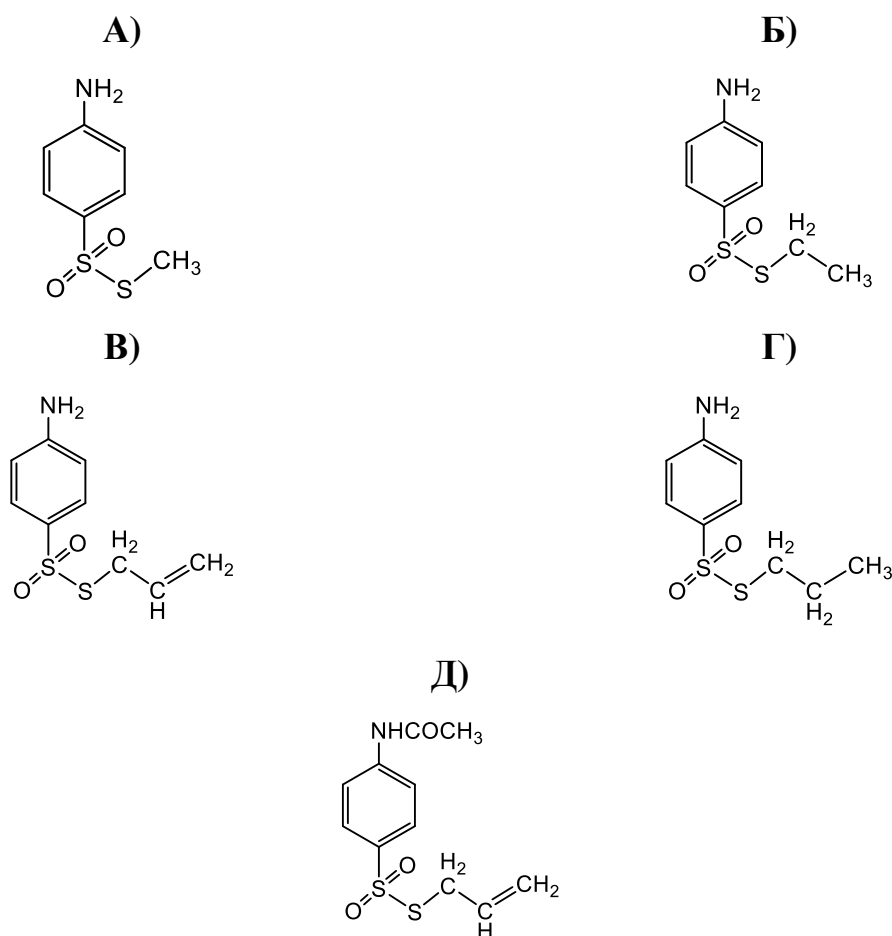


Рис 2.2. Структурні формули тіосульфонатів:

А) МТС; **Б)** ЕТС; **В)** АТС; **Г)** ПТС; **Д)** ААТС.

Синтез тіосульфонатних об'єктів дослідження здійснюється за схемою, представленою на рис. 2.3.

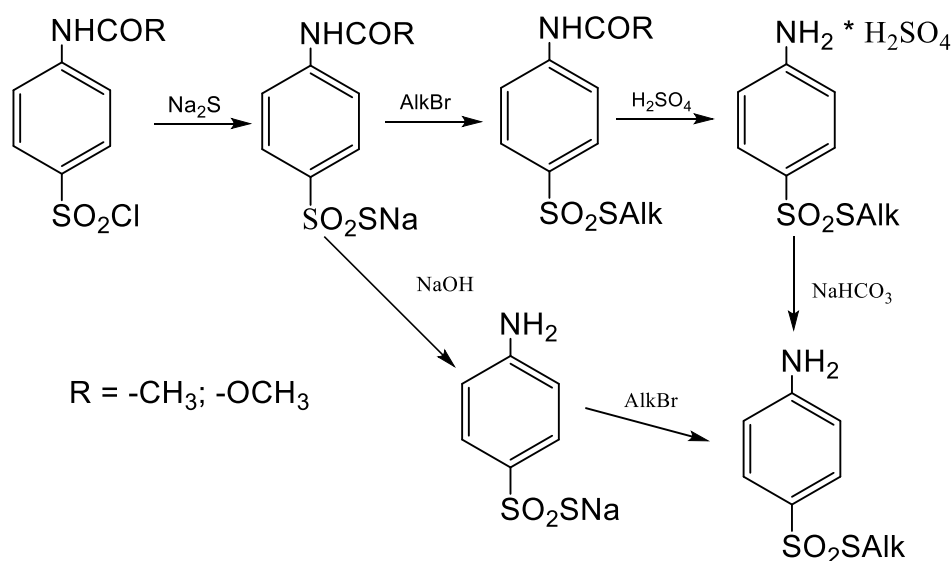


Рис. 2.3. Схема синтезу тіосульфонатів — МТС, ЕТС, АТС, ПТС, ААТС.

Тіосульфонати зберігались у сухому місці, де немає доступу світла, при температурі від 0°C до 25°C і не більше ніж 85% вологості повітря.

Суттєвий вплив на біологічну активність досліджуваних тіосульфонатів має структура замісників R і R¹ біля тіосульфонатного фрагменту RSO₂SR¹. Сполуки з алільною групою часто зустрічаються в природі в рослинах, зокрема свою назву аліцин CH₂=CH-CH₂-SOS-CH₂-CH=CH₂ отримав від латинської назви часнику — *Allium sativum*. Структура, кількість та розташування радикалів у фрагменті арилсульфонану впливають на стійкість [227] та біологічну активність [110] тіосульфоестерів, зокрема введення аміно- або ацетиламіногрупи розширює їхні можливості в антимікробній дії [218].

2.3. Приготування матеріалу для досліджень

Лізати еритроцитів та плазма. Після декапітації тварин, відбирали цільну кров у пробірки з антикоагулянтом (1% розчин гепарину). Відокремлення еритроцитів від плазми проводили за допомогою центрифугування у рефрижераторній центрифугі (центрифуга MLWT23D, ротор кутовий — РК 8×90) при 3500 об/хв протягом 15 хв. Отриману плазму зливали в іншу пробірку

і використовували у експериментах [207, 212]. Еритроцити тричі промивали охолодженим фізіологічним розчином (0,9% розчин NaCl) , після чого центрифугували. (3500 об/хв протягом 15 хв). Для приготування гемолізатів до 1 мл еритроцитарної маси додавали 10 мл дистильованої води, збовтували і центрифугували при 4000 об/хв. Отриманий супернатант використовували для подальших еспериментальних досліджень [212].

Для отримання сироватки, цільну кров відбирали у скляні пробірки без антикоагулянта, закривали їх та залишали у термостаті до повного відділення сироватки. Після цього проводили центрифугування при 2000 об/хв протягом 15 хвилин [207].

Гомогенати тканин

Виділені тканини (печінку, селезінку, нирки, скелетні м'язи, мозок) зберігали на холоді, після чого промивали охолодженим розчином NaCl для видалення крові. Потім тканини (масою 1 г) перетворювали на однорідну масу у скляному герметичному циліндрі (стакані) гомогенізатора з тефлоновим пестиком (МРТУ — 421505-63) з використанням охолодженого 5 мМ тріс-НСІ буферу (рН 7,4). Отриманий тканинний гомогенат, після фільтрування, центрифугували при 3000 об/хв протягом 10 хв ($t=0\pm 2^{\circ}\text{C}$), щоб видалити зайві клітини та ядра та отримати цільну фракцію. Надосадова рідина використовувалася для досліджень [212].

В отриманих зразках крові та тканин вимірювали показники, які є маркерами пероксидного окиснення ліпідів, зокрема - рівень гідропероксидів ліпідів і ТБК-позитивних продуктів, а також оцінювали стан системи антиоксидантного захисту за показниками активності ензимів, таких як супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза, а також вмісту відновленого глутатіону. Кількість протеїну в кожному зразку визначали методом Лоурі. Також аналізували окремі показники протеїнового та ліпідного обмінів в сироватці крові тварин.

2.4. Застосовані методи досліджень

2.4.1. Визначення антимікробної активності методом дифузії в агарі

Антимікробну активність вивчали за допомогою методу дифузії речовини в агарі [106] на твердому поживному середовищі (м'ясо-пептонний агар (МПА) для бактерій, сусло-агар (СА) для грибів). В чашки Петрі розливали по 20 мл поживного агаризованого середовища. Суспензію культури мікроорганізмів (мікробне навантаження якого становить 10^9 клітин (або спор) на 1 мл) засівали на поверхню застиглої агарової пластинки. Приготовані диски фільтрувального паперу Whatman № 1 (діаметром 6 мм), які просочені досліджуваною сполукою (0,1 – 10 мг/мл), розкладали на засіяне агаризоване середовище і чашки ставили на інкубацію в термостат. Тривалість інкубації бактерій становила 24 год при 35°C , грибів 48-72 год. при $28-30^{\circ}\text{C}$.

Антимікробну активність та ступінь чутливості тест-мікроорганізмів до дії досліджуваних сполук оцінювали шляхом вимірювання діаметрів зон затримки росту мікроорганізмів і порівнювали результати з показниками дії відомих препаратів. Кожен експеримент повторювали тричі. У дослідженнях були використані штами бактерій та грибів, що зберігаються і підтримуються у лабораторії культур мікроорганізмів Львівського національного університету ім. Івана Франка: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Aspergillus niger*, *Candida tenuis*. Ступінь чутливості мікроорганізмів до розчинів тіосульфатів визначали, користувалися даними таблиці 2.1, вважаючи, що при діаметрі 11-15 мм мікроорганізм малочутливий до препарату, при 16-25 мм – чутливий та при > 25 мм – високочутливий.

Таблиця 2.1.

Параметри оцінки результатів за методом дифузії сполук в агарі.

Діаметр зони пригнічення росту мікроорганізму, мм	Ступінь чутливості мікроорганізмів
11 – 15	Малочутливі
16 – 25	Чутливий
> 25	Високочутливий

2.4.2. *Визначення мінімальної інгібуючої (МІК) та мінімальної бактерицидної концентрації (МБК) або мінімальної фунгіцидної концентрації (МФК) методом серійних розведень.*

Мінімальну інгібуючу (МІК), бактерицидну (МБК) і фунгіцидну (МФК) концентрації визначали методом серійних розведень речовин в рідкому поживному середовищі (м'ясо-пептонний бульйон для бактерій та неохмелене пивне сушло 6-8⁰Б для грибів) в межах 0,1 - 10,0 мг/мл.

Для створення початкового розчину з концентрацією 0,1 г/мл речовини використовували диметилсульфоксид (ДМСО). Подальші розведення проводили за допомогою фізіологічного розчину. Використовували поживне середовище для вирощування бактерій і грибів, вносячи певну кількість мікроорганізмів. Потім стежили за їхнім ростом у спеціальних умовах температури протягом 24-72 годин, спостерігаючи за змінами. Результати оцінювали за наявністю або відсутністю зростання мікроорганізмів, порівнюючи із "негативним контролем". Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) сполуки визначалась як найменша концентрація, яка пригнічує видимий ріст мікроорганізмів у рідинному середовищі. Цей тест проводили тричі для підтвердження результатів.

Для визначення мінімальної концентрації речовин, яка пригнічує ріст мікроорганізмів, брали по 0,02 мл розчину з пробірок, у яких середовище було прозорим за зовнішнім виглядом, і наносили його на стерильні чашки Петрі, які ставили на інкубацію в термостат при відповідних температурних умовах — на 24 години для бактерій і 48-72 годин для грибів. Після цього оцінювали

наявність чи відсутність росту колоній мікроорганізмів на цих чашках. Відсутність росту вказувало на мінімальну бактерицидну чи фунгіцидну концентрацію досліджуваної речовини. Експеримент повторювали тричі для підтвердження результатів [110].

2.4.3. Визначення радикалпоглинаючої дії естерів тіосульфонатів із стабільним вільним радикалом 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразином (ДФПГ) в досліджах in vitro.

Для визначення в досліджах *in vitro* радикалпоглинаючої та антиоксидантної дій проводили взаємодію досліджуваних сполук із стабільним вільним радикалом 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразином (ДФПГ). В результаті знешкодження вільних радикалів тіосульфонатами спостерігається знебарвлення вихідного розчину ДФПГ, що фіксується спектрофотометрично [130].

Змішували 1,5 мл розчину ДФПГ в етанолі з концентрацією 4,0 мг/100 мл та 0,5 мл досліджуваного зразка (0,1 М етанольний розчин відповідного тіосульфонату). Після змішування проби, її залишали стояти у темряві протягом 30 хвилин. Для приготування контрольної проби проводили змішування 0,5 мл етанолу та 1,5 мл робочого розчину ДФПГ. Потім вимірювали, як проба поглинає світло при певній довжині хвилі за допомогою спектрофотометра Ulab 108UV при довжині хвилі 517 нм. Експеримент проводили тричі.

Визначення радикалпоглинальної активності проводили за формулою:

$$\text{РПА}(\%) = 100 \cdot (A_0 - A_1)/A_0$$

де A_0 - оптична густина контрольного зразка;

A_1 - оптична густина розчину досліджуваного зразка;

Для одержання значення ефективної концентрації EK_{50} (концентрація розчину антиоксиданта, що спричиняє 50% втрати активності ДФПГ), готували серію розбавлень вихідного розчину зразка відповідного тіосульфонату.

Антирадикальну активність досліджуваних розчинів тіосульфонатів розраховували за наступною формулою:

$$ARA = 1/EK_{50}$$

Тіосульфонати з найвищим значенням радикалпоглинаючої активності досліджували *in vivo* на лабораторних тваринах.

2.4.4. Визначення вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів.

Гідропероксиди ліпідів [211].

Тканини видалялися обережно, щоб уникнути пошкодження зразка внаслідок розчавлення або розриву. Забір тканин та виготовлення проб для екстрагування проводили при $t < 4^{\circ}\text{C}$. До 0,2 мл гомогенату/плазми додавали 2,8 мл етанолу і 0,05 мл 50% розчину трихлорооцтової кислоти. Пробірку щільно закривали ковпачком і струшували (за допомогою лабораторного струшувача) протягом 5–6 хвилин. Сформований протеїновий осад відокремлювали центрифугуванням при 3000 об/хв протягом 10 хвилин. Отриманий супернатант це етанольним екстрактом ліпідів саме він використовувався для визначення гідропероксидів ліпідів.

Після цього до 1,5 мл супернатанту додавали 1,2 мл етанолу, 0,02 мл концентрованої HCl , 0,03 мл 1% розчину солі Мора в 3% розчині HCl , струшували і через 30 секунд додавали 0,2 мл 20% розчину тіоціанату амонію. Спостерігали утворення малинового забарвлення. Наступним етапом вимірювання була фіксація оптичної щільності проводять протягом 10 хвилин після додавання тіоціанату амонію на спектрофотометрі при довжині хвилі $\lambda=480$ нм.

Вміст гомогенату ліпідів (ГПЛ) визначали відмінністю між дослідним зразком і контролем, де замість гомогенату/плазми вводили відповідну кількість (0,2 мл) бідистильованої води. Результат виражають у ОДЕ/мл. Вміст гідропероксидів ліпідів розраховують за наступною формулою:

$$D_{480} (\text{дослід}) - D_{480} (\text{контроль}) = \Delta D_{480} (\text{гідропероксидів ліпідів}).$$

ТБК-позитивні продукти [207]. Метод базується на стимулюванні перекисних ліпідів (ПОЛ) іонами двовалентного заліза до рівня, який можна виміряти спектрофотометрично. Під час нагрівання в кислому середовищі частина продуктів перекисних ліпідів, що відносяться до класу ендпероксидів, розкладається з утворенням малондіальдегіду (МДА). Молекули МДА взаємодіють з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК), що призводить до утворення кольорового комплексу.

До 0,2 мл плазми крові або 1 мл гомогенату тканини додають 5 мл або 4,5 мл 20% фосфорно-вольфрамової кислоти, вставляють пробірки з корками, перемішують вміст і залишають на холоді протягом 15 хвилин. Охолоджену суміш центрифугують при температурі $+4^{\circ}\text{C}$ протягом 15 хвилин при швидкості 3000 об/хв. Виливають надосадову рідину, а до осаду додають 2 мл води і 1 мл 0,8% розчину 2-тіобарбітурової кислоти. Перемішують, закривають корками та інкубують на водяній бані протягом однієї години при 100°C . Після цього охолоджують водопровідною водою і центрифугують протягом 10 хвилин при швидкості 5000 об/хв. Вимірюють оптичну щільність при довжині хвилі 535 нм і 580 нм, щоб уникнути поглиблення забарвлених комплексів ТБК-речовин неліпідного характеру. Результат виражають у наномолях на мілілітр (нмоль/мл) [207].

Вміст ТБК-позитивних продуктів розраховували за формулою:

$$C = 0,21 + 26,5 \cdot \Delta D,$$

де C — концентрація ТБК-позитивних продуктів;

ΔD — показник $D_{535} - D_{580}$ в надосадовій рідині;

2.4.5. Визначення показників системи антиоксидантного захисту.

Супероксиддисмутазна активність (СОД; КФ 1.1.15.1) [235].

Хоча супероксид-аніон є слабким окиснювачем, він у кінцевому підсумку виробляє потужні та небезпечні гідроксильні радикали, а також синглетний кисень, обидва з яких сприяють окиснювальному стресу. Супероксидні аніон-радикали утворюються в 3,0 мл трис-НСІ буфера (16 мМ, рН 8,0), що містить 0,5 мл нітросинього тетразолію (НБТ) (0,3 мМ), 0,5 мл розчину НАДН (0,936 мМ), 1,0 мл екстракту і 0,5 мл трис-НСІ буфера (16 мМ, рН 8,0).

Реакцію ініціювали додаванням 0,55 мл розчину феназинметосульфату (ФМС) і 300 мг 0,15 М фосфатного буферу, рН-7,8, додавали 0,1 мл супернатанту та 0,1 мл розчину 1 мМ НАДН у трис-ЕДТА буфері (рН 8,0) та інкубували за кімнатної температури, інкубують при 25°C протягом 5 хвилин, а потім вимірюють поглинання при 540 нм проти контрольної проби.

У контрольній пробі замість супернатанту вносили дистильовану воду. Відсоток блокування відновлення нітросинього тетразолію розраховували за формулою:

$$\% \text{ блокування} = \frac{E_{\text{к.пр.}} - E_{\text{д.пр.}}}{E_{\text{к.пр.}}} \cdot 100 \%$$

де $E_{\text{к.пр.}}$ — екстинкція контрольної проби;

$E_{\text{д.пр.}}$ — екстинкція дослідної проби.

Активність СОД виражали умовними одиницями, де 1 умовна одиниця дорівнювала 50% блокування реакції утворення нітроформазау на 1 мг протеїну. Перерахунок відсотка блокування реакції в міжнародних одиницях на 1 мг протеїну (мікромолі за 1 хвилину на 1 мг протеїну) проводили за допомогою калібрувальної кривої, побудованої для чистого кристалічного препарату супероксиддисмутази.

Каталазна активність (КАТ; КФ 1.11.1.6) [207]. Метод ґрунтується на тому, що перекис водню (H_2O_2) утворює стійкий забарвлений комплекс з солями молібдену. Інтенсивність цього забарвлення залежить від кількості H_2O_2 у розчині, що відображає активність каталази в досліджуваній пробі. При визначенні активності каталази реакцію ініціюють, додаючи 0,1 мл гомогенату або гемолізату (розведеного у відношенні 1:10) до 2 мл 0,03% розчину H_2O_2 . Контрольна проба включає 1 мл 4% розчину молібдату амонію ($Mo(NH_4)_2$), 2 мл 0,03% розчину H_2O_2 , 1 мл 0,25 н H_2SO_4 та 0,1 мл гомогенату або лізату. Реакцію у дослідній пробі зупиняють через 10 хв, додаючи 1 мл 0,25 н H_2SO_4 та 1 мл 4% розчину $Mo(NH_4)_2$, який підготовлений на 0,025 н H_2SO_4 . Проби центрифугують 10 хв при 10000 об/хв. Кількість утвореного забарвленого комплексу визначають фотометрично при довжині хвилі 410 нм. Активність каталази обчислюють за спеціальною формулою.

$$A = (\Delta E \cdot V \cdot n) / (\varepsilon \cdot C \cdot t \cdot \alpha \cdot l),$$

де ΔE — значення екстинкцій контрольної і дослідної проб відповідно;

V — загальний об'єм суміші в кюветі, мл;

n — розведення (100 разів);

ε — мілімолярний коефіцієнт екстинкції ($22200 M^{-1} cm^{-1}$, або $22,2 cm^2/mkmoles$);

C — концентрація протеїну, мг/мл;

t — час проведення реакції, 10 хв; α — об'єм зразка, мл;

l — довжина оптичного шляху, 1 см.

Активність каталази виражали у ммоль H_2O_2 хв · мг протеїну.

Глутатіонпероксидазна активність (ГП; КФ. 1.11.1.9). [235].

Активність ензиму вимірювали, спостерігаючи за швидкістю окиснення відновленого глутатіону в присутності третинного бутильного гідроперексиду. Концентрацію відновленого глутатіону до і після інкубації визначали колориметрично. Реакція ґрунтується на взаємодії SH-груп з реактивом Елмана утворенням тіонітрофенільного аніону, що дає забарвлений

продукт. Кількість цього продукту пропорційна кількості SH-груп, які взаємодіють з реактивом Елмана.

Для визначення активності глутатіонпероксидази 0,1 мл гемолізату еритроцитів (або 0,2 мл гомогенату) інкубували з буфером (0,1 М трис-НСІ, 6 мМ ЕДТА, 12 мМ NaN₃, 4,8 мМ відновленого глутатіону) при рН 8,5 протягом 10 хвилин при 37 °С. До проби додавали 0,07 мл гідропероксиду третинного бутилу та інкубували 5 хвилин. Реакцію зупиняли додаванням 0,2 мл охолодженої 20% трихлорооцтової кислоти (ТХО).

Контрольну пробу готували за аналогічною схемою, але осадження протеїнів ТХО проводили без попередньої інкубації гемолізатів з трис-НСІ буфером. Білки видаляли центрифугуванням. До супернатанту додають реактив Елмана та вимірюють екстинкцію при 412 нм через 5 хвилин.

Активність глутатіонпероксидази розраховується за відповідною формулою.

$$A = \frac{\Delta E \cdot P}{E_k \cdot t \cdot V \cdot C} ,$$

де ΔE — різниця екстинкції за час реакції;

P — розведення;

E_k — екстинкція контрольної проби;

t — час реакції (5 хв);

V — об'єм дослідного зразку в кюветі, мл;

C — концентрація протеїну, мг/мл.

Активність глутатіонпероксидази виражали у мкмоль GSH/хв \times мг протеїну.

Глутатіоредуктазна активність (ГР; КФ 1.6.4.2) [26].

Метод базується на каталітичній реакції відновлення окисненої форми глутатіону, яка відбувається за участю НАДФН, і її інтенсивність можна визначити за швидкістю зниження оптичної щільності при 340 нм. Експеримент проводили в термостатованій кюветі при температурі 37°С. Реакційне

середовище містило 2 мл 0,15 М фосфатного буфера (рН 7,4) + 0,2 мл ЕДТА + 0,5 мл окисненого глутатіону + 0,2 мл досліджуваного зразка + 0,1 мл 2 мМ НАДФН. Активність ензиму визначали за зменшенням концентрації НАДФН при 37°C протягом 10 хвилин за допомогою спектрофотометра при довжині хвилі 340 нм.

Активність глутатіонредуктази розраховували за визначенням зменшення вмісту НАДФН за вказаними умовами.

$$A = \frac{\Delta E \cdot V}{\varepsilon \cdot C \cdot t \cdot \alpha \cdot l} ,$$

де ΔE — різниця екстинкції за час реакції;

V — об'єм інкубаційного середовища;

ε — молярний коефіцієнт екстинкції для НАДФН, що дорівнює $6200 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$;

C — концентрація протеїну, мг/мл; (або на г, якщо тканина) оцінювали за калібрувальною кривою.

t — час реакції, хв.;

α — об'єм лізату, який вносили в кювету;

l — довжина оптичного шляху.

Активність ензиму виражали в мкмоль НАДФН/хв на мг протеїну

Вміст відновленого глутатіону (GSH) [72]

Метод полягає в визначенні рівня утворення тіонітрофенільного аніону під час реакції SH-груп глутатіону з 5,5'-дитіобіс-2-нітробензойною кислотою при довжині хвилі 412 нм. Для проведення реакції використовують осаджуючий реактив, який складається з льодяної метафосфорної кислоти, трилона Б, та хлориду натрію, а також 0,3М розчину Na_2HPO_4 в дистильованій воді та реактиву Елмана, який представляє собою 0,04% розчин 5,5'-дитіобіс-2-нітробензойної кислоти в 1% розчині 3-заміщеного цитрату натрію.

На першому етапі до дослідної проби додається гемолізат еритроцитів або гомогенат тканини разом із осаджуючим реактивом, після чого суміш витримується і центрифугується для отримання безпротеїнового фільтрату. На другому етапі дослідна проба містить центрифугат, який змішується з 0,3М розчином Na_2HPO_4 та реактивом Елмана, а контрольна проба складається з 0,3М розчину Na_2HPO_4 та реактиву Елмана. Після певного часу спектрофотометрують дослідну пробу в порівнянні з контрольною при 412 нм. Кількість відновленого глутатіону оцінюється за допомогою калібрувальної кривої та виражається в ммоль/л (або на г, якщо тканина) [72].

2.4.6. Визначення показників білкового обміну.

Визначення концентрації загального білка за методом Лоурі [105]. Метод базується на утворенні кольорових продуктів взаємодії ароматичних амінокислот з реактивом Фоліна у поєднанні з біуретовою реакцією на пептидні зв'язки протеїну. Для визначення загальної концентрації білка відбирали 0,01 мл плазми крові і доводили дистильованою водою до 4 мл. Для подальшого визначення концентрації білка відбирали 0,4 мл розведеної плазми і здійснювали вимірювання за допомогою стандартизованих наборів («SIMKO Ltd», Україна). До 0,4 мл розчину, який містить білки додавали 2 мл реактиву С (змішуючи 50 частин реактиву А (20 г Na_2CO_3 в 1 л 0,1н NaOH) та 1 частину реактиву В (10 г двозаміщеного виннокислого натрію (калію) ($\text{Na(K)C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \times 2\text{H}_2\text{O}$), 5 г мідного купоросу ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$) в 1 л дистильованої води). Після додавання 0,2 мл реактиву Фоліна пробірки залишали на 10 хвилин, щоб пройшла реакція, а потім проводили фотометричне вимірювання при довжині хвилі 750 нм. Концентрацію білка в пробі визначали за допомогою калібрувальної кривої. Результати виражали у мг білка на мл^{-1} зразка. Для визначення фракціонного складу білків використовували метод висхідного електрофорезу.

Визначення фракцій білків методом висхідного електрофорезу.

Дослідження вмісту окремих фракцій розчинних білків проводили методом вертикального електрофорезу в 7,5 % поліакриамідному гелі [87]. Для електрофорезу білків відбирали 0,04 мл розведеної плазми крові. Під час проходження проби білка через концентруючий гель подавали струм 220 V, 30mA. При проходженні проби білка через розділюючий гель подавали струм 220 V, 50 mA. Після електрофорезу електрофореграми фіксували в 10% розчині трихлороцтової кислоти, промивали дистильованою водою і забарвлювали розчином Кумасі G-250 (Serva, Швеція). Після фарбування фореграми відмивали від надлишку фарби 6 % розчином оцтової кислоти. Електрофореграми сканували (HP Scanjet G2710, Китай). Вміст білкових фракцій визначали за допомогою програми TotalLab TL120 (Nonlinear Dynamics Limited, Великобританія) і виражали у відсотках від загальної кількості ліпідів.

Визначення активності амінотрансфераз, лужної фосфатази, сечовини. Визначення активності аланінамінотрансферази (АлАТ, КФ 2.6.1.2), аспаратамінотрансферази (АсАТ, КФ 2.6.1.1), лужної фосфатази (ЛФ, КФ.3.1.3.1) та концентрації сечовини у плазмі крові проводили за допомогою стандартних біохімічних наборів, виготовлених фірмою “LACHEMA” (Чехія) на біохімічному аналізаторі «Humalizer-2000». Активності ензимів виражали у мккат/л, концентрацію сечовини — у ммоль/л.

2.4.7. Визначення показників ліпідного обміну.

Отримання загальних ліпідів. Плазму крові (1 мл) екстрагували сумішшю хлороформ–метанол у відношенні 2:1 (об/об) за методом Фолча [43].

Метод передбачає руйнування ліпідно-протеїнових комплексів метанолом, що дозволяє подальше виділення цих речовин за допомогою хлороформу. У пробірку з сироваткою крові додавали суміш хлороформу та метанолу (2:1) у співвідношенні 1:20, після чого струшували і залишали протягом 12 годин для відділення ліпідів. Потім цю суміш фільтрували і двічі промивали хлороформ-метаноловою сумішшю (8:4). Видаляли водорозчинні

неліпідні компоненти 0,74 М розчином KCl у кількості рівній 1/5 об'єму ліпідного екстракту. Отриманий ліпідний екстракт зберігали у пробірках з притертими корками. Для визначення загальних ліпідів використовують гравіметричний метод [238]. Отриманий ліпідний екстракт застосовували для кількісного визначення загальних ліпідів, фосфоліпідів, неестерифікованого і естерифікованого холестеролу, моно- і диацилгліцеролів, триацилгліцеролів та неестерифікованих жирних кислот (НЕЖК).

Гравіметричний метод визначення вмісту загальних ліпідів [207].

Визначення загальних ліпідів проводили за допомогою методу висушування та зважування, використовуючи концентровану H_2SO_4 як вологовловлювач в ексикаторі (гравіметричний метод). Зважування проводили на аналітичній вазі через 2 години після висушування та визначали вміст загальних ліпідів за формулою:

$$X = \frac{(A - B)}{C} \cdot 100 \%,$$

де А — маса бюкса з ліпідами, г;

В — маса бюкса без ліпідів, г;

С — маса дослідного матеріалу, мг.

Визначення фракційного складу ліпідів методом тонкошарової хроматографії [207]. Для розділення ліпідів на фракції застосовували метод тонкошарової хроматографії на основі силікагелю (силікагель L 5/40 μ , LSL 5/40 μ , Chemapol, Чехословаччина). Рухомою фазою в цьому процесі була суміш гексану, діетилового естеру і льодяної оцтової кислоти у співвідношенні 70:30:1 (об/об/об) [42]. Ліпіди на пластинках виявляли за допомогою кристалічного йоду, а їх ідентифікацію проводили на основі значень R_f . Пластинки сканували за допомогою сканера HP Scanjet G2710 (Китай). З метою кількісного аналізу та розрахунку вмісту різних класів ліпідів використовували комп'ютерну обробку фотографій за допомогою програми TotalLab TL120 від Nonlinear Dynamics Limited з Великобританії. Отримані результати виражали у відсотках від загальної кількості ліпідів.

Визначення концентрації холестеролу та триацилгліцеролів на біохімічному аналізаторі проводили на біохімічному аналізаторі «Humalizer-2000» з використанням стандартних біохімічних наборів, виготовлених фірмою “LACHEMA” (Чехія).

2.5. Статистична обробка результатів.

Результати досліджень обробляли статистично з вирахуванням середніх арифметичних величин (M), середньої квадратичної похибки (m), та стандартних похибок середнього арифметичного у вигляді ($M \pm m$) при $n = 5$. Статистичну обробку експериментальних даних проводили з використанням програмного пакета *Microsoft Excel* для Windows. Гіпотезу про нормальність розподілу перевіряли за допомогою критерія Шапіро-Уїлка. Для оцінки різниці між статистичними характеристиками двох груп даних використовували тест Тьюкі у однофакторному аналізі (ANOVA), де значущість вважали при $p \leq 0,05$.

Оцінку достовірності різниці між статистичними характеристиками двох порівнювальних сукупностей даних визначали за допомогою тесту Тьюкі однофакторного аналізу (ANOVA), де відмінності вважали достовірними при $p \leq 0,05$ [131]. Для кожного із параметрів визначали рівень достовірності, використовували три градації рівнів достовірності: * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$; *** – $p \leq 0,001$. Результати обробки представлені у вигляді діаграм та таблиць.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Дослідження антимікробної, радикалпоглинаючої та антиоксидантної активності естерів тіосульфокислот.

3.1.1. Визначення антимікробної активності естерів тіосульфокислот *in vitro*.

Пошук нових біологічно активних сполук з антимікробними властивостями є надзвичайно важливим завданням в галузі біології, медицини, фармації та ветеринарії, особливо в контексті постійного розвитку антибіотикорезистентності та виникнення нових захворювань. Природні тіосульфінати і тіосульфонати, зокрема екстракти рослин роду *Allium* здавна використовувалися для лікування бактеріальних інфекцій і були відомі своїми біологічно активними властивостями. Препарати часнику показали широкий спектр антибіотичної дії проти грампозитивних і грамнегативних бактерій [17]. Крім того, вони були визнані ефективними проти багатьох поширених патогенних кишкових бактерій, які викликали діарею у людей і тварин [5]. Синтетичні тіосульфонати, аналоги природніх фітонцидів, у багатьох експериментах також продемонстрували широкий спектр фунгіцидної та бактерицидної дії [110, 111].

Нами проведені дослідження антимікробних властивостей МТС, ЕТС, АТС, ПТС і ААТС. У дослідах *in vitro* за допомогою методу дифузії речовини в агарі встановлено, що всі досліджені тіосульфонати чинили бактерицидну дію щодо культур грам-позитивних бактерій *E. coli*, *S. aureus*, *M. luteum* та проявляли антигрибкову дію щодо *C. tenuis* та *A. niger* у досліджуваних концентраціях (табл. 3.1). Фунгібактерицидну дію досліджуваних сполук на ріст мікроорганізмів визначали за допомогою «методу дисків», спостерігаючи зону

інгібування їхнього росту навколо диску, а оцінювання її проводили за стандартною шкалою інгібування росту мікроорганізмів [194, 225, 232].

Таблиця 3.1

Фунгібактерицидна активність досліджуваних сполук (метод А)

Сполуки	Концентрація, %	Діаметр зон пригнічення росту мікроорганізмів, мм				
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>M. luteum</i>	<i>C. tenuis</i>	<i>A. niger</i>
ЕТС	0,5	17,7	22,0	29,4	63,0	34,0
	0,1	13,6	15,0	14,4	30,0	30,0
МТС	0,5	20,0	22,0	24,0	28,0	10,0
	0,1	11,0	10,0	16,0	7,0	0
АТС	0,5	15,4	15,4	23,4	21,4	21,0
	0,1	7,4	8,0	11,7	13,4	14,7
ПТС	0,5	н/а	н/а	н/а	н/а	30,0
	0,1	н/а	н/а	н/а	н/а	16,5
ААТС	0,5	17,4	16,4	20,0	19,0	21,4
	0,1	9,7	0	0	10,0	12,0

Бактерії *E. coli* та *S. aureus* проявляли високу чутливість до дії ЕТС, МТС, АТС, ААТС у концентрації 0,5%, про що свідчать діаметри (15,4 – 22,0 мм) зон пригнічення росту бактерій на чашках Петрі. Діаметри зон пригнічення росту бактерій за дії ЕТС, МТС, АТС у дозі 0,1% були значно меншими (7,4 - 10,0 мм), що свідчить про низьку бактерицидну активність щодо *E. coli* та *S. aureus* тіосульфонатів у даній концентрації. Високочутливими до дії ЕТС, МТС, АТС, ААТС у концентрації 0,5% виявилися *M. luteum* (діаметри зон пригнічення фіксувалися відповідно в розмірах 29,4; 24,0; 23,4; 20,0 мм). У нижчій концентрації (0,1%) досліджувані тіосульфонати чинили менший бактерицидний вплив на *M. luteum* (діаметри пригнічення росту становили 11,7 – 16,0 мм), а до дії ААТС бактерії *M. luteum* виявилися резистентними, як і до *S. aureus* (див. табл. 3.1).

Досліджувані мікроскопічні гриби виявилися високочутливими до впливу досліджуваних тіосульфонатів у концентрації 0,5%. Найбільшу фунгіцидну активність щодо грибів *C. tenuis* та *A. niger* проявляв ЕТС, про що свідчить діаметр зони пригнічення їх росту — 63,0 та 34,0 мм відповідно; за дії АТС - зона пригнічення росту *C. tenuis* становила 21,4 мм; за дії ААТС- 19,0 мм. Інгібування росту *A. niger* становило 14,7 мм за дії АТС та 12,0 мм — за дії ААТС. Фунгіцидну активність ЕТС, АТС, ААТС чинили і у меншій концентрації (0,1%). Зокрема, діаметр зон пригнічення росту *C. tenuis* та *A. niger* за дії ЕТС у концентрації 0,1% становив 30,0 мм (для обох грибів), АТС — 13,4 та 14,7 мм відповідно, ААТС — 10,0 та 12,0 мм відповідно. *A. niger* проявив високу чутливість до дії ПТС в обох концентраціях (див. табл. 3.1).

За результатами експериментальних досліджень антимікробної активності за допомогою методу серійних розведень встановлені кількісні показники дії досліджуваних речовин на бактерії, що підтверджують результати досліджень за допомогою методу А. Зокрема, для ЕТС показники МІК та МБК становили, відповідно, 15,6 та 62,0 мкг/мл при дії на культури *E. coli*, *S. aureus*, та 0,9 і 1,9 мкг/мл — на культуру мікобактерій *M. luteum* (табл. 3.2), що підтверджує високу чутливість досліджуваних бактерій до ЕТС у низьких концентраціях. Низькі показники МІК визначено для АТС при дії на культуру *E. coli* (31,2 мкг/мл), для ААТС — на культури *S. aureus* та *M. luteum* (31,2 та 1,9 мкг/мл відповідно). Причому показники МБК визначені для МТС, АТС, АТС, ААТС при дії на мікобактерії *M. luteum* були вдвічі нижчим (31,2 мкг/мл) ніж при дії на *E. coli* (62,5 мкг/мл, а ААТС — 125,0 мкг/мл). Бактеріоцидний ефект досліджуваних тіосульфонатів щодо культури бактерій *S. aureus* був різний, показники МБК варіювали в межах 15,6 – 62,5 мкг/мл (див. табл. 3.2)

Таблиця 3.2.

Показники МБК і МІК сполук методом серійних розведень

Код сполуки	Культури бактерій					
	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>M. luteum</i>	
	МІК, мкг/мл	МБК, мкг/мл	МІК, мкг/мл	МБК, мкг/мл	МІК мкг/мл	МБК мкг/мл
МТС	62,5	62,5	15,6	31,2	15,6	31,2
ЕТС	15,6	62,0	15,6	62,0	0,9	1,9
АТС	31,2	62,5	62,5	62,5	15,6	31,2
ПТС	62,5	62,5	15,6	15,6	15,6	31,2
ААТС	62,5	125,0	31,2	62,5	1,9	31,2

Найвищу фунгіцидну активність щодо дріжджоподібних грибів *C. tenuis* та цвілевого гриба *A. niger* продемонстрували ЕТС, АТС, ПТС (табл. 3.3), про що свідчать визначені методом серійних розведень показники МІК (1,9 – 3,9 мкг/мл проти *C. tenuis*; 7,8 мкг/мл — проти *A. niger*) та мінімальної фунгіцидної концентрації – МФК (3,9 – 7,8 мкг/мл проти *C. tenuis*; 15,6 мкг/мл — проти *A. niger*).

Таблиця 3.3.

Показники МІК і МФК сполук методом серійних розведень

Код сполуки	Культури грибів			
	<i>C. tenuis</i>		<i>A. niger</i>	
	МІК, мкг/мл	МФК, мкг/мл	МІК, мкг/мл	МФК, мкг/мл
МТС	7,8	31,2	15,6	31,2
ЕТС	1,9	3,9	7,8	15,6
АТС	3,9	7,8	7,8	15,6
ПТС	3,9	7,8	7,8	15,6
ААТС	7,8	15,6	15,6	31,2

Для МТС та ААТС антигрибкові властивості щодо *S. tenuis* спостерігалися в межах 7,8 (МІК) та 15,6 – 31,2 мкг/мл (МФК), щодо *A. niger* — 15,6 (МІК) та 31,2 мкг/мл (МФК).

Таким чином, одержані результати дозволяють характеризувати досліджувані тіосульфоестери як перспективні антимікробні речовини, що можуть бути перспективними для захисту кормів від контамінації їх грибами [111].

У той же час, підтверджуються результати попередніх досліджень [110], що введення ацильної групи в структуру естерів тіосульфоокислот дещо зменшує протимікробну активність алкілових естерів про що свідчить нижча антимікробна активність S-аліл-4-ацетиламінобензентіосульфонату (ААТС), порівняно з S-аліл-4-амінобензентіосульфонату АТС, але ААТС може бути менш токсичним, оскільки для ЕТС $LD_{50} = 2000$ мг/кг, а для АЕТС (S-етил-4-ацетиламінобензентіосульфонату) — $LD_{50} = 2500$ мг/кг [111]. Серед усіх досліджуваних сполук найвищий фунгібактерицидний ефект щодо використаних тест-культур мікроорганізмів встановлено для ЕТС та АТС.

3.1.2. Визначення радикалпоглинаючої та антиоксидантної дії естерів тіосульфоокислот методом ДФПГ в дослідях *in vitro*.

Для досліджень впливу новосинтезованих біологічно активних сполук на біохімічні процеси в організмі тварин, а також як потенційних сполук для захисту кормів від патогенів при їх виробництві та зберіганні, необхідно провести первинну оцінку антиоксидантних властивостей цих сполук у дослідях *in vitro*. З цією метою проведено визначення радикалпоглинаючої та антиоксидантної активності ряду алкілових естерів п-амінобензентіосульфоокислоти: МТС, ЕТС, АТС, S-пропіл-4-амінобензентіосульфонату (ПТС), ААТС в дослідях *in vitro*. Для цього проводили взаємодію досліджуваних сполук із стабільним вільним радикалом 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразином (ДФПГ). В результаті знешкодження вільних радикалів тіосульфонатами спостерігається знебарвлення вихідного розчину ДФПГ, що

фіксується спектрофотометрично. Для одержання значення ефективної концентрації EK_{50} (концентрація розчину антиоксиданта, що спричиняє 50% втрати активності ДФПГ), готували серію розбавлень вихідного розчину зразка відповідного тіосульфонату. Залежність відсотку інгібування ДФПГ від концентрації вище вказаних досліджуваних сполук, які проявили найвищу радикал-поглинальну дію, зображено на рис. 3.1, 3.2.

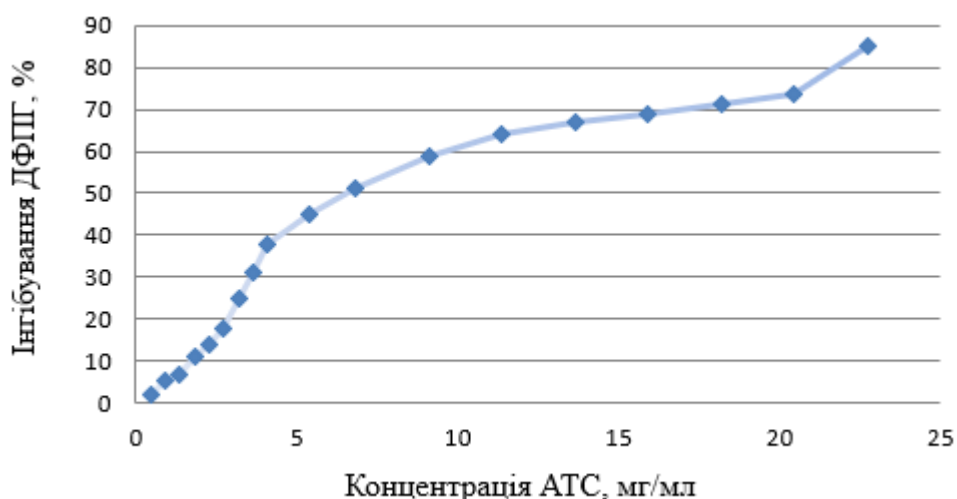


Рис. 3.1. Вплив концентрації АТС на відсоток інгібування ДФПГ.

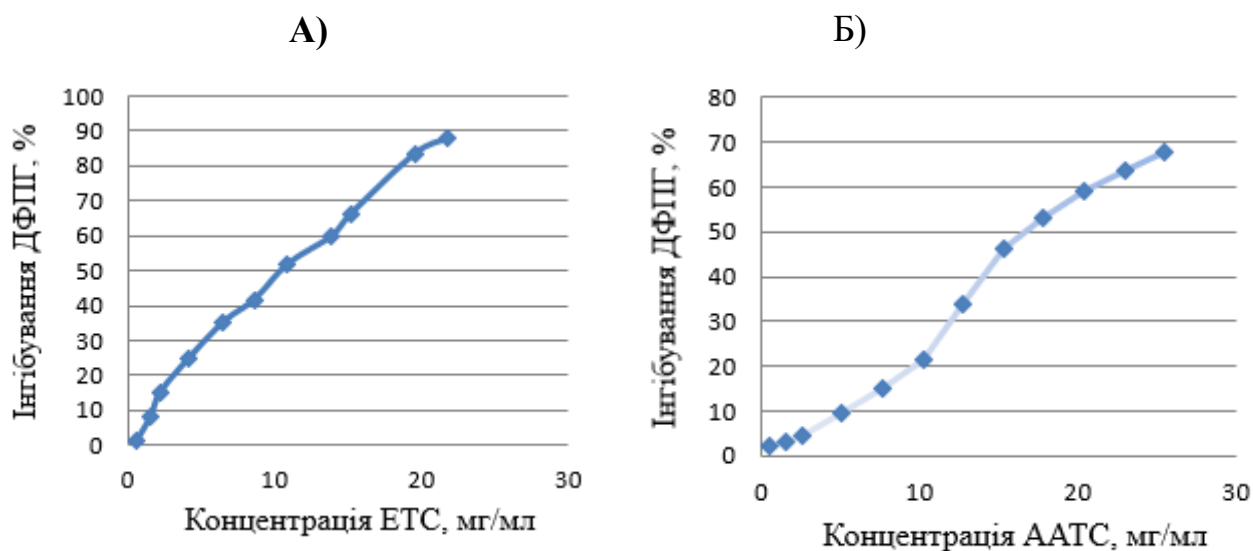


Рис. 3.2. Вплив концентрації ЕТС (А) та ААТС (Б) на відсоток інгібування ДФПГ.

Значення ефективної концентрації EK_{50} є величиною котра дозволяє порівнювати радикал-поглинаючі активності різних речовин. У нашому дослідженні найнижчу концентрацію, при якій спостерігається 50% інгібування

ДФПГ, виявлено в АТС. Деяко вища концентрація – ЕТС та ААТС. Відповідно від значення EK_{50} залежить величина антирадикальної активності (Таблиця 3.1).

Антирадикальну активність розраховували за формулою $АРА=1/EK_{50}$. Антиоксидантну активність виражали в мг тролоксу або аскорбінової кислоти відповідно (АКЕ або ТЕ) і визначали за формулою: $АКЕ=АРАзразка/АРА$ аскорбінової кислоти. Результати дослідження представлені у таблиці 3.4.

Таблиця 3.4.

Показники антиоксидантної активності естерів тіосульфокислот.

Назва зразка	EK_{50} мг/мл	АРА	АКЕ (аскорбінової кислоти еквівалент)	ТЕ (тролоксу еквівалент)
МТС	32,80	0,031	0,004	0,001
ЕТС	10,35	0,097	0,012	0,004
АТС	6,35	0,157	0,020	0,007
ПТС	62,00	0,016	0,002	0,001
ААТС	17,00	0,059	0,007	0,003
Тролокс	0,04	23,14	н/а	н/а
Аскорбінова кислота	0,12	8,032	н/а	н/а

Отримані результати показують, що серед естерів п-амінобензолтіосульфокислоти найбільш активним є аліловий естер – АТС, що обумовлено структурними особливостями його будови. Низькі результати радикал поглинаючої активності у порівнянні з аскорбіновою кислотою та тролоксом вказують на те, що ці естери не проявляють яскраво вираженої радикал поглинаючої активності, а отже і самі не є джерелом вільних радикалів.

Визначення радикалпоглинальної активності розчинів МТС, ЕТС, ПТС, АТС та ААТС дозволило розташувати їх у ряд активностей (табл. 3.5).

Таблиця 3.5.

Показники радикалпоглинальної активності естерів тіосульфокислот

Сполука	РПА, %
АТС (NH ₂ -C ₆ H ₄ -SO ₂ S-C ₃ H ₅)	85,23
ААТС (CH ₃ -CONHC ₆ H ₄ SO ₂ S-C ₃ H ₅)	68,68
ЕТС (NH ₂ -C ₆ H ₄ -SO ₂ S-C ₂ H ₅)	38,56
МТС (NH ₂ -C ₆ H ₄ -SO ₂ S-CH ₃)	18,11
ПТС (NH ₂ -C ₆ H ₄ -SO ₂ S-C ₃ H ₇)	17,30

Найвищу радикалпоглинальну активність проявляють АТС, ААТС, який відрізняється будовою радикалу в п-положенні бензенового кільця. Ацилювання аміногрупи приводить до зниження радикалпоглинальної активності тіосульфонату. Радикалпоглинальна активність ЕТС є нижчою ніж АТС та ААТС (38,56%), але все ж достатню, щоб проявляти антиоксидантні властивості.

Висновки

1. В результаті дослідження фунгібактерицидної активності синтетичних тіосульфоестерів за допомогою методу «дифузії речовини в агар з використанням паперових дисків» щодо 5 референтних штамів тест-мікроорганізмів *E. coli*, *S. aureus*, *M. luteum*, *C. tenuis*, *A. niger*, встановлено, що серед досліджуваних естерів найвищу активність по відношенню до всіх штамів мікроорганізмів демонструють ЕТС, АТС, ААТС.

2. Методом серійних розведень визначено мінімальні значення інгібувальних і бактерицидних концентрацій щодо тестованих штамів мікроорганізмів: *E. coli*, *S. aureus*, *M. luteum*, *C. tenuis*, *A. niger*. Одержані результати дозволяють характеризувати досліджувані тіосульфоестери як перспективні антимікробні речовини, що можуть бути перспективними для захисту кормів від контамінації їх грибами

3. Визначено антиоксидантну активність у дослідах *in vitro* ряду алкілових естерів *n*-амінобензентіосульфокислоти: МТС, ПТС, ЕТС, АТС та ААТС, встановлено, що найвищою активністю володіють АТС, ЕТС, ААТС.
4. Досліджено радикалпоглинальну активність МТС, ЕТС, АТС, ПТС, ААТС за допомогою методу взаємодії із стабільним вільним радикалом ДФПГ *in vitro*, з'ясовано, що найвищі показники радикалпоглинальної активності характерні для АТС, ААТС, ЕТС.
5. Тому в наступних дослідах *in vivo* були використані сполуки – ЕТС, АТС, ААТС, які проявили найбільшу антимікробну та антиоксидантну активності.

3.2. Дослідження впливу естерів тіосульфокислот: ЕТС, АТС, ААТС на показники пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи в крові щурів.

3.2.1. Вплив S-естерів тіосульфокислот у дозах 100 та 50 мг/кг маси тіла на вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у периферичній крові щурів.

Процеси вільнорадикального пероксидного окиснення ліпідів активуються, як відомо, в результаті збільшення вмісту прооксидантів, зокрема активних форм кисню (АФО). Цей процес супроводжується накопиченням стійких цитотоксичних продуктів, які можуть утворюватися майже з усіх класів біомолекул. Зазвичай система реакцій, пов'язаних із продукцією активних форм кисню, регулюється різними антиоксидантними захисними механізмами в організмі. Але порушення цього контролю може викликати інтенсифікацію процесів вільнорадикального окиснення та акумуляцію в організмі продуктів ліпопероксидації – високореактивних сполук, які вказують на можливість ушкодження клітинних структур [51].

У результаті проведених досліджень було встановлено, що вміст продуктів проміжної стадії пероксидного окиснення ліпідів – ГПЛ у плазмі крові щурів дослідних груп за дії естерів тіосульфокислот вірогідно не

відрізнявся від показників контрольної групи, окрім ААТС у дозі 100 мг/кг маси тіла (рис. 3.3, А). У тварин цієї групи вміст ГПЛ (0,23±0,05 ум.од /мл) знижувався на 46,51% ($P \leq 0,05$) порівняно з контрольною групою (0,43±0,07 ум.од /мл). У тварин, що споживали ЕТС у дозі 100 та 50, ААТС у дозі 50 мг/кг маси тіла, спостерігалася тенденція до зростання вмісту ГПЛ на 27,91%, 34,29% та 28,57% відповідно, порівняно з показниками контрольних груп. АТС спричиняв тенденцію до зниження вмісту ГПЛ на 18,61% у дозі 100 мг/кг, та на 9,62% - у дозі 50 мг/кг маси тіла (рис. 3.3, А, Б)

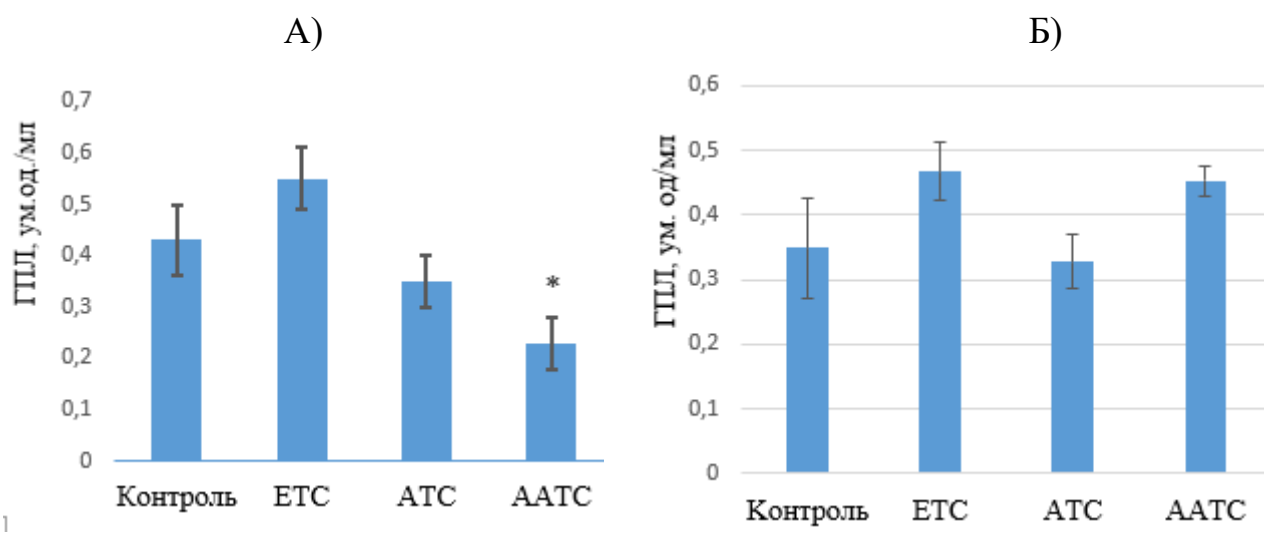


Рис. 3.3. Вміст гідрогенпероксидів у плазмі крові щурів за впливу тіосульфонатів у дозах 100 (А) та 50 (Б) мг/кг маси тіла ($M \pm m$, $n = 5$). Примітка: у цьому та наступних рисунках * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ різниця вірогідна в II, III, IV групах щодо показників I групи (контролю).

Визначення ТБК-позитивних продуктів допомагає в оцінці ступеня окисдативного стресу та його впливу на організм. Результати досліджень вказують на те, що вміст ТБК-позитивних продуктів в плазмі крові щурів за дії ЕТС, ААТС у дозі 100 мг/кг вірогідно не відрізнявся від показників контрольної групи, а за дії АТС ($2,11 \pm 0,08$ нмоль/мл) зафіксовано достовірне зниження на 14,23% ($p \leq 0,05$) порівняно із показником контрольної групи ($2,46 \pm 0,23$ нмоль/мл), як видно на рис. 3.4, А. Введення АТС у дозі 50 мг/кг спричиняє достовірне зменшення вмісту ТБК-позитивних продуктів у плазмі крові щурів

($1,66 \pm 0,04$ нмоль/мл) на 13,91% ($P \leq 0,05$) відносно групи контролю ($1,87 \pm 0,14$ нмоль/мл), (рис. 3.4, Б). Додавання тіосульфатів ЕТС та ААТС зменшує цей показник на 5,88% ($1,76 \pm 0,04$ нмоль/мл) та 4,38% ($1,79 \pm 0,04$ нмоль/мл). Не зважаючи, що ці зменшення не є достовірними відносно групи контролю, але ця тенденція усе одно є показовою, адже ТБК-позитивні продукти, серед яких провідне місце займає малоновий диальдегід, є маркерами окисного пошкодження ліпідів [196].

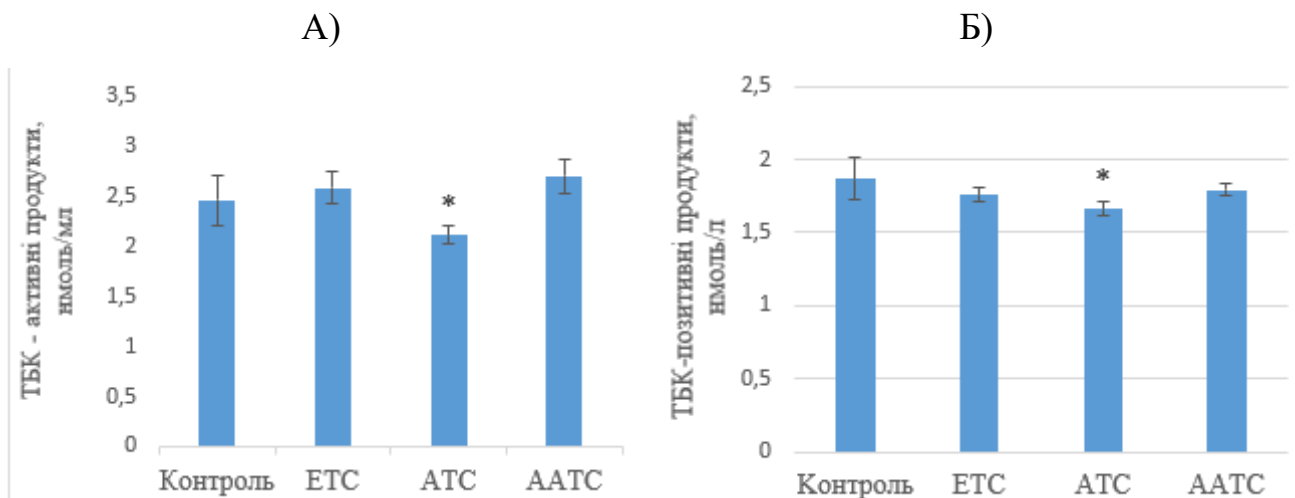


Рис. 3.4. Вміст ТБК-позитивних продуктів у плазмі крові щурів за впливу тіосульфатів у дозах 100 (А) та 50 (Б) мг/кг маси тіла ($M \pm m$, $n = 5$).

Зниження вмісту ГПЛ зафіксовано у дослідній групі щурів, які споживали ААТС у дозі 100 мг/кг, при чому в меншій дозі ААТС спричиняв тенденцію до зростання рівня ГПЛ. За дії ЕТС в обох дозах спостерігалася тенденція до зростання вмісту ГПЛ в крові. У крові щурів за впливу АТС в обох дозах достовірно знижувався вміст ТБК-позитивних продуктів та простежувалася тенденція до пониження вмісту ГПЛ.

3.2.2. Вплив S-естерів тіосульфонокислот у дозах 100 та 50 мг/кг маси тіла на активність ензимів антиоксидантної системи у крові щурів.

Одним із основних показників рівня захисних можливостей організму є стан антиоксидантної системи клітин. Багато захворювань та ускладнень в організмі можуть бути спричинені дисбалансом між виробленням вільних

радикалів та активністю антиоксидантних ензимів, таких як СОД, КАТ, ГП та ГР [170]. У дослідженнях встановлено підвищення супероксиддисмутазної активності (рис. 3.5, А) в еритроцитах крові тварин II ($8,43 \pm 0,59$ ум.од./мг протеїну), III ($10,59 \pm 0,26$ ум.од./мг протеїну) та IV ($8,95 \pm 0,47$ ум.од./мг протеїну) дослідних груп, що споживали олійні розчини ЕТС, АТС, ААТС у дозі 100 мг/кг маси тіла на 49,73% ($p \leq 0,01$), 88,10% ($p \leq 0,001$) і 58,97% ($p \leq 0,001$) відповідно, порівняно з контролем ($5,63 \pm 0,14$ ум.од./мг протеїну).

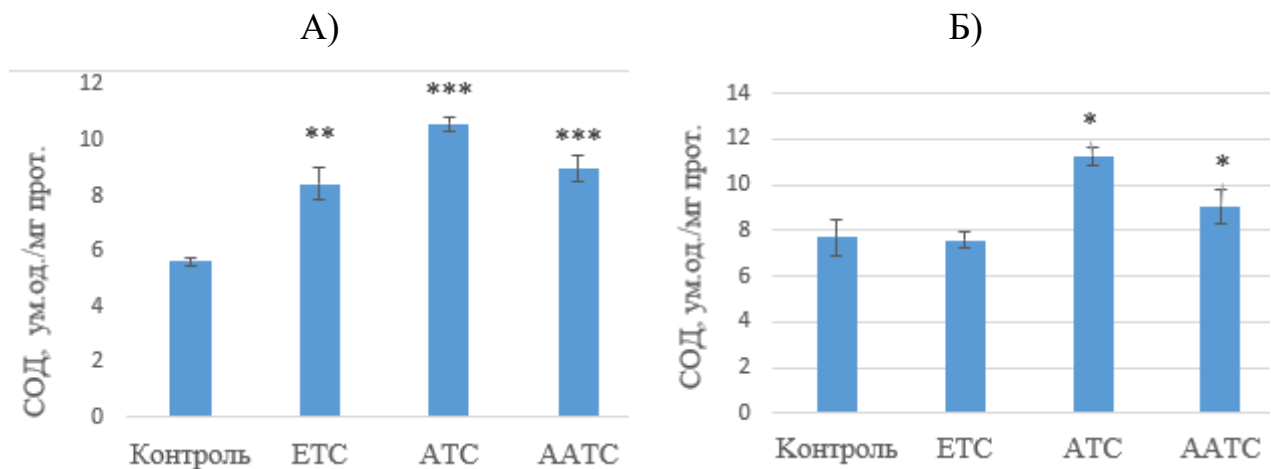


Рис. 3.5. Супероксиддисмутазна активність в еритроцитах крові щурів за впливу тіосульфонатів у дозах 100 (А) та 50 (Б) мг/кг маси тіла ($M \pm m$, $n = 5$).

У щурів, що споживали з кормом тіосульфонати у дозі 50 мг/кг, достовірне зростання активності СОД зафіксовано у тварин III ($11,25 \pm 0,41$ ум.од./мг протеїну) та IV ($9,05 \pm 0,82$ ум.од./мг протеїну) груп на 46,48% ($p \leq 0,001$) і 17,84% ($p \leq 0,05$) відповідно, у порівнянні з контрольною групою ($7,68 \pm 0,83$ ум.од./мг протеїну). Зростання активності СОД може бути зумовлено підвищенням рівня супероксид-радикалу за дії окремих естерів тіосульфокислот. У тварин II дослідної групи супероксиддисмутазна активність ($7,58 \pm 0,73$ ум.од./мг прот.) не відрізнялася від контрольної групи (рис. 3.5, Б).

При визначенні каталазної активності у крові тварин (рис. 3.6), за дії тіосульфонатів у концентрації 100 мг/кг маси тіла встановлено достовірне зростання активності ензиму у всіх дослідних групах, зокрема: на 28,37% ($p \leq 0,001$) – за дії ЕТС ($7,33 \pm 0,31$ ммоль/хв.×мг прот.), на 56,74% ($p \leq 0,001$) – за

впливу АТС ($8,95 \pm 0,26$ ммоль/хв. \times мг прот.), на 40,63% ($p \leq 0,001$) – за дії ААТС ($8,03 \pm 0,37$ ммоль/хв. \times мг прот.) у порівнянні з контрольною групою ($5,71 \pm 0,31$ ммоль/хв. \times мг прот.) (рис. 3.6, А).

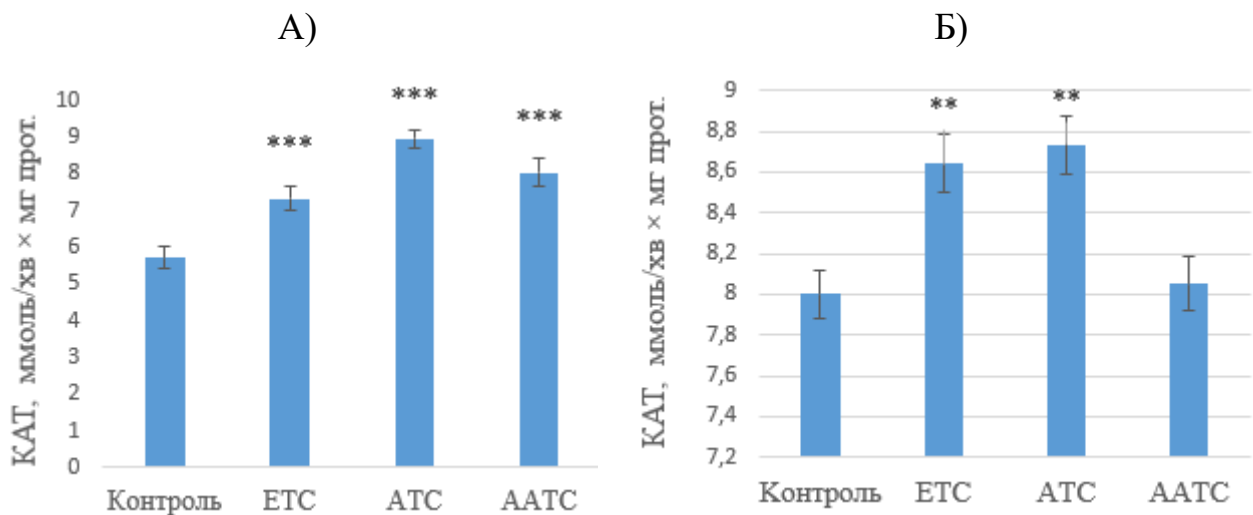


Рис. 3.6. Каталазна активність в еритроцитах крові щурів за впливу тіосульфатів у дозах 100 (А) та 50 (Б) мг/кг маси тіла ($M \pm m$, $n = 5$).

У крові тварин, що споживали з кормом тіосульфати у концентрації 50 мг/кг маси тіла спостерігалось достовірне зростання рівня активності ензиму за впливу ЕТС ($8,64 \pm 0,33$ ммоль/хв. \times мг прот.) та АТС ($8,73 \pm 0,33$ ммоль/хв. \times мг прот.) на 8% та 9,13% відповідно, порівняно з контрольною групою ($8,00 \pm 0,27$ ммоль/хв. \times мг прот.) (рис. 3.6, Б). Рівень активності КАТ у крові за дії ААТС ($8,05 \pm 0,29$ ммоль/хв. \times мг прот.) не відрізнявся від контролю

За впливу тіосульфатів у дозі 100 мг/кг активність СОД та КАТ достовірно збільшувалися у всіх дослідних групах. За дії тіосульфатів у меншій дозі достовірне зростання супероксиддисмутазної та каталазної активності спостерігалось у дослідній групі за дії АТС. За впливу ЕТС в дозі 50 мг/кг зростала активність КАТ, а активність СОД не відрізнялася від показника контрольної груп. ААТС спричиняв зростання лише активності СОД.

3.2.3. Вплив S-естерів тіосульфокислот у дозах 100 та 50 мг/кг маси тіла на активність ензимів глутатіонової ланки антиоксидантної системи та вмісту відновленого глутатіону у крові щурів.

В процесі дослідження глутатіонпероксидазної активності (ГП) в крові тварин за дії ЕТС було виявлено (рис. 3.7) найвищі показники як на першому етапі досліджень, так і на другому, у порівнянні з дослідними групами, які споживали АТС та ААТС. Зокрема, в еритроцитах крові щурів, які отримували ЕТС у дозі 100 мг/кг маси тіла, активність ГП ($16,65 \pm 2,73$ мкмоль/хв \times мг протеїну) зросла на 30,28% ($p \leq 0,05$) у порівнянні з контрольною групою ($12,78 \pm 2,23$ мкмоль/хв \times мг протеїну), а в тварин, які споживали ЕТС у дозі 50 мг/кг маси тіла, активність ГП ($10,31 \pm 0,47$ мкмоль/хв \times мг протеїну) зросла на 42,60% ($p \leq 0,001$) порівняно з контрольною групою ($7,23 \pm 0,77$ мкмоль/хв \times мг протеїну). У тварин III дослідної групи, які отримували АТС у дозі 100 мг/кг маси тіла, активність ГП ($10,88 \pm 1,24$ мкмоль/хв \times мг протеїну) не відрізнялася статистично від контрольної групи ($12,78 \pm 2,23$ мкмоль/хв \times мг протеїну), але була помічена тенденція до її зниження (рис. 3,7, А). У тварин, які отримували АТС у концентрації 50 мг/кг маси тіла ($9,59 \pm 0,84$ мкмоль/хв \times мг протеїну), виявлено достовірне підвищення активності ГП порівняно з контрольною групою ($7,23 \pm 0,77$ мкмоль/хв \times мг протеїну) (рис. 3,7, Б). У тварин, які споживали ААТС, на першому та другому етапі досліджень, фіксувалася найнижча активність ГП у порівнянні із активністю ГП у крові тварин, що споживали ЕТС та АТС. У щурів, що споживали ААТС у дозі 100 мг/кг маси тіла, активність ГП ($5,9 \pm 1,82$ мкмоль/хв \times мг протеїну) була на 53,83% ($p \leq 0,001$) нижчою (рис. 3,7, А), ніж у контрольної групи ($12,78 \pm 2,23$ мкмоль/хв \times мг протеїну). У щурів, що споживали ААТС у дозі 50 мг/кг маси тіла, активність ГП ($6,13 \pm 0,14$ мкмоль/хв \times мг протеїну) знижувалася на 15,21% ($p \leq 0,05$) відносно тварин контрольної групи (рис. 3,7, Б).

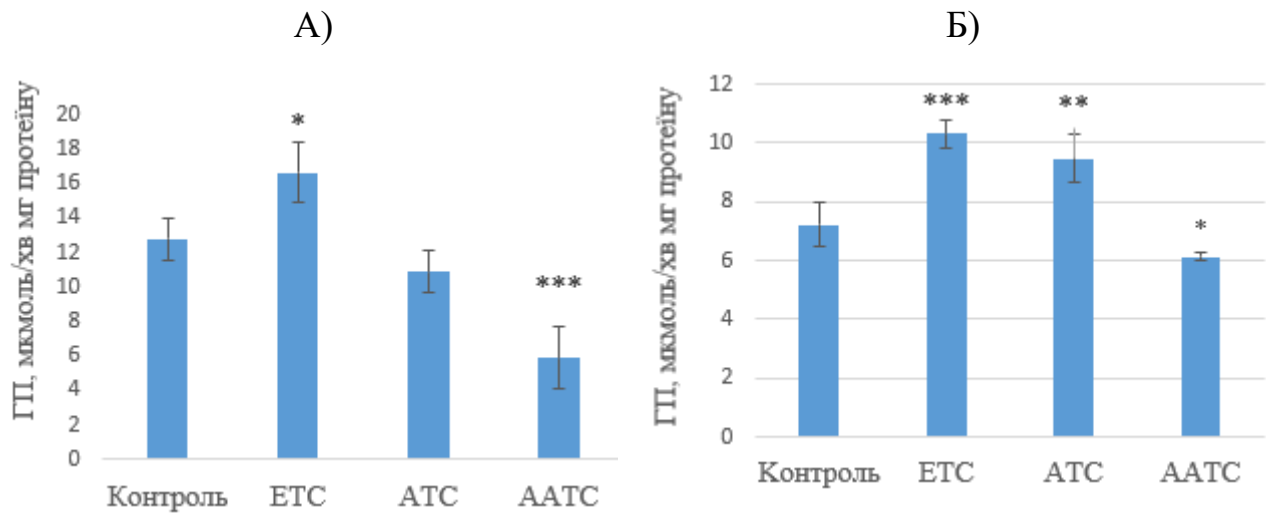


Рис. 3.7. Глутатіонпероксидазна активність в еритроцитах крові щурів за впливу тіосульфатів у дозах 100 (А) та 50 (Б) мг/кг маси тіла ($M \pm m$, $n = 5$).

Глутатіонредуктазна активність у тварин, які споживали з кормом олійні розчини тіосульфатів у дозі 100 мг/кг маси тіла, достовірно знижувалася (рис. 3.8, А) в еритроцитах щурів усіх дослідних груп: в II ($0,84 \pm 0,18$ мкмоль/хв \times мг прот.) – на 50,12% ($p \leq 0,001$), III ($0,91 \pm 0,08$ мкмоль/хв \times мг протеїну) – на 46,45% ($p \leq 0,001$), IV ($0,68 \pm 0,16$ мкмоль/хв \times мг протеїну) – на 59,81% ($p \leq 0,001$) відносно тварин контрольної групи ($1,69 \pm 0,16$ мкмоль/хв \times мг протеїну). Таке зниження свідчить про деяке пригнічення відновлення окисненого глутатіону в еритроцитах крові за дії естерів тіосульфокислот у концентрації 100 мг/кг маси тіла. Введення до раціону щурів тіосульфатів у нижчій концентрації 50 мг/кг маси призводило до підвищення ГР активності, причому у гемолізатах крові тварин за дії ЕТС ($1,96 \pm 0,28$ мкмоль/хв \times мг протеїну) та АТС ($2,49 \pm 0,34$ мкмоль/хв \times мг протеїну) спостерігалось достовірне зростання активності ензиму на 59,35% та 102,43% відповідно, порівняно до показника контрольної групи ($1,23 \pm 0,20$ мкмоль/хв \times мг протеїну). У крові щурів IV дослідної групи виявлено тенденцію до підвищення активності глутатіонредуктази на 19,51% ($1,47 \pm 0,28$ мкмоль/хв \times мг протеїну), але цей показник залишається в межах значень, характерних для контрольної групи (рис. 3.8, Б).

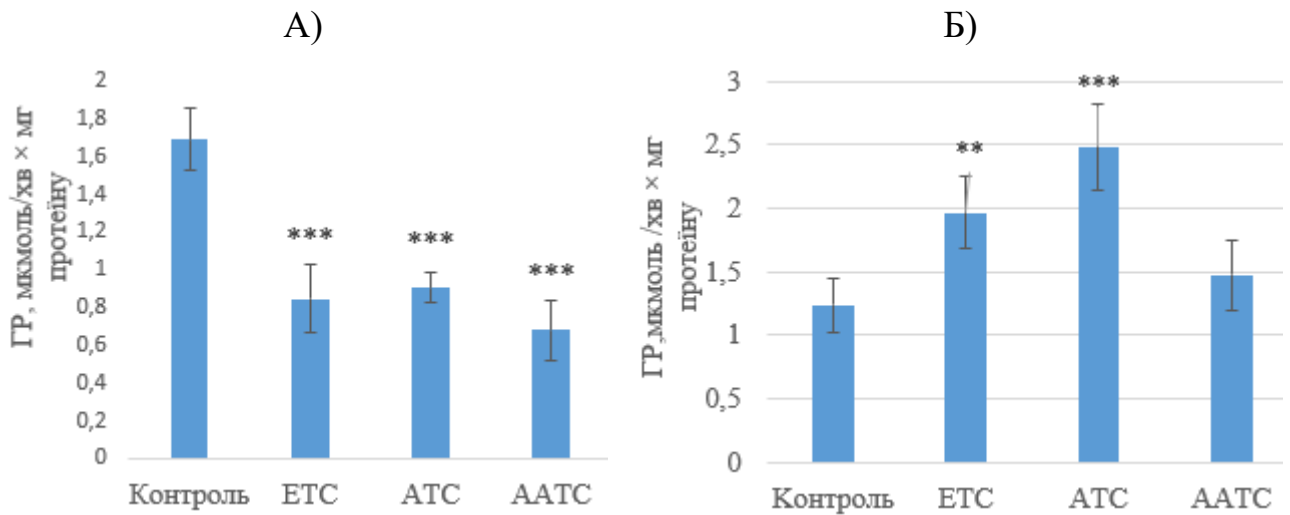


Рис. 3.8. Глутатіонредуктазна активність у еритроцитах крові щурів за впливу тіосульфатів у дозах 100 (А) та 50 (Б) мг/кг маси тіла ($M \pm m$, $n = 5$).

Важливим компонентом функціонування глутатіонової ланки антиоксидантного захисту в організмі тварин є відновлений глутатіон. За впливу тіосульфатів у дозі 100 мг/кг встановлено достовірне зростання вмісту відновленого глутатіону (рис. 3.9, А) на 22,41% ($p \leq 0,01$) і 20,34% ($p \leq 0,01$) за дії ЕТС ($0,71 \pm 0,07$ ммоль/л) та АТС ($0,70 \pm 0,04$ ммоль/л) відповідно, у порівнянні з контрольною групою ($0,58 \pm 0,03$ ммоль/л). У крові тварин IV групи за дії ААТС вміст ВГ ($0,57 \pm 0,03$ ммоль/л) не відрізнявся від показника контрольної групи.

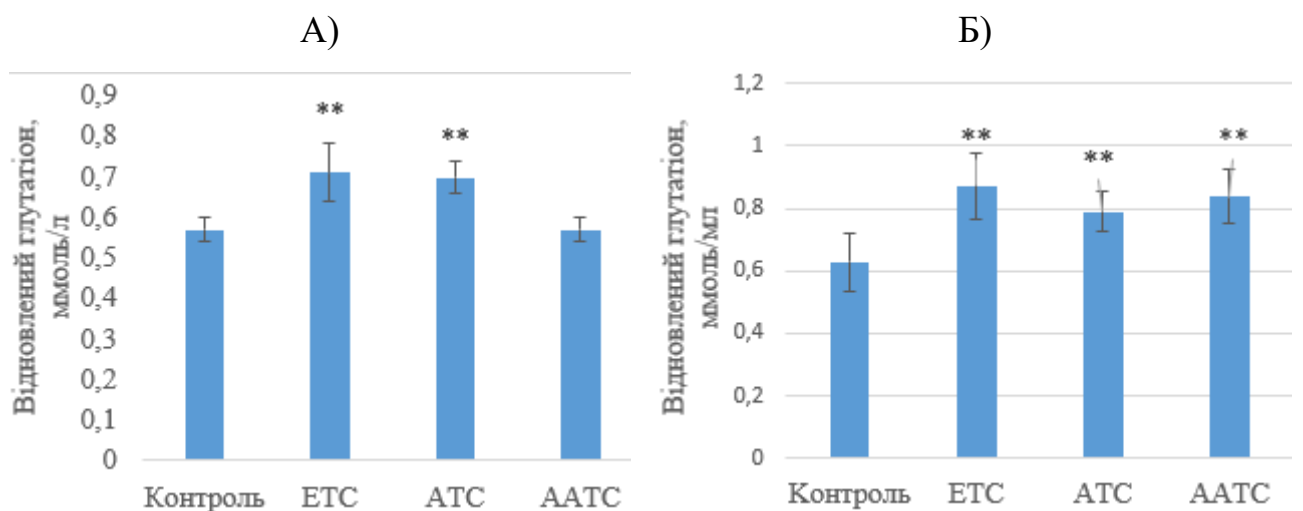


Рис. 3.9. Вміст відновленого глутатіону в еритроцитах крові щурів за впливу тіосульфатів у дозах 100 (А) та 50 (Б) мг/кг маси тіла ($M \pm m$, $n = 5$).

За впливу тіосульфонатів у дозі 50 мг/кг маси тіла встановлено (рис. 3.9, Б) достовірне зростання вмісту ВГ за дії ЕТС ($0,87 \pm 0,11$ ммоль/л) на 38,10% ($P \leq 0,01$), АТС ($0,79 \pm 0,07$ ммоль/л) — на 25,40% ($p \leq 0,01$), ААТС ($0,84 \pm 0,08$ ммоль/л) – на 33,33% ($p \leq 0,01$) порівняно з контрольною групою ($0,63 \pm 0,09$ ммоль/л). Зростання рівня ВГ за впливу естерів тіосульфоокислот може бути зумовлене посиленням його синтезу *de novo*, а також завдяки реакціям його відновлення за допомогою глутатіонредуктази, активність якої зростає у крові за впливу ЕТС та АТС.

Підвищення рівня відновленого глутатіону має позитивний ефект, оскільки він відіграє важливу роль в підтримці клітинного гомеостазу і захисті від пошкоджень, діючи як кофактор для ензимів глутатіонової системи, які виконують детоксикацію, а також беручи участь у регенерації вітамінів і контролю апоптозу [126].

Глутатіонпероксидазна активність достовірно зростала в крові щурів за впливу ЕТС у обох дозах та за впливу АТС у дозі 50 мг/кг. ААТС спричиняв пониження активності ГП в обох дозах. Тіосульфонати в дозах 100 та 50 мг/кг маси тіла позитивно впливали на вміст відновленого глутатіону в крові щурів, який достовірно зростав у порівнянні з контрольною групою, окрім групи ААТС у дозі 100 мг/кг, в крові яких вміст ВГ не відрізнявся від показника контрольної групи. Глутатіонредуктазна активність збільшувалася за дії тіосульфонатів у дозі 50 мг/кг, а у дозі 100 мг/кг тіосульфонати викликали пригнічення активності ГР.

Висновки

1. У крові щурів за впливу тіосульфонатів виявлені зміни показників про/антиоксидантної системи.
2. Встановлено незначне зниження продуктів ПОЛ за дії АТС в дозах 100 і 50 мг/кг.

3. За впливу досліджуваних естерів тіосульфокислот в крові зростали СОД, КАТ активності і вміст ВГ.
4. ГП активність збільшувалась за дії ЕТС в обох дозах та за дії АТС у дозі 50мг/кг, а ГР – за дії ЕТС та АТС у дозі 50 мг/кг.

Результати досліджень опубліковані у працях: [100, 221, 224, 223]

3.3. Біохімічні особливості дії ЕТС, АТС та ААТС у різних дозах на інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів та функціональний стан антиоксидантної системи у тканинах щурів.

3.3.1. Вплив S-естерів тіосульфокислот у дозах 100 та 50 мг/кг маси тіла на вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у тканинах щурів.

У тканинах організму показників про/антиоксидантної системи змінюють свою активність за дії різних чинників. Накопичення продуктів ПОЛ у тканинах може призвести до цілого ряду патологічних змін у них, до структурної перебудови мембран і зміни метаболічних процесів, які відіграють велику роль у патогенезі багатьох захворювань [13]. Результати проведених досліджень свідчать про те, що тіосульфонати у концентрації 100 мг/кг маси тіла не спричиняли збільшення вмісту ГПЛ та ТБК-позитивних продуктів у гомогенатах печінки (табл. 3.6). Показники, отримані в дослідних групах, достовірно не відрізнялися від показників у контрольній групі. Тоді як у нирках щурів II, III і IV груп вміст продуктів проміжної стадії пероксидного окиснення ліпідів – ГПЛ, вірогідно знижувався на 29,79 ($p \leq 0,01$), 32,77 ($p \leq 0,01$) і 34,89% ($p \leq 0,001$) на тлі незмінного вмісту ТБК-позитивних продуктів. Крім цього спостерігалася тенденція до зниження вмісту ГПЛ у мозку тварин II групи на 33,33% та м'язах тварин IV групи на 16,67% порівняно до показників контрольної групи (табл. 3.6), що може бути зумовлено зниженням утворення продуктів ПОЛ або їх розпадом внаслідок активації антиоксидантної системи.

Однак, у деяких тканинах за впливу естерів тіосульфонатів також спостерігалось вірогідне зростання вмісту ГПЛ, зокрема, у селезінці тварин за дії АТС – на 58,62% ($p \leq 0,001$), у мозку тварин за дії АТС і ААТС – на 330 ($p \leq 0,001$) і 155% ($p \leq 0,01$) та в скелетних м'язах за дії ЕТС – на 13,33 % ($P \leq 0,05$). Таке зростання рівня ГПЛ свідчить про активацію ПОЛ у даних тканинах за дії естерів тіосульфонокислот у дозі 100 мг/кг маси тіла.

Таблиця 3.6.

Вміст продуктів ПОЛ в тканинах щурів за впливу S-естерів тіосульфонокислот у дозі 100 мг/кг маси тіла ($M \pm m$, $n=5$)

Тканина	Групи тварин			
	I – контроль	II – ЕТС	III – АТС	IV – ААТС
Гідропероксиди ліпідів, ОДЕ/мл				
Печінка	0,38 ± 0,06	0,38 ± 0,03	0,42 ± 0,04	0,39 ± 0,04
Нирки	0,47 ± 0,07	0,33 ± 0,07**↓	0,32 ± 0,05**↓	0,31 ± 0,03***↓
Селезінка	0,29 ± 0,07	0,34 ± 0,04	0,46 ± 0,03***↑	0,35 ± 0,02
Скелетні м'язи	0,30 ± 0,02	0,34 ± 0,02*↑	0,32 ± 0,02	0,25 ± 0,05
Мозок	0,09 ± 0,04	0,06 ± 0,03	0,39 ± 0,04***↑	0,23 ± 0,08**↑
ТБК-позитивні продукти, нмоль/мл				
Печінка	4,19 ± 0,59	3,96 ± 0,68	4,71 ± 0,41	4,51 ± 0,21
Нирки	3,27 ± 0,24	3,39 ± 0,07	3,40 ± 0,38	3,35 ± 0,36
Селезінка	3,68 ± 0,36	3,38 ± 0,15	2,57 ± 0,61**↓	1,84 ± 0,29***↓
Скелетні м'язи	1,84 ± 0,27	1,85 ± 0,21	1,60 ± 0,10	1,39 ± 0,16*↓
Мозок	2,76 ± 0,61	2,80 ± 0,33	3,29 ± 0,29	2,93 ± 0,16

*Примітка: у цій та наступних таблицях * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ різниця вірогідна в II, III, IV групах щодо показників I групи (контролю).*

ТБК-позитивні продукти, як індикатори оксидативного стресу, вказують на надмірну продукцію вільних радикалів кисню та недостатню активність антиоксидантних механізмів в організмі. Вміст ТБК-позитивних продуктів за дії АТС і ААТС вірогідно знижувався у селезінці – на 30,16 ($p \leq 0,01$) і 77,13%

($p \leq 0,001$) та у скелетних м'язах – на 13,04% і 24,46% ($p \leq 0,05$) відповідно, що свідчить про пригнічення кінцевої ланки ПОЛ (табл. 3.6). При цьому за дії ЕТС вміст ТБК-позитивних продуктів практично не відрізнявся від рівня контрольної групи у всіх досліджуваних тканинах.

У той же час, тіосульфонати у концентрації 50 мг/кг маси тіла спричиняли вірогідні зміни концентрації продуктів проміжної та кінцевої стадій пероксидного окиснення ліпідів у печінці, скелетних м'язах і мозку (табл. 3.7). Зокрема, у печінці за дії ЕТС, АТС і ААТС виявлено вірогідне зниження концентрації ГПЛ на 6,45%, 14,52% та 11,29% , а також ТБК-позитивних продуктів – на 8,68%, 21,59% і 39,21% відповідно, у порівнянні з показниками контрольних груп. Зниження продуктів ПОЛ у печінці, очевидно може бути зумовлено активацією ензимів антиоксидантного захисту. Оскільки печінка є важливим органом в системі антиоксидантного захисту, вона виробляє і регулює активність антиоксидантів та ензимів детоксикації, які захищають клітини від оксидативного пошкодження, спричиненого продуктами ПОЛ [108, 125].

У скелетних м'язах спостерігалось достовірне зниження вмісту ГПЛ за дії ЕТС, АТС і ААТС на 14,63% ($p \leq 0,01$), 21,95% ($p \leq 0,01$), 36,59% ($p \leq 0,001$) відповідно, порівняно з показниками контрольної групи, а вміст ТБК-позитивних продуктів – не відрізнявся достовірно від контролю. У гомогенатах селезінки дослідних груп не було помічено значущих змін вмісту ГПЛ та ТБК-позитивних продуктів щодо показників контрольної групи (табл. 3.7).

У дослідженнях було встановлено достовірне зменшення вмісту ТБК-позитивних продуктів у нирках за дії ААТС на 13,16% ($p \leq 0,05$) та мозку – за дії АТС і ААТС на 11,26% ($p \leq 0,05$) і 16,76% ($p \leq 0,001$) відповідно, на тлі незначного підвищення рівня гідропероксидів ліпідів у цих тканинах.

Таблиця 3.7.

**Вміст продуктів ПОЛ в тканинах щурів за впливу S-естерів
тіосульфокислот у дозі 50 мг/кг маси тіла (M±m, n=5)**

Тканини	Групи тварин			
	I - Контроль	II - ЕТС	III - АТС	IV - ААТС
Гідропероксили ліпідів, ГПЛ ОДЕ/мл				
Печінка	0,62 ± 0,02	0,58 ± 0,01**↓	0,53 ± 0,03***↓	0,55 ± 0,01***↓
Нирки	0,48 ± 0,08	0,48 ± 0,09	0,61 ± 0,13	0,57 ± 0,06
Селезінка	1,13 ± 0,15	1,37 ± 0,06	1,22 ± 0,05	1,10 ± 0,12
Скелетні м'язи	0,41 ± 0,02	0,35 ± 0,02**↓	0,32 ± 0,04**↓	0,26 ± 0,03***↓
Мозок	0,45 ± 0,02	0,44 ± 0,03	0,52 ± 0,05	0,51 ± 0,05
ТБК-позитивні продукти, нмоль/мл				
Печінка	4,03 ± 0,28	3,68 ± 0,07*↓	3,16 ± 0,14***↓	2,45 ± 0,14***↓
Нирки	4,18 ± 0,24	4,68 ± 0,33	4,46 ± 0,41	3,63 ± 0,23*↓
Селезінка	2,75 ± 0,13	2,80 ± 0,07	2,85 ± 0,10	2,91 ± 0,21
Скелетні м'язи	1,79 ± 0,67	1,79 ± 0,13	1,81 ± 0,08	1,80 ± 0,07
Мозок	3,64 ± 0,16	3,84 ± 0,14	3,23 ± 0,12*↓	3,03 ± 0,12***↓

Це свідчить про те, що за дії АТС і ААТС, антиоксидантна система нейтралізує появу вільних радикалів і подальше їх окиснення, знижуючи рівень ТБК-позитивних продуктів. Підтримуючи баланс між виробництвом активних форм кисню і антиоксидантним захистом, можна пом'якшити шкідливі наслідки окисного стресу для клітинних структур і функцій.

3.3.2. Вплив S-естерів тіосульфокислот у дозах 100 та 50 мг/кг маси тіла на активність ензимів антиоксидантної системи у тканинах щурів.

Одними із найважливіших антиоксидантних ензимів, які допомагають захистити клітини тканин від окиснювального пошкодження та підтримувати їхню функцію є каталаза і супероксиддисмутаза [71]. Клітини печінки особливо вразливі до окиснювального пошкодження через їхню високу метаболічну

активність і вплив різних токсичних речовин. Результати досліджень засвідчили позитивний вплив досліджуваних тіосульфонатів у дозах 100 та 50 мг/кг на супероксиддисмутазну та каталазну активності в клітинах печінки (табл. 3.8, 3.9).

Таблиця 3.8.

Активності ензимів системи антиоксидантного захисту в тканинах щурів за впливу S-естерів тіосульфонокислот у дозі 100 мг/кг маси тіла ($M \pm m$, $n=5$)

Тканини	Групи тварин			
	I - Контроль	II - ETC	III - ATC	IV – AATC
Каталаза, ммоль/хв × мг протеїну				
Печінка	9,42 ± 0,68	11,41 ± 0,48**↑	10,39 ± 0,33*↑	10,17 ± 0,37*↑
Нирки	17,16 ± 0,39	18,13 ± 1,65	17,03 ± 0,94	15,91 ± 1,46
Селезінка	17,18 ± 1,09	16,58 ± 1,71	15,41 ± 1,09*↓	14,74 ± 0,55**↓
Скелетні м'язи	11,87 ± 2,27	10,99 ± 2,29	8,25 ± 0,03**↓	9,51 ± 1,03
Мозок	7,71 ± 1,51	7,76 ± 1,65	6,73 ± 1,15	6,14 ± 0,91
Супероксиддисмутаза (СОД), ум.од./мг протеїну				
Печінка	15,46 ± 2,28	18,37 ± 4,06	17,96 ± 1,87	16,39 ± 2,33
Нирки	31,62 ± 3,70	27,95 ± 5,18	26,70 ± 1,32*↓	23,07 ± 0,94***↓
Селезінка	42,46 ± 4,11	41,69 ± 3,54	37,70 ± 5,01	36,15 ± 2,47*↓
Скелетні м'язи	40,06 ± 2,30	44,93 ± 2,06*↑	42,56 ± 6,37	45,31 ± 6,42
Мозок	41,46 ± 4,34	39,57 ± 5,38	41,18 ± 5,67	40,19 ± 3,56

За дії ETC, ATC і AATC у дозі 100 мг/кг маси тіла встановлено достовірне зростання каталазної активності у печінці щурів на 21,13%, 10,30% та 7,96% відповідно, що свідчить про активацію цієї ланки АОС за впливу цих сполук. У той час як супероксиддисмутазна активність зростала у печінці щурів за впливу ETC, ATC, AATC у дозі 50 мг/кг на 32, 60 і 48% відповідно, порівняно з контрольною групою (табл. 3.9).

Таблиця 3.9.

Активності ензимів системи антиоксидантного захисту в тканинах щурів за впливу S-естерів тіосульфокислот у дозі 50 мг/кг маси тіла ($M \pm m$, $n=5$)

Тканина	Група тварин			
	I - Контроль	II - ЕТС	III - АТС	IV – ААТС
Каталаза, ммоль/хв × мг протеїну				
Печінка	7,39 ± 0,68	7,79 ± 0,26	8,05 ± 0,55	7,50 ± 0,99
Нирки	15,18 ± 1,65	17,34 ± 0,27*↑	16,86 ± 0,58	13,56 ± 0,84
Селезінка	13,14 ± 1,59	14,65 ± 0,75	14,60 ± 1,19	13,62 ± 1,38
Скелетні м'язи	21,7 ± 1,51	20,56 ± 1,31	16,19 ± 1,50**↓	17,54 ± 1,80**↓
Мозок	15,14 ± 0,35	15,17 ± 0,61	14,66 ± 0,46	14,73 ± 0,06**↓
Супероксиддисмутаза, ум.од./мг протеїну				
Печінка	8,69 ± 1,13	11,43 ± 1,44***↑	13,84 ± 1,40***↑	12,80 ± 0,88***↑
Нирки	18,55 ± 0,28	22,82 ± 0,74***↑	22,57 ± 0,74***↑	19,89 ± 2,18
Селезінка	24,43 ± 0,91	26,28 ± 2,77	23,03 ± 2,36	16,00 ± 0,87***↓
Скелетні м'язи	17,73 ± 0,74	20,84 ± 2,29*↑	18,74 ± 2,93	18,72 ± 1,68
Мозок	50,65 ± 0,15	51,91 ± 2,57	42,05 ± 3,98***↓	40,15 ± 3,67***↓

У нирках щурів за впливу тіосульфонатів ЕТС, АТС і ААТС у дозі 100 мг/кг супероксиддисмутазна активність знижувалася на 11,6%, 16% ($p \leq 0,05$) і 27% ($p \leq 0,001$) відповідно. Отримані результати підтверджують, що супероксиддисмутазна активність залежить від кількості накопичених у тканині продуктів перекисного окиснення ліпідів, а саме — зменшення СОД активності на тлі зниження вмісту ГПЛ у нирках щурів усіх дослідних груп (див. табл. 3.6).

Однак, за впливу тіосульфонатів ЕТС, АТС і ААТС у дозі 50 мг/кг супероксиддисмутазна активність зростала у нирках щурів на 23,02% ($p \leq 0,001$), 21,67% ($p \leq 0,001$) та 7,22% відповідно. Тіосульфонати можуть як підвищувати активність СОД, так і знижувати. Конкретний вплив може залежати від експериментальних умов, дозування та конкретної системи, що досліджується [32, 161]. У нирках щурів за дії ЕТС та АТС у дозі 50 мг/кг активність каталази

зростала на 14,23% ($p \leq 0,05$) та 11,07% відповідно, а в дозі 100 мг/кг – не змінювалась порівняно з контролем (див. табл. 3.8, 3.9).

У селезінці за дії АТС і ААТС в дозі 100 мг/кг встановлено зниження каталазної активності на 10,30 ($p \leq 0,05$) та 14,20% ($p \leq 0,01$) та супероксиддисмутази – на 11,21 та 14,86% ($p \leq 0,05$) відповідно. Вірогідне зниження каталазної активності у селезінці тварин III і IV груп, а також м'язів III групи ($p \leq 0,01$), корелює із зниженням ТБК-позитивних продуктів (див. табл. 3.7). Це може бути пов'язано із зниженням генерації активних форм кисню, зокрема пероксиду водню за дії S-естерів тіосульфокислот.

У селезінці за дії естерів в дозі 50 мг/кг показники активності ензимів антиоксидантного захисту були в межах фізіологічних значень, лише за впливу ААТС фіксувалося зниження активності СОД на 20,73% ($p \leq 0,001$) порівняно з контрольною групою.

У той час як у скелетних м'язах щурів за дії ЕТС у дозі 100 мг/кг спостерігалось зростання СОД активності на 12% ($p \leq 0,05$), а за дії АТС – зниження каталазної активності у тварин на 30,50 % ($p \leq 0,01$).

Подібна динаміка спостерігалася у скелетних м'язах тварин за дії ЕТС у дозі 50 мг/кг – зафіксовано достовірне зростання СОД активності на 17,54% ($p \leq 0,05$) порівняно з контрольною групою. А за дії АТС і ААТС в дозі 50 мг/кг спостерігалось достовірне зниження каталазної активності на 25,39 ($p \leq 0,001$) та 19,17% ($p \leq 0,01$) відповідно.

У мозку вірогідних змін активності СОД та каталази за впливу естерів сульфокислот в дозі 100 мг/кг не виявлено (див. табл. 3.8). А за дії ААТС в дозі 50 мг/кг зафіксовано зниження активності каталази на 3,50% ($p \leq 0,05$) та супероксиддисмутази на 20,75% ($p \leq 0,001$). Подібне зниження активності СОД в мозку виявлено за дії АТС в дозі 50 мг/кг на 16,98% ($p \leq 0,001$).

Зниження або підвищення рівня каталази може дати уявлення про окислювальний статус і ефективність системи антиоксидантного захисту в організмі. Каталаза – це ензим, який відіграє вирішальну роль у розщепленні пероксиду гідрогену на воду та кисень, тим самим захищаючи клітини від

окисного пошкодження. Зміни активності каталази можуть вказувати на зміни загального балансу між виробництвом активних форм кисню і антиоксидантним захистом.

3.3.3. Вплив S-естерів тіосульфокислот у дозах 100 та 50 мг/кг маси тіла на активність ензимів глутатіонової ланки антиоксидантної системи та вмісту відновленого глутатіону у тканинах щурів.

Глутатіонова ланка у наших дослідженнях представлена двома ензимами – глутатіонпероксидазою і глутатіонредуктазою, а також відновленим глутатіоном. Процеси пероксидації в клітинах тканин індукують утворені $O_2^{\cdot-}$ та H_2O_2 , основна роль у знешкодженні яких належить глутатіонпероксидазі, яка захищає клітини тканин від руйнівної дії АФО.

У результаті проведених досліджень за дії тіосульфонатів у дозі 100 мг/кг спостерігалось вірогідне зниження активності ГП у печінці тварин III та IV груп на 74 ($p \leq 0,001$) і 65% ($p \leq 0,001$) відповідно, у нирках II, III і IV груп — на 23 ($p \leq 0,001$), 30 ($p \leq 0,001$) і 27% ($p \leq 0,01$) відповідно, у м'язах III і IV груп — на 23 ($p \leq 0,001$) і 25% ($p \leq 0,05$) відповідно, у селезінці II групи — на 46,76% ($p \leq 0,001$), що може свідчити про пригнічення активності глутатіонової ланки антиоксидантного захисту у цих тканинах за дії досліджуваних речовин у даній дозі (табл. 3.7). Одержані результати можуть свідчити про певне інгібування детоксикаційної функції глутатіонової системи, яка бере активну участь у процесах знешкодження ксенобіотиків.

У той же час, було встановлено підвищення активності ГП у мозку та скелетних м'язах щурів II групи на 90 ($p \leq 0,01$) та 27% ($p \leq 0,01$), відповідно) за впливу ЕТС, та у селезінці щурів IV групи за впливу ААТС на 38,95% ($p \leq 0,01$), порівняно до активності ензиму в тканинах тварин контрольної групи (табл. 3.10). Активація ГП стає можливою, якщо у клітині є достатньо високий рівень внутрішньоклітинного ВГ, який є кофактором для реакцій, які каталізуються ГП, але ВГ також відіграє ключову роль у постійному відновленні груп селену,

що присутні у каталітичному центрі ензиму. Ці групи селену окиснюються під час реакцій глутатіонпероксидази [214].

Таблиця 3.10.

Активності ензимів системи глутатіонової ланки антиоксидантного захисту та вміст відновленого глутатіону в тканинах щурів за впливу S-естерів тіосульфокислот у дозі 100 мг/кг маси тіла ($M \pm m$, $n=5$)

Тканини	Групи тварин			
	I - Контроль	II - ЕТС	III - АТС	IV - ААТС
Глутатіонпероксидаза, мкмоль/хв × мг протеїну				
Печінка	12,44 ± 3,62	11,29 ± 2,07	3,24 ± 0,76***↓	4,32 ± 1,01***↓
Нирки	155,71 ± 7,05	119,46 ± 5,14***↓	109,35 ± 3,87***↓	113,78 ± 6,23***↓
Селезінка	39,05 ± 6,26	20,79 ± 6,97**↓	28,66 ± 8,65	54,26 ± 6,61**↑
Скелетні м'язи	52,93 ± 4,72	62,12 ± 2,26**↑	40,57 ± 3,06***↓	39,93 ± 7,85*↓
Мозок	37,81 ± 10,76	71,58 ± 10,04***↑	37,88 ± 8,08	34,92 ± 4,34
Глутатіонредуктаза, мкмоль НАДФН/хв × мг протеїну				
Печінка	2,93 ± 1,71	2,94 ± 0,74	3,09 ± 0,39	2,79 ± 0,59
Нирки	3,91 ± 0,59	3,29 ± 0,97	2,83 ± 0,42**↓	2,71 ± 0,37**↓
Селезінка	3,55 ± 0,91	3,73 ± 0,67	2,63 ± 0,51*↓	2,90 ± 0,81
Скелетні м'язи	1,72 ± 0,27	1,72 ± 0,26	1,73 ± 0,21	1,71 ± 0,27
Мозок	1,49 ± 0,41	1,87 ± 0,64	1,65 ± 1,02	1,02 ± 0,14*↓
Відновлений глутатіон, мкмоль/г				
Печінка	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,07 ± 0,01***↑	0,11 ± 0,02***↑
Нирки	0,16 ± 0,02	0,19 ± 0,02*↑	0,23 ± 0,04***↑	0,19 ± 0,02*↑
Селезінка	0,13 ± 0,03	0,07 ± 0,01**↓	0,06 ± 0,02**↓	0,06 ± 0,02**↓
Скелетні м'язи	0,15 ± 0,01	0,15 ± 0,03	0,14 ± 0,02	0,11 ± 0,02**↓
Мозок	0,07 ± 0,02	0,09 ± 0,02	0,05 ± 0,01*↓	0,07 ± 0,01

Важливим компонентом антиоксидантної системи є відновлений глутатіон, який швидко мобілізується в разі підвищеного вмісту пероксидів і відновлює їх у реакції, що супроводжується утворенням окисненого глутатіону,

який є токсичним для клітин [214]. У наших дослідженнях ми спостерігали зростання вмісту відновленого глутатіону у нирках щурів II ($p \leq 0,05$), III ($p \leq 0,01$), IV ($p \leq 0,05$) дослідних груп (на 19, 44 і 19% відповідно), порівняно до його вмісту в тканинах щурів контрольної групи (табл. 3.10). Високий вміст ВГ у тканині нирок, а також зростання його рівня у дослідних групах стосовно контролю, імовірно, може бути пов'язане із інтенсифікацією його синтезу *de novo* та утворенням надлишку через знижену активність ГП.

Встановлено вірогідне зниження вмісту ВГ у селезінці щурів усіх дослідних груп— на 46 ($p \leq 0,01$), 54 ($p \leq 0,01$) і 54% ($p \leq 0,01$) відповідно, в мозку III дослідної групи — на 29% ($p \leq 0,01$), у скелетних м'язах тварин IV дослідної групи — на 27% ($p \leq 0,01$). Зниження вмісту ВГ може бути пов'язано як з інтенсифікацією процесів ПОЛ в тканинах та посиленням його використання, так і пришвидшенням катаболізму глутатіону [214].

Глутатіонредуктаза підтримує фізіологічний рівень відновленого глутатіону в клітинах. Зниження активності ГР у нирках тварин III та IV груп — на 28% ($p \leq 0,01$) і 30% ($p \leq 0,01$) та селезінці — на 26% ($p \leq 0,01$) і 14%, а також мозку IV групи — на 32% ($p \leq 0,01$) порівняно з контролем можна пояснити виснаженням ензиму у реакціях відновлення дисульфідного зв'язку окисленого глутатіону (GSSG) до його сульфгідрильної форми (GSH). Оскільки каталітична активність ГР детермінується наявністю НАДФН, то отримані результати можуть свідчити про негативний вплив АТС і ААТС на інтенсивність утворення відновних еквівалентів у ПФШ в тканинах щурів.

За впливу S-естерів тіосульфонатів у дозі 50 мг/кг зафіксовано достовірне зростання активності ГП у печінці тварин II групи за дії ЕТС на 86,09% ($p \leq 0,001$), та III групи за дії АТС 30,47% ($p \leq 0,05$) (табл. 3.11).

Таблиця 3.11.

Активності ензимів системи глутатіонової ланки антиоксидантного захисту та вміст відновленого глутатіону в тканинах щурів за впливу S-естерів тіосульфокислот у дозі 50 мг/кг маси тіла ($M \pm m$, $n=5$)

Тканини	Групи тварин			
	I - Контроль	II – ETC	III - ATC	IV - AATC
Глутатіонпероксидаза, мкмоль/хв × мг протеїну				
Печінка	16,47 ± 1,94	30,65 ± 1,25***↑	21,49 ± 1,53*↑	17,48 ± 2,27
Нирки	52,97 ± 3,93	64,20 ± 3,63**↑	58,44 ± 3,35*↑	77,78 ± 3,97***↑
Селезінка	21,61 ± 0,75	18,72 ± 1,28**↓	21,01 ± 1,16	19,11 ± 2,50
Скелетні м'язи	59,96 ± 1,43	46,85 ± 2,24***↓	60,36 ± 4,22	69,16 ± 3,17**↑
Мозок	42,65 ± 3,74	51,41 ± 1,08***↑	55,05 ± 3,48***↑	41,31 ± 4,40
Глутатіонредуктаза, мкмоль/хв × мг протеїну				
Печінка	0,42 ± 0,09	0,35 ± 0,03	0,30 ± 0,01	0,22 ± 0,01***↓
Нирки	1,25 ± 0,31	2,00 ± 0,48*↑	0,88 ± 0,19↓*	1,44 ± 0,04
Селезінка	3,06 ± 0,68	2,70 ± 0,54	3,37 ± 0,21	3,01 ± 0,53
Скелетні м'язи	3,21 ± 0,19	4,79 ± 0,56***↑	3,65 ± 0,27*↑	4,15 ± 0,30***↑
Мозок	2,52 ± 0,07	2,98 ± 0,35*↑	2,61 ± 0,17	2,51 ± 0,25
Відновлений глутатіон, мкмоль/г				
Печінка	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,07 ± 0,01***↑	0,11 ± 0,02***↑
Нирки	0,28 ± 0,03	0,34 ± 0,04*↑	0,27 ± 0,03	0,44 ± 0,01***↑
Селезінка	0,19 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,18 ± 0,01
Скелетні м'язи	0,09 ± 0,03	0,06 ± 0,01	0,18 ± 0,03**↑	0,06 ± 0,02
Мозок	0,27 ± 0,01	0,34 ± 0,02*↑	0,28 ± 0,02	0,26 ± 0,02

Це свідчить, що тіосульфонати у нижчих дозах можуть стимулювати активність ГП у печінці, тоді як у вищих дозах вони її пригнічують. Також достовірно зростала активність ГП у нирках тварин II III, IV дослідних груп на 21,20% ($p \leq 0,05$), 10,33%, 46,84% ($p \leq 0,001$) відповідно, у мозку щурів II та III груп — на 20,54 ($p \leq 0,001$) та 29,07% ($p \leq 0,001$) відповідно, у скелетних м'язах IV групи — на 15,34% ($p \leq 0,05$). У той час як у скелетних м'язах щурів II групи,

які споживали ЕТС, активність ГП була нижчою на 21,21% ($p \leq 0,001$) ніж в контрольній групі, водночас активність ГР – на 49,22% ($p \leq 0,01$) вищою, а вміст відновленого глутатіону достовірно не відрізнявся від показника контрольної групи. Зниження активності глутатіонпероксидази може свідчити про використання ВГ глутатіонтрансферазою.

Активування ГП за дії тіосульфонатів у дозі 50 мг/кг можливе за умови підтримки достатньо високого рівня внутрішньоклітинного ВГ, який виступає не лише як субстрат для реакцій, але є необхідним фактора для постійного відновлення селенольних груп ензиму, що розташовані в каталітичному центрі та піддаються окисненню під час глутатіонпероксидазної реакції. Це підтверджується достовірним збільшенням концентрації ВГ в печінці на 48% ($p \leq 0,001$) та 155% ($p \leq 0,001$) за дії АТС і ААТС відповідно, а також у нирках – на 18,77 ($p \leq 0,05$) та 54,91% ($p \leq 0,001$) за дії ЕТС і ААТС відповідно. Це свідчить про те, що в менших дозах естери тіосульфонатів можуть посилювати антиоксидантну здатність печінки і нирок за рахунок збільшення вмісту ВГ.

Глутатіонредуктаза є ключовим ензимом, який бере участь у підтримці відновленої форми глутатіону, що має вирішальне значення для нейтралізації АФО і детоксикації шкідливих речовин. У нирках тіосульфонати по-різному впливали на показник активності ГР та вміст ВГ. Так, у нирках щурів за впливу ЕТС та ААТС спостерігалася підвищена активність глутатіонредуктази на 60,74% ($p \leq 0,001$) та 15,41% відповідно, на тлі підвищеного вмісту ВГ (табл. 3.11), що свідчить про позитивний вплив цих естерів на синтез ВГ шляхом ГР реакції відновлення окисленого глутатіону.

У нирках щурів за дії АТС, та у печінці за дії ААТС у дозі 50 мг/кг маси тіла зафіксовано зниження активності ГР на 29,60% ($p \leq 0,05$) та 47,62% ($p \leq 0,001$). Це може свідчити про те, що підвищений рівень ВГ у печінці та незмінний у нирках за цих сполук може бути за рахунок синтезу його *de novo* у клітинах.

У селезінці показники активності ензимів глутатіонової ланки та вміст відновленого глутатіону знаходились в межах фізіологічних коливань і не

відрізнялися від показників контрольної групи. У скелетних м'язах тварин прослідковувався позитивний антиоксидантний ефект від дії тіосульфонатів. Так, глутатіонредуктазна активність вірогідно підвищується у II, III та IV групах на 49,22 ($p \leq 0,001$), 13,71 ($p \leq 0,05$), 29,28% ($p \leq 0,001$) відповідно, порівняно з контрольною групою. У крові тварин III дослідної групи за дії АТС також зафіксовано достовірне у двічі підвищення рівня відновленого глутатіону ($p \leq 0,01$). У мозку щурів за дії ЕТС в дозі 50 мг/кг встановлено вірогідне підвищення активності ГР на 18,25% ($p \leq 0,05$) на тлі зростання рівня ВГ на 25,92% ($p \leq 0,05$). За впливу АТС і ААТС не виявлено вірогідних змін вмісту ВГ, як і показників активності ГР (див. табл. 3.11).

Висновки

1. Виявлено, що усі досліджувані сполуки: ЕТС, АТС, ААТС у дозі 100мг/кг знижували вміст продуктів ПОЛ у нирках та селезінці. Зокрема, зниження вмісту гідропероксидів у нирках супроводжувалося зниженням активності СОД, ГП і ГР, однак підвищення рівня відновленого глутатіону. У селезінці зменшення вмісту ТБК-позитивних продуктів супроводжувалося зниженням каталазної активності та вмісту ВГ.

2. У м'язах за дії ААТС у дозі 100мг/кг спостерігалось зниження вмісту продуктів ПОЛ на тлі зменшення активності ГП і вмісту ВГ, за дії ЕТС, АТС – на рівні контролю. Тіосульфонати у дозі 50 мг/кг спричиняли пониження вмісту продуктів ПОЛ в м'язах.

3. В мозку зафіксовано зниження вмісту продуктів ПОЛ тільки за дії ЕТС. У той же час дія АТС зумовлювала зростання вмісту гідропероксидів ліпідів у селезінці і мозку. Це може бути зумовлено як специфікою та фізіологічними особливостями цих тканин, так і біохімічними особливостями досліджуваних сполук.

4. Тіосульфонати ЕТС, АТС, ААТС можуть мати диференційований вплив на утворення відновлювальних еквівалентів у печінці, що може впливати на активність глутатіонової ланки АОС в клітинах печінки.

5. У печінці щурів тіосульфонати у нижчій дозі були більш ефективними для підтримки окисно-відновний балансу. За дії тіосульфонатів у дозі 50 мг/кг знижувався вміст ГПЛ та ТБК-позитивних продуктів, а супероксиддисмутаза та каталазна активності зростали.

Результати досліджень опубліковані у працях: [98], [99], [96], [220], [222], [223], [213], [99], [102].

3.4. Біохімічні особливості дії ЕТС, АТС та ААТС в дозах 50 і 100 мг/кг маси тіла на окремі показники білкового обміну в крові щурів.

3.4.1. Визначення загальної концентрації білка та його фракцій у плазмі крові за дії ЕТС, АТС та ААТС.

Однією з основних метаболічних систем, що визначає фізіолого-біохімічний гомеостаз організму є білковий обмін. Білки є досить лабільною системою, що відображає стан організму, а також зміни, які в ньому відбуваються під впливом внутрішніх та зовнішніх чинників [68]. Загальна концентрація білка в плазмі крові характеризує забезпеченість організму пластичними та поживними речовинами [208]. У дослідженнях виявлено зростання загальної концентрації білка в плазмі крові щурів за дії ЕТС і АТС у дозі 100 мг/кг (табл. 3.12) на 14,85% ($p < 0,001$) і 14,46% ($p < 0,001$) відповідно, порівняно з контролем. Також виявлено тенденцію до збільшення показника загального білка у крові тварин за дії ААТС в дозах 100 і 50 мг/кг (табл. 3.12, 3.13). Отримані результати свідчать про інтенсифікацію біосинтезу білків за впливу досліджуваних естерів сульфокислот. Фракційний склад білків плазми крові є важливим показником змін метаболічних процесів в організмі. Результати дослідження показали, що тіосульфонати у досліджуваних дозах 100

та 50 мг/кг по-різному впливали на вміст білкових фракцій та значення білкового коефіцієнту (А/Г) у плазмі крові щурів (табл. 3.12, 3.13).

Таблиця 3.12.

Загальний вміст та фракційний склад білків крові щурів та білковий коефіцієнт (А/Г) за дії S-естерів тіосульфонатів у дозі 100 мг/кг маси тіла.

Досліджувані показники	I - Контроль	II - ЕТС	III - АТС	IV - ААТС
Загальні білки, г/л	38,32±2,32	44,01±1,37***↑	43,86±0,78***↑	39,31±1,61
Фракції білків, % від загальних білків				
Альбуміни, %	38,16±3,28	44,79±2,83**↑	44,88±3,28**↑	35,80±3,00
α - глобуліни, %	28,22±2,82	21,30±2,49**↓	21,39±1,50**↓	23,98±3,09*↓
β-глобуліни, %	17,10±3,93	17,02±2,56	16,02±1,44	11,46±2,54*↓
γ- глобуліни, %	16,51±2,65	16,89±2,08	17,71±1,81	28,77±3,73***↑
Білковий коефіцієнт (співвідношення альбумінів до глобулінів)				
А/Г	0,62±0,09	0,81±0,09**↑	0,82±0,11*↑	0,56±0,07

Збільшення загальної концентрації білка в плазмі крові тварин II та III груп відбувалося внаслідок збільшення концентрацій альбуміну, на тлі зниження вмісту фракції α-глобулінів. Зокрема, за дії ЕТС та АТС фракція альбумінів, які вважаються маркерами білкового обміну, вірогідно збільшувалася в середньому на 17% ($p \leq 0,01$). Збільшення вмісту альбумінів у крові в межах референтних значень може бути пов'язано з покращення біосинтетичної функції печінки та гепатопротекторної дії досліджуваних тіосульфонатів. За дії ЕТС та АТС фракції α-глобулінів знижувалися в середньому на 24% ($p \leq 0,01$) в обох групах, а вміст фракцій β- та γ- глобулінів не відрізнявся від їх вмісту в плазмі крові тварин контрольної групи. Водночас це призводило до зростання білкового коефіцієнту А/Г у II та III групах на 30,65 ($p \leq 0,01$) та 32,26% ($p \leq 0,01$) відповідно і наближення його до референтних значень. По-іншому розподілявся фракційний склад білків за дії ААТС в крові

тварин IV групи (табл.3.9). Тенденція до зростання загальної концентрації білка в цій групі відбувалася внаслідок зростання на 74,26% ($p \leq 0,001$) фракції γ -глобулінів, на фоні зниження вмісту фракцій α - та β -глобулінів (на 15,02 ($p \leq 0,05$), 32,98% ($p \leq 0,05$) відповідно). Тому значення білкового коефіцієнту мало тенденцію до зниження порівняно з контрольною групою. Зростання кількості γ -глобулінів (або імуноглобулінів) у плазмі крові щурів IV групи може свідчити про активацію специфічного гуморального імунітету тварин за дії ААТС у дозі 100 мг/кг.

За дії тіосульфатів у дозі 50 мг/кг (табл. 3.13) виявлено вірогідне зростання кількості альбумінів в усіх дослідних групах, зокрема за дії ЕТС на 12,80% ($p < 0,01$), АТС – на 17,13% ($p \leq 0,001$), ААТС – на 9,78% ($p \leq 0,01$), що очевидно, є позитивним ефектом, оскільки альбуміни відіграють значну роль у підтримці колоїдно-осмотичного тиску у крові, перенесенні різних екзогенних речовин та метаболітів і є важливим джерелом амінокислот для організму.

Таблиця 3.13.

Загальний вміст та фракційний склад білків крові щурів та білковий коефіцієнт (А/Г) за дії S-естерів тіосульфатів у дозі 50 мг/кг маси тіла

Досліджувані показники	I - Контроль	II - ЕТС	III - АТС	IV - ААТС
Загальні білки г/л	37,13 ± 1,97	34,84±1,05	36,34±0,69	38,84±1,43
Фракції білків, % від загальних білків				
Альбуміни, %	38,35 ± 0,89	43,26±1,50**↑	44,92± 0,95***↑	42,10 ± 0,83**↑
α - глобуліни,%	22,95 ± 1,39	19,20 ± 1,19*↓	21,41 ± 0,88	19,46 ± 1,28*↓
β -глобуліни, %	27,27 ± 1,01	27,13 ± 0,60	23,50 ± 1,81*↓	29,34 ± 1,33
γ - глобуліни, %	11,43 ± 1,54	10,42±0,45	10,18±1,00	9,80 ± 1,06
Білковий коефіцієнт (співвідношення альбумінів до глобулінів)				
А/Г	0,62 ± 0,02	0,76 ± 0,05***↑	0,82 ± 0,04***↑	0,73 ± 0,03***↑

На фракцію глобулінів тіосульфати впливали по-різному: ЕТС та ААТС знижували кількість фракції α -глобулінів на 16,24 ($p \leq 0,05$) та 15,21% ($p \leq 0,05$),

відповідно, а АТС спричиняв достовірне зниження вмісту β -глобулінів на 13,83% ($p \leq 0,01$). Кількість фракцій γ -глобулінів плазми крові тварин усіх дослідних груп достовірно не відрізнялися від контрольної (табл. 3.13).

Важливу роль відіграє зростання білкового коефіцієнту (А/Г) за дії ЕТС (на 38,18%, $p \leq 0,001$), АТС (49,09%, $p \leq 0,001$), ААТС (32,73%, $p \leq 0,001$) і наближення їх до референтних значень у порівнянні з групою контролю.

3.4.2. Вплив естерів тіосульфокислот на біохімічні показники білкового обміну у плазмі крові щурів.

У результаті проведених досліджень було встановлено вірогідне зростання аспартатамінотрансферазної активності у крові на 38% за дії ЕТС і ААТС та на 34,78% – за дії АТС у дозі 100 мг/кг, а за дії ЕТС і ААТС в дозі 50 мг/кг вірогідних змін не спостерігалось, а була виявлена лише незначна тенденція до зростання активності цього ензиму (табл. 3.14).

Виявлене підвищення активності АсАТ, що не виходить за межі норми, може бути зумовлене реакцією організму на екзогенне введення розчинів естерів сульфокислот.

Вимірювання АсАТ активності здійснюється разом з дослідженнями АлАТ активності, як складової частини загального аналізу функціонування печінки і міокарду. АсАТ і АлАТ вважаються двома найбільш важливими показниками пошкодження тканин, хоча АлАТ є більш специфічною для тканин печінки, ніж АсАТ. У дослідженнях виявлено зниження АлАТ активності у крові щурів на 19,77 ($p \leq 0,01$) і 17,58% ($p \leq 0,05$), за дії АТС в дозах 100 і 50 мг/кг відповідно, та на 18,60% ($p \leq 0,05$) – за дії ААТС в дозі 100 мг/кг. Однак за дії ЕТС в дозі 50 мг/кг виявлено незначне зростання активності ензиму на 15,38% ($p \leq 0,05$).

Важливим показником для діагностики патологічних процесів у тканинах організму є коефіцієнт де Рітіса – це відношення АсАТ/АлАТ.

Таблиця 3.14

Біохімічні показники білкового обміну в крові щурів за впливу ЕТС, АТС та ААТС ($M \pm m$, $n = 5$)

Досліджувані показники	I - Контроль	II - ЕТС	III - АТС	IV - ААТС
Доза – 100 мг/кг				
АсАТ, мккат/л	0,92±0,09	1,27±0,06***↑	1,24±0,09*↑	1,27±0,10**↑
АлАТ, мккат/л	0,86±0,06	0,97±0,05	0,69±0,03**↓	0,70±0,05*↓
Коефіцієнт де Рітиса	1,06 ± 0,15	1,31 ± 0,05*↑	1,8 ± 0,17***↑	1,81±0,19***↑
Лужна фосфатаза, мккат/л	4,85±0,89	5,26 ± 0,81	4,73 ± 0,88	4,87 ± 0,83
Сечовина, ммоль/л	6,17±0,60	5,40±0,41	5,40±0,08*↓	4,95±0,29**↓
Доза – 50 мг/кг				
АсАТ, мккат/л	1,04±0,16	1,22±0,25	1,06±0,25	1,46±0,11*↑
АлАТ, мккат/л	0,91±0,03	1,05±0,06*↑	0,75±0,08*↓	0,83±0,07
Коефіцієнт де Рітиса	1,14 ± 0,34	1,16 ± 0,33	1,39 ± 0,39	1,75 ± 0,05*↑
Лужна фосфатаза, мккат/л	4,71±0,55	4,87 ± 0,10	3,50±0,17**↓	3,87±0,30*↓
Сечовина, ммоль/л	7,15±0,41	5,13±0,85**↓	4,83±0,46***↓	5,93±0,54**↓

Зростання цього показника можуть свідчити про різні стани та порушення в організмі. Виявлене підвищення цього коефіцієнта — показника активності печінкових ензимів за дії естерів тісульфоокислот, не виходить за межі норми. Це пов'язано зі збільшенням активності АсАТ та зниженням АлАТ в крові щурів. Збільшення коефіцієнта де Рітиса може вказувати на зміни у процесах глюконеогенезу через глюкозоаланіновий шунт із використанням АлАТ, який є необхідним для підтримки адекватного рівня глюкози у крові, що надалі призводить до зростання активності трансаміназ.

Активність лужної фосфатази, яка є важливим показником хвороб печінки,

Активність лужної фосфатази, яка є важливим показником хвороб печінки і є найбільш широко використовуваним індикатором гепатобіліарної хвороби. Підвищення її активності в сироватці крові часто вказує на пошкодження печінки [54], а також і на порушення мінерального обміну [183]. У наших дослідженнях активність ЛФ залишалася без змін при використанні естерів сульфокислот у дозі 100 мг/кг. Проте при застосуванні дози 50 мг/кг виявлено зниження активності цього ензиму на 25,69% ($p \leq 0,01$) за дії АТС, та на 17,83% ($p \leq 0,05$) за впливу ААТС. Це може бути пов'язане з пригніченням обміну фосфору та кальцію в організмі.

Для оцінки фізіологічної функції печінки та стану білкового обміну в організмі використовують показник концентрації сечовини в плазмі крові. За дії ЕТС, АТС і ААТС в дозі 50 мг/кг виявлено вірогідне зменшення концентрації сечовини в плазмі крові щурів на 28,45 ($p \leq 0,01$), 32,45 ($p \leq 0,001$) і 17,06% ($p \leq 0,01$) відповідно, а в дозі 100 мг/кг вірогідне зниження спостерігалось за дії АТС та ААТС на 12,48 ($p \leq 0,05$) та 19,77% ($p \leq 0,01$) відповідно. Зниження вмісту сечовини може бути пов'язано із прискореним анаболізмом білків та поліурією. А оскільки сечовина виводиться нирками, її визначення в крові дає уявлення про функціональні властивості нирок і найбільш широко використовується для діагностики ниркової патології [113].

Висновки

1. Естери сульфокислот здійснювали білоксинтезувальну функцію, що підтверджено зростанням концентрації загального білка в плазмі крові та зниженням сечовини – кінцевого продукту їх розпаду.
2. Естери сульфокислот у досліджуваних дозах не проявляли гепатотоксичної дії на організм щурів, на що вказує нормальна (в межах норми) активність у плазмі крові індикаторних для печінки ензимів (АсАТ, АлАТ і лужної фосфатази).

3. Тіосульфонати викликали підвищення фракції альбумінів та білкового коефіцієнту, окрім ААТС у дозі 100мг/кг.

4. За дії усіх досліджуваних тіосульфонатів у дозі 100мг/кг спостерігалось зниження фракції α -глобулінів, а у дозі 50 мг/кг – зниження γ -глобулінів. Зниження фракції β -глобулінів зафіксовано за дії АТС у дозі 50мг/кг та ААТС у дозі 100мг/кг. Зростання фракції γ -глобулінів встановлено у крові щурів за дії ААТС у дозі 100мг/кг.

Результати досліджень опубліковані у працях: [73, 95, 97]

3.5. Біохімічні особливості дії ЕТС, АТС та ААТС в дозах 50 і 100 мг/кг маси тіла на вміст загальних ліпідів та окремих їх фракцій у плазмі крові щурів.

При проведенні експериментальних досліджень, за впливу ААТС у дозі 100 мг/кг маси тіла, у плазмі крові щурів спостерігалось достовірне зниження на 6,76% ($P \leq 0,05$) вмісту загальних ліпідів (табл. 3.15). У той час як за впливу ЕТС і АТС у дозі 100 мг/кг вміст загальних ліпідів достовірно не змінювався, спостерігалась лише тенденція до їх зменшення на 5,40% в II групі та незначне зростання на 6,56% у III групі. Однак за впливу ЕТС та АТС у дозі 50 мг/кг маси тіла вміст загальних ліпідів достовірно знижувався у плазмі крові на 17,5 ($P \leq 0,01$) бта 18,0% ($P \leq 0,01$) відповідно (табл. 3.16), що свідчить про те, що саме у нижчій дозі ці естери проявляють гіполіпідемічний ефект. Вміст загальних ліпідів у крові щурів за дії ААТС в дозі 50 мг/кг не відрізнявся від показника контрольної групи, що свідчить про те що гіполіпідемічний ефект даної сполуки проявлявся у вищій дозі (100 мг/кг). Отримані результати можуть вказувати на посилення активності катаболічних процесів і мобілізацію ліпідів як джерела енергії внаслідок активації ензиму ліпопротеїнліпази, що розщеплює ліпіди крові, або їх використання в адаптивних перебудовах ліпідного шару клітинних мембран. Отримані результати узгоджуються з

даними інших авторів, які встановили зниження вмісту загальних ліпідів у печінці щурів за впливу синтетичних тіосульфонатів [153].

У плазмі крові щурів досліджували відносний вміст класів ліпідів — неестерифікований та естерифікований холестерол, моно- і диацилгліцероли, триацилгліцероли, неестерифіковані жирні кислоти, фосфоліпіди.

Зниження вмісту загальних ліпідів в плазмі крові тварин за дії естерів сульфокислот відбувалося за рахунок зменшення вмісту триацилгліцеролів та естерифікованого холестеролу. Це свідчить, що досліджувані сполуки пришвидшують розпад резервних ліпідів триацилгліцеролів та естерів холестеролу.

Таблиця 3.15.

Вміст загальних ліпідів та співвідношення їх окремих фракцій у плазмі крові за дії естерів тіосульфонатів в концентрації 100 мг/кг маси тіла

Досліджувані показники	Контроль	ЕТС	АТС	ААТС
Загальні ліпіди, г/л	5,18±0,34	4,90±0,23	5,52±0,54	4,83 ±0,18*↓
Фракції ліпідів, % від загальних ліпідів				
Триацилгліцероли, %	7,48±0,43	6,91 ±0,57*↓	4,34±0,67**↓	5,99 ±0,44***↓
Моно- і диацилгліцероли, %	16,89±1,20	20,05±2,04*↑	16,96±1,18	19,85 ±1,99**↑
Естерифікований холестерол, %	18,03±2,18	10,02±1,46***↓	4,67±0,81***↓	3,92±0,97***↓
Неестерифікований холестерол, %	6,85±1,26	7,18±1,38	13,18±1,17***↑	7,63 ±1,42
ВЖК (НЕЖК), %	4,21 ±0,72	6,48±0,24***↑	4,94±0,67	8,94±0,96***↑
Фосфоліпіди, %	46,55±2,24	49,36±2,66	55,92 ±3,97**↑	53,69±4,63**↑

Дане твердження базується на отриманих результатах досліджень, де встановлене вірогідне зменшення відносного вмісту триацилгліцеролів у плазмі крові тварин за впливу ЕТС, АТС і ААТС в дозі 100 мг/кг, відповідно на 7,62% ($p \leq 0,05$), 41,98% ($p \leq 0,01$) і 19,92 % ($p \leq 0,001$), відносно тварин контрольної

групи (див. табл.3.4). У той же час відносний вміст моно- і диацилгліцеролів зростав за дії ЕТС на 18,71% ($p \leq 0,05$) та ААТС – на 17,52% ($p \leq 0,01$).

Відносний вміст триацилгліцеролів за дії ЕТС, АТС та ААТС у дозі 50 мг/кг маси тіла достовірно зменшувався у крові щурів на 14,13% ($p \leq 0,01$), 16,75% ($p \leq 0,001$) та 7,54% ($p \leq 0,05$) відповідно. Цікаво, що вміст триацилгліцеролів у плазмі крові тварин, які споживали АТС як у дозі 100, так і 50 мг/кг (див. табл. 3.15, 3.16), був нижчим відносно дослідних груп тварин, які споживали ЕТС та ААТС. Зменшення вмісту триацилгліцеролів у крові може свідчити про їх розпад до ди- і моногліцеролів, що підтвердили отримані результати. Їх вміст вірогідно зростав за впливу ЕТС, АТС, ААТС в дозі 50 мг/кг на 15,71% ($p \leq 0,05$), 49,13% ($p \leq 0,001$), 32,09% ($p \leq 0,01$) відповідно, порівняно до контролю (табл. 3.16).

У дослідженнях встановлено достовірне зниження відносного вмісту естерифікованого холестеролу за дії ЕТС, АТС і ААТС в дозі 100 мг/кг на 44,42 ($p \leq 0,001$), 74,10 ($p \leq 0,001$), 78,25% ($p \leq 0,001$) відповідно (табл. 3.4.). Це може свідчити про збільшення гідролізу естерів холестеролу, які виконують роль резервної і транспортної форми холестеролу, за допомогою холестерол-естерази. В результаті цього естерифікований холестерол розщеплюється на неестерифікований холестерол та жирні кислоти.

Таким чином, виявлено вірогідне збільшенням вмісту неестерифікованого холестеролу у тварин за впливу АТС в дозі 100 мг/кг на 92,41% ($p \leq 0,001$) та незначне збільшення за дії ЕТС і ААТС на 4,82% і 11,39% відповідно, відносно контрольної групи. Крім цього варто зазначити, що вміст неестерифікованого холестеролу у тварин III групи, які споживали АТС, був вищим відносно II та IV дослідних груп, які споживали ЕТС та ААТС.

Подібна тенденція спостерігалася і за впливу естерів сульфокислот в дозі 50 мг/кг (табл. 3.16), зокрема виявлено зниження вмісту естерифікованого холестеролу за дії АТС і ААТС на 39,77 ($p \leq 0,001$) та 44,10% ($p \leq 0,001$) відповідно, що супроводжувалося підвищенням неестерифікованого холестеролу за дії ААТС на 40,83% ($p \leq 0,01$).

Отримані результати свідчать, що активність ензиму, який контролює етерифікацію холестеролу — *лецитин(фосфатидилхолін)-холестерол-ацилтрансфераза* є низькою в крові тварин дослідних груп. Зниження рівня естерифікованого холестеролу в крові сприяє зменшенню ризику утворення холестеринових бляшок в судинах і розвитку серцево-судинних захворювань. Організм регулює рівень естерифікованого холестеролу за допомогою ензимів, які відповідають за етерифікацію та гідроліз холестеролу, а також за допомогою рецепторів, які контролюють його обмін у клітинах та тканинах, забезпечуючи їм нормальне функціонування.

Таблиця 3.16

Вміст загальних ліпідів та співвідношення їх окремих фракцій у плазмі крові за дії естерів тіосульфонатів в концентрації 50 мг/кг маси тіла

Досліджувані показники	Контроль	ЕТС	АТС	ААТС
Загальні ліпіди, г/л	4,00±0,25	3,3±0,27**↓	3,28±0,24**↓	4,04 ±0,77
Фракції ліпідів, % від загальних ліпідів				
Триацилгліцероли, %	12,60±0,50	10,82±0,27**↓	10,49±0,34***↓	11,65±0,38*↓
Моно- і диацилгліцероли, %	7,51±0,75	8,69±0,57*↑	11,20±1,19***↑	9,92±1,32**↑
Естерифікований холестерол, %	18,23±1,52	19,72±0,88	10,98±0,74***↓	10,19±1,26***↓
Неестерифікований холестерол, %	6,27±0,88	5,94±0,59	7,55±0,99	8,83±0,57**↑
ВЖК (НЕЖК), %	9,48±1,45	8,44±0,74	12,16±0,41**↑	12,57±0,97**↑
Фосфоліпіди,%	45,92±0,57	46,38±1,27	47,62±1,06*↑	46,84±1,99

В результаті гідролізу естерифікованого холестеролу утворюються вищі жирні кислоти, зростання вмісту яких і зафіксовано у крові тварин дослідних груп. Зокрема, встановлено достовірне зростання ВЖК у крові щурів за дії ЕТС та ААТС в дозі 100 мг/кг на 53,92 % ($p \leq 0,001$) і 112,35 % ($p \leq 0,001$) відповідно (табл. 3.15). Аналогічно достовірно збільшувався відносний вміст

неестерифікованих жирних кислот в крові тварин за дії АТС та ААТС в дозі 50 мг/кг на 28,27 % ($p \leq 0,01$) та 32,59 % ($p \leq 0,01$) відповідно (табл. 3.16). Це може бути зумовлено як гідролізом естерифікованого холестеролу, так і посиленням ліполізу і розпадом триацилгліцеролів. Зазвичай далі вони можуть піддаватися розщепленню шляхом β -окислення або етерифікації та зберігаються у вигляді триацилгліцеролів.

У дослідженнях встановлено, що вміст фосфоліпідів достовірно збільшувався у плазмі щурів за дії АТС і ААТС в дозі 100 мг/кг – на 20,13 ($p \leq 0,01$) і 8,77% ($p \leq 0,01$) відповідно, та незначно за дії ЕТС – на 6,04% (табл. 3.15). За впливу АТС у дозі 50 мг/кг маси тіла вміст фосфоліпідів у плазмі крові щурів достовірно збільшувався на 3,70 % ($p \leq 0,05$), а в інших дослідних групах проявляв тенденцію до зростання щодо показника у тварин контрольної групи (табл. 3.16). Оскільки фосфоліпіди у плазмі крові виконують транспортну функцію, то їхнє зростання має важливу роль для транспортування холестеролу, жирних кислот, а також новосинтезованих естерів сульфокислот, які вводяться в організм.

Отримані результати відносно вмісту класів ліпідів (табл. 3.15 і 3.16.) підтвердилися дослідженнями абсолютних показників триацилгліцеролів і холестеролу на біохімічному аналізаторі (табл. 3.17).

Так, у результаті досліджень на біохімічному аналізаторі виявлено вірогідне зниження в крові абсолютних показників вмісту триацилгліцеролів (табл. 3.6) за дії ЕТС, АТС і ААТС в дозі 100 мг/кг на 18,60 ($p \leq 0,05$), 32,55 ($p \leq 0,01$) і 41,86% ($p \leq 0,001$) та у дозі 50 мг/кг – на 137% ($p \leq 0,001$), 78% ($p \leq 0,05$), 60% ($p \leq 0,05$) відповідно. Виявлене вірогідне зниження концентрації триацилгліцеролів у крові тварин дослідних груп може вказувати на їх розпад та пригнічення їх ресинтезу з вільних жирних кислот і гліцеролу.

Таблиця 3.17.

**Вміст триацилгліцеролів та холестеролу в крові щурів за дії естерів
тіосульфокислот за даними біохімічного аналізатора**

Досліджувані показники (ммоль/л)	I - Контроль	II - ЕТС	III - АТС	IV - ААТС
	100 мг/кг маси тіла			
Триацилгліцероли	0,43±0,04	0,35±0,04*↓	0,29±0,03**↓	0,25±0,04***↓
Холестерол	1,26±0,15	1,38±0,16	1,56±0,03	1,39±0,14
	50 мг/кг маси тіла			
Триацилгліцероли	0,64±0,09	0,27±0,04***↓	0,36±0,02*↓	0,40±0,05*↓
Холестерол	1,89±0,12	1,49±0,10*↓	2,01±0,22	1,57±0,13

У дослідженнях виявлено вірогідне зниження на 26,85% ($p \leq 0,05$) концентрації холестеролу в крові щурів за дії ЕТС в дозі 50 мг/кг та тенденція до зростання на 6,03% за дії АТС у цій же дозі (табл. 3.17). У той час як за дії естерів сульфокислот у дозі 100 мг/кг вірогідних змін вмісту холестеролу не спостерігалось, лише прослідковувалась тенденція до зростання на 19,23% за дії АТС, що очевидно зумовлене його неестерифікованою фракцією та підтверджується даними таблиць 3.15 і 3.16. Зниження концентрації холестеролу за дії ЕТС у дозі 50 мг/кг в крові тварин може бути обумовлена високою швидкістю його використання для формування клітинних мембран, синтезу жовчних кислот, віт. Д та стероїдних гормонів [92], а це, у свою чергу, сприятиме зменшенню утворення ліпопротеїнів низької щільності.

Висновки

1. При проведенні експериментальних досліджень встановлено, що вміст загальних ліпідів у крові дослідних тварин знижувався за дії ААТС у дозі 100 мг/кг маси тіла, а за дії ЕТС і АТС у дозі 50 мг/кг маси тіла. Це свідчить про те що гіполіпідемічний ефект ААТС проявлявся у вищій дозі, ніж ЕТС і АТС.

2. ЕТС достовірно знижував вміст загальних ліпідів у плазмі крові у концентрації 50 мг/кг маси тіла за рахунок незначного зниження фракцій триацилгліцеролів, неестерифікованого холестеролу і НЕЖК.

3. АТС спричиняє достовірне зниження вмісту загальних ліпідів у плазмі крові у дозі 50 мг/кг маси тіла за рахунок триацилгліцеролів та естерифікованого холестеролу.

4. ААТС спричиняє достовірне зниження вмісту загальних ліпідів у плазмі крові у дозі 100 мг/кг маси тіла за рахунок естерифікованого холестеролу та триацилгліцеролів.

5. Збільшення вмісту вільних жирних кислот у крові за дії естерів тіосульфонатів у дозах 100 та 50 мг/кг маси тіла, може бути наслідком посиленого ліполізу у жировій тканині та гідролізу естерифікованого холестеролу.

Результати досліджень опубліковані у працях: [73, 97].

РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Здатність сульфуру перебувати в різних ступенях окиснення дає низку моно-та дисульфуровмісних речовин, серед яких S-естери тіосульфокислот $\text{RSO}_2\text{SR}'$, які є ефективними сульфенілюючими та сульфонілюючими сполуками з широким спектром біологічної активності [10]. Висока реакційна здатність S-естерів тіосульфокислот є результатом особливостей будови тіосульфогрупи ($-\text{SO}_2-\text{S}-$), внаслідок високої полярності зв'язку S-S, який, у свою чергу, залежить від природи кислотного і тіольного складників, що впливає на їхню біологічну активність та визначає сферу їх можливого практичного застосування [156][117].

Синтетичні S-естери тіосульфокислот є спорідненими з природними речовинами, такими як фітонциди, виділені з часнику, цибулі, різних видів капусти, а також морського їжака *Echinocardium cordatum* [15, 134]. Вони мають схожу структуру із цими речовинами, які відомі своїми корисними властивостями [138, 146]. Естери тіосульфокислот крім низької токсичності мають сильніші лікувальні властивості і є стабільнішими, ніж їх близький аналог природний антибіотик аліцин – діюча субстанція культури родини *Alliaceae* [139]. Дослідниками встановлена протипухлинна активність S-естерів тіосульфокислот [65]. Зокрема виявлено, що S-метилметантіосульфонат проявляє антимуtagenну та антиоксидантну активність у дослідах на еритроцитах кролів та гепатоцитах щурів [134]. Встановлено механізми антимікробної дії тіосульфонатів [142]. Виявлено, що алілсульфіди проявляють свою антибактеріальну дію, реагуючи з сульфгідрильними групами багатьох ензимів, пов'язаних з метаболізмом у бактеріях [86]. Крім цього, вони здатні регулювати сигнальні молекули та фактори позаклітинної вірулентності синьо

гнійної палички (*Pseudomonas aeruginosa*) *in vivo* та *in vitro* шляхом пригнічення експресії *las*, *rhl* та *pqs* генів. Високий індекс і широкий спектр антимікробної активності тіосульфоестерів, їх стабільність та низька токсичність дозволили запропонувати ці сполуки як лікарські засоби [111, 116].

Проведені дослідження *in vitro* антимікробних властивостей S-метил-4-амінобензентіосульфонату (МТС), ЕТС, S-аліл-4-амінобензентіосульфонату (АТС), S-пропіл-4-амінобензентіосульфонату (ПТС) і S-аліл-4-ацетиламінобензентіосульфонату (ААТС). В результаті дослідження фунгібактерицидної активності синтетичних тіосульфоестерів щодо 5 референтних штамів тест-мікроорганізмів *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium luteum*, *Candida tenuis*, *Aspergillus niger*, встановлено, що серед досліджуваних естерів найвищу активність по відношенню до всіх штамів мікроорганізмів ілюструють ЕТС, АТС, ААТС. Визначено мінімальні значення інгібувальних і бактерицидних концентрацій щодо тестованих штамів мікроорганізмів, що дозволяє характеризувати досліджувані тіосульфоестери як перспективні антимікробні речовини, що можуть використовуватися для захисту кормів від контамінації їх грибами. При дослідженні *in vitro* радикал-поглинальної активності естерів сульфокислот було виявлено, що найвищу радикал-поглинальну активність проявляв АТС, дещо уступав по активності ААТС, який відрізняється будовою радикалу в п-положенні бензенового кільця. Ацилювання аміногрупи приводить до зниження радикал-поглинальної активності тіосульфонату. ЕТС проявляв дещо нижчу радикал-поглинальну активність, ніж АТС та ААТС, але все ж достатню, щоб проявляти антиоксидантні властивості.

Крім цього, дослідниками виявлено, що тіосульфонати, будучи джерелом сульфуру, беруть участь у детоксикації канцерогенів та стимулюють неспецифічний імунітет [142]. Встановлено, що дитіосульфоестери $\text{RSO}_2\text{S}(\text{CH}_2)_n\text{SO}_2\text{SR}_{(n=2-4)}$ проявляють антилейкозну активність [112]. Тіосульфонати є ефективними інгібіторами агрегації тромбоцитів, що може бути основою для створення нових антитромботичних препаратів [112]. Встановлено, що синтетичні алкілтіосульфонати проявляють антиоксидантну

дію та запобігають агрегації тромбоцитів, що індукована колагеном у щурів [76]. Їх протизапальна дія полягає в інгібуванні ферментів, які беруть участь у синтезі запальних простагландинів і тромбоксанів, інгібуванні активації NFκB і експресії прозапальних цитокінів і індукцибельної NO-синтази [164].

Участь тіосульфестерів у біохімічних процесах, і як наслідок рівень їх біологічної активності, залежать як від природи замісників сульфонільного та тіольного фрагментів, так і від положення введених в ці фрагменти різних функціональних груп. Тому взаємозв'язок будови та біологічної дії тіосульфоестерів використовують для цілеспрямованого синтезу нових біологічно активних субстанцій з комплексом заданих властивостей. Тому, для визначення напрямів практичного застосування синтезованих похідних тіосульфоокислот – S-етил-4-амінобензентіосульфонату (ЕТС), S-аліл-4-амінобензентіосульфонату (АТС) та S-аліл-4-ацетиламінобензентіосульфонату (ААТС) проведено дослідження їх біологічної активності *in vivo*.

Відомо, що процеси вільнорадикального окиснення певної інтенсивності постійно відбуваються у всіх тканинах живих організмів, тому що є одними із необхідних метаболічних процесів, а їх прискорення або різке гальмування призводить до порушень в організмі, виникнення патологій і хвороб. Однією з основних причин пошкодження та загибелі клітини внаслідок дії активних форм кисню вважається пероксидне окиснення ліпідів. Важливо було з'ясувати вплив різних естерів сульфоокислот на протікання процесів ПОЛ у крові та тканинах щурів. Було встановлено, що вміст продуктів проміжної стадії пероксидного окиснення ліпідів – ГПЛ у плазмі крові щурів за дії естерів тіосульфоокислот вірогідно не відрізнявся від показників контрольної групи, лише за дії ААТС у дозі 100 мг/кг виявлено вірогідне зниження їх вмісту. У той час як вміст ТБК-позитивних продуктів у плазмі крові щурів вірогідно знижувався за дії АТС у дозах 50 і 100 мг/кг.

Було встановлено, що алілсульфід, проявляє антиоксидантні властивості завдяки своїй здатності поглинати активні форми кисню. Він може пригнічувати пероксидне окиснення ліпідів та зменшувати оксидативний стрес, тим самим

захищаючи ДНК від пошкодження та мутацій, спричинених вільними радикалами [19].

Одним із основних показників рівня захисних можливостей організму є стан антиоксидантної системи. Антиоксидантна система захисту організму контролює і гальмує всі етапи вільнорадикальних реакцій, починаючи від їх ініціації і закінчуючи утворенням продуктів ПОЛ. Причиною багатьох патологій, ускладнень в організмі є порушення рівноваги між продукцією вільних радикалів, інтенсивністю ПОЛ і активністю антиоксидантних ензимів.

Одним із важливих ензимів антирадикального антипероксидного захисту є супероксиддисмутаза. Встановлено зростання супероксиддисмутазної активності в еритроцитах крові тварин за дії ЕТС у дозі 100 мг/кг та АТС і ААТС в обох досліджуваних дозах. Збільшення активності ензиму свідчить про активацію вільно-радикальних процесів в організмі та посилене утворення супероксиданіон-радикалів (O_2^-), які нейтралізуються з утворенням H_2O_2 .

Пероксид гідрогену відповідно розщеплюється каталазою до молекул води та кисню. Оскільки ензими СОД та КАТ діють скоординовано, тому аналогічно виявлено збільшення каталазної активності в еритроцитах за дії ЕТС і АТС в обох дозах, а також ААТС у дозі 100 мг/кг. Збільшення активності СОД та каталази в еритроцитах щурів може мати компенсаторне значення та є проявом захисної реакції організму.

Було також виявлено, що деякі сульфуровмісні сполуки часнику можуть посилювати активність супероксиддисмутази, каталази і глутатіонпероксидази та підвищувати рівень відновленого глутатіону в клітинах [28, 155].

Глутатіонова система представляє собою основний механізм захисту клітини та важливий фактор у формуванні імунної відповіді. У дослідженнях виявлено зростання глутатіонпероксидазної активності в еритроцитах за дії ЕТС в обох дозах і АТС за дози 50 мг/кг. Таке зростання глутатіонпероксидазної активності в еритроцитах крові щурів, що споживали естери сульфокислот, на тлі підвищеного вмісту відновленого глутатіону підтверджує те, що активація ГП можлива за умови підтримання достатньо високого рівня

внутрішньоклітинного GSH, який є не лише субстратом реакцій, але й виконує роль фактора, необхідного для постійного відновлення розміщених у каталітичному центрі ензиму селенових груп, що окиснюються у процесі цієї реакції [82].

Крім цього, було також встановлено зниження глутатіонпероксидазної активності за дії ААТС в обох дозах. Зменшення активності цього ензиму в крові щурів за дії ААТС відбувається на тлі зниження вмісту ГПЛ, які разом з пероксидом гідрогену є її субстратами, а останній, імовірно, нейтралізується в достатній мірі каталазою, яка проявляла підвищену активність.

Глутатіонредуктазна активність в еритроцитах крові щурів за впливу усіх досліджуваних тіосульфонатів у дозі 100 мг/кг знижувалася, однак зростала за дії ЕТС і АТС у дозі 50 мг/кг. Зменшення глутатіонредуктазної активності в еритроцитах може бути обумовлено зниженням вмісту НАДФН та свідчить про пригнічення відновлення окисненого глутатіону в еритроцитах крові за дії естерів тіосульфоокислот у концентрації 100 мг/кг маси тіла, порівняно із меншою дозою, яка стимулює активність ензиму.

Важливим компонентом функціонування глутатіонової ланки антиоксидантного захисту в організмі тварин є відновлений глутатіон (GSH). Він захищає SH-групи білків від окиснення різними окисниками. Механізм захисту полягає в окисненні SH-групи самого глутатіону з утворенням окисненої форми і збереженням SH-груп білків в активній відновленій формі. GSH виступає кофактором для глутатіонпероксидаза та деяких оксидоредуктаз. GSH бере участь у відновленні окиснених форм вітамінів С і Е, перетворюючи їх в активні, антиоксидантні форми. Це допомагає забезпечити постійний захист від окиснювальних пошкоджень. GSH також впливає на клітинний сигнальний шлях, контролюючи апоптоз [126].

За впливу тіосульфонатів у обох дозах встановлено достовірне зростання вмісту відновленого глутатіону. Підвищення вмісту GSH можна пояснити тим, що під час біотрансформаційних процесів в клітинах тіосульфонати взаємодіють з тіольними та аміногрупами білків, тобто беруть участь в

дисульфідному та сульфенамідному обмінах, перетворюються на інші сполуки сульфуру, які в подальшому можуть бути джерелом для синтезу молекул GSH. Крім цього, синтез GSH може відбуватися шляхом активації глутатіонредуктазної реакції з окисненого глутатіону дії естерів сульфокислот у дозі 50 мг/кг.

Раніше було встановлено, що аліцин, коли потрапляє в клітини, взаємодіє з відновленим глутатіоном, утворюючи S-алілмеркаптоглутатіон, який проявляє довготривалу антиоксидантну дію [36]. Очевидно тіосульфонати можуть впливати на транскрипційний фактор Nrf2 (Nuclear Factor Erythroid Related Factor 2), який є основним регулятором окисно-відновного балансу в клітинах [160], оскільки регулює базальну та індуквану експресію генів багатьох антиоксидантних ензимів. Було показано, що посилена активація Nrf2 різними сполуками захищає клітини в різних моделях окисативного стресу [80].

Щоб з'ясувати загальний функціональний стан організму за дії естерів сульфокислот важливо дослідити не лише показники стану про/антиоксидантної системи у крові, але у тканинах основних органах фізіологічних систем. Встановлено значні органо-тканинні відмінності у ступені інгібування та активації процесів ПОЛ за дії тіосульфонатів. Інтенсивність процесів ПОЛ у тканинах оцінюється за кількістю накопичених продуктів – ГПЛ та ТБК- позитивних продуктів. Слід вказати, що гідропероксиди є біологічно агресивними речовинами, які мають великий вплив на структурно-функціональні властивості клітинної мембрани (підвищують її в'язкість, знижують активність багатьох мембранозв'язаних ензимів, прискорюють процес старіння клітин) і можуть здійснювати ушкоджувальну дію на клітини цих тканин. Що стосується ТБК- позитивних продуктів, то вони є показниками інтенсивності ПОЛ та клініко-лабораторними маркерами окисативного стресу, вказують на надмірну продукцію вільних радикалів кисню та недостатню активність антиоксидантних механізмів в організмі.

У нирках за дії досліджуваних естерів сульфокислот у дозі 100 мг/кг спостерігалось зниження вмісту ГПЛ, що може бути зумовлено зниженням

утворення продуктів ПОЛ або їх розпадом внаслідок активації антиоксидантної системи. У той час як у селезінці за дії АТС, у мозку за дії АТС і ААТС та м'язах за дії ЕТС у дозі 100 мг/кг спостерігалось зростання вмісту ГПЛ, на тлі зниження ТБК-позитивних продуктів у селезінці та м'язах за дії АТС і ААТС у дозі 100 мг/кг та у мозку за дії цих сполук у дозі 50 мг/кг. Зниження вмісту ТБК-позитивних продуктів, на тлі зростання вмісту ГПЛ, свідчить про пригнічення кінцевої ланки ПОЛ за дії АТС і ААТС. При цьому за дії ЕТС вміст ТБК-позитивних продуктів не відрізнявся від рівня контрольної групи у всіх досліджуваних тканинах.

У той же час у печінці тіосульфати у концентрації 50 мг/кг маси тіла спричиняли вірогідне зниження концентрації продуктів проміжної та кінцевої стадій пероксидного окиснення ліпідів, що може бути зумовлено активацією ензимів антиоксидантного захисту. Оскільки печінка є важливим органом в системі антиоксидантного захисту, вона синтезує і регулює активність антиоксидантів та ензимів детоксикації, які захищають клітини від оксидативного пошкодження, спричиненого продуктами ПОЛ, запобігаючи різним захворюванням та патологіям [167].

У скелетних м'язах також спостерігалось достовірне зниження вмісту ГПЛ за дії естерів сульфокислот в дозі 50 мг/кг, на тлі незмінного вмісту ТБК-позитивних продуктів.

У той час як у нирках встановлено достовірне зменшення вмісту ТБК-позитивних продуктів за дії ААТС та мозку – за дії АТС і ААТС на тлі незмінного вмісту гідропероксидів ліпідів у цих тканинах. Це свідчить про те, що за дії АТС і ААТС, антиоксидантна система нейтралізує появу вільних радикалів і подальше їх окиснення, знижуючи рівень ТБК-позитивних продуктів. Відсутність зростання цього показника у досліджуваних тканинах за впливу усіх трьох сполук тіосульфатів за обох доз свідчить про відсутність їх токсичного впливу на тканини організму. Підтримуючи баланс між інтенсивністю ПОЛ і антиоксидантним захистом, можна пом'якшити шкідливі наслідки окисного стресу для клітинних структур і функцій.

Пероксидному пошкодженню клітинних структур у тканинах запобігає антиоксидантна система, яка регулює реакції пероксидації ліпідів у мембранах, контролює вміст активних форм Оксигену, вільних радикалів і кінцевих продуктів обміну речовин [71].

Клітини печінки особливо вразливі до окиснювального пошкодження через їхню високу метаболічну активність і вплив різних токсичних речовин. Встановлено, що за впливу досліджуваних тіосульфонатів у дозі 50 мг/кг зростала супероксиддисмутазна активність, а за дії цих сполук у дозі 100 мг/кг – достовірно зростала каталазна активність у печінці щурів. Це може свідчити про активацію першої ланки захисту АОС у клітинах печінки та впливати на їх проліферацію, регулювання клітинних сигнальних шляхів та імунні реакції за впливу досліджуваних сполук. [71].

За дії досліджуваних естерів сульфокислот в дозі 100 мг/кг було встановлено зменшення СОД активності у нирках щурів, на тлі зниження вмісту ГПЛ, а за впливу цих сполук у меншій дозі (50 мг/кг) СОД активність зростала. Відомо, що супероксиддисмутазна активність пов'язана з інтенсивністю ПОЛ і залежить від кількості накопичених у тканині інтермедіатів. За дії СОД, утворений O^{2-} , у результаті функціонування мікросомальних монооксигеназ та ксантинооксидази, підлягає дисмутації до пероксиду водню та молекулярного кисню [167] У свою чергу пероксид водню деградує до молекулярного кисню та води за допомогою гем-вмісного ензиму каталази [66]. Однак, накопичення пероксиду водню може призводити до зворотного інгібування СОД активності. Це може зумовлювати зниження СОД активності у нирках на тлі незмінної активності каталази за впливу естерів в дозі 100 мг/кг. У той час як різно спрямована дія естерів сульфокислот у різних дозах (100 і 50 мг/кг) узгоджується з іншими дослідженнями, які свідчать, що тіосульфонати можуть мати різний вплив на активність СОД. Деякі дослідження показують, що тіосульфонати можуть підвищувати активність СОД [28, 96, 98], тоді як інші вказують на її зниження [103]. Конкретний вплив може залежати від

експериментальних умов, дозування та особливостей самих сполук, що досліджуються [32][161].

У нирках щурів, на тлі зростання СОД за дії ЕТС у дозі 50 мг/кг, також підвищується й активність каталази, що може бути зумовлене зростанням кількості пероксиду гідрогену.

У селезінці за дії АТС і ААТС в дозі 100 мг/кг встановлено зниження каталазної та супероксиддисмутазної активності. Слід вказати, що вірогідне зниження каталазної активності у селезінці тварин корелює із зниженням ТБК-позитивних продуктів.

У скелетних м'язах щурів за дії ЕТС в обох дозах спостерігалось зростання СОД активності, а за дії АТС і ААТС в обох дозах – зниження каталазної активності.

У мозку за дії АТС і ААТС в дозі 50 мг/кг зафіксовано зниження активності каталази та супероксиддисмутази, на тлі зниження ТБК-позитивних продуктів.

Зниження каталазної активності у дослідних групах тканин щурів може бути пов'язано із зниженням генерації АФК, зокрема пероксиду гідрогену за дії естерів тіосульфокислот.

Важливість Se-вмісного ензиму – глутатіонпероксидази полягає у забезпеченні інактивації не лише пероксиду водню, але й гідропероксидів ліпідів за участі відновленого глутатіону, до якого ензим виявляє високу специфічність. У результаті проведених досліджень за дії тіосульфонатів у дозі 100 мг/кг спостерігалось вірогідне зниження активності ГП у досліджуваних тканинах, зокрема за дії ЕТС – у нирках і селезінці, за дії АТС і ААТС – у печінці, нирках і скелетних м'язах. Це може свідчити про пригнічення активності глутатіонової ланки антиоксидантного захисту у цих тканинах за дії досліджуваних речовин у даній дозі. Оскільки глутатіонпероксидаза відновлює органічні гідропероксиди, тому зниження їх вмісту у нирках щурів корелює із зниженням активності ГП. Одержані результати можуть свідчити про певне

інгібування детоксикаційної функції глутатіонової системи, яка бере активну участь у процесах знешкодження ксенобіотиків.

Однак, за впливу S-естерів тіосульфонатів у дозі 50 мг/кг зафіксовано достовірне зростання активності ГП, у печінці тварин – за дії ЕТС та АТС, а у нирках – за дії всіх досліджуваних сполук. Це свідчить, що тіосульфонати у нижчих дозах можуть стимулювати активність ГП у печінці та нирках, тоді як у вищих дозах вони її пригнічують. Подібна залежність спостерігалася і в інших дослідженнях активності глутатіонової системи [127].

У мозку щурів за впливу ЕТС у дозі 100 і 50 мг/кг та АТС у дозі 50 мг/кг, у скелетних м'язах щурів за впливу ЕТС у дозі 100 мг/кг та ААТС у дозі 50 мг/кг, у селезінці за впливу ААТС у дозі 100 мг/кг було встановлено підвищення активності ГП. Однак, у скелетних м'язах за дії АТС і ААТС (100 мг/кг) та ЕТС (50 мг/кг), а також у селезінці за дії ЕТС (100 і 50 мг/кг) активність ГП знижувалася. Оскільки активація ГП можлива лише за умови підтримання високого рівня внутрішньоклітинного відновленого глутатіону, то зниження активності ГП може свідчити про пригнічення даної ланки антиоксидантного захисту за дії відповідних естерів сульфокислот, що може бути зумовлено зменшенням вмісту відновленого глутатіону у тканинах, або його використання глутатіонтрансферазою.

Відновлений глутатіон швидко мобілізується в разі підвищеного вмісту пероксидів і відновлює їх у реакції, що супроводжується утворенням окисненого глутатіону, який є токсичним для клітин [214]. У дослідженнях виявлено зростання вмісту відновленого глутатіону у нирках та печінці щурів за дії естерів сульфокислот в дозах 100 і 50 мг/кг. Підвищений вміст ВГ у цих тканинах, імовірно, може бути пов'язаний із інтенсифікацією його синтезу, а також утворенням надлишку через знижену активність ГП (за дії естерів сульфокислот в дозі 100 мг/кг). Загалом підвищення вмісту ВГ у печінці і нирках залежить від таких процесів, як синтез *de novo* і виведення у позаклітинний простір, а також регенерації завдяки відновленню окисненого глутатіону і споживання для нейтралізації H_2O_2 і вторинних продуктів

пероксидації. Відомо, що саме печінка – головний орган синтезу за участю γ -глутамілцистеїнсинтетази відновленого глутатіону у ссавців, який забезпечує близько 90% всього циркулюючого глутатіону при фізіологічних умовах [214]. Зростання цього трипептиду у нирках, очевидно, може бути пов'язане з розщепленням його надлишку за відсутності потреби організму. Адже відомо, що нирки мають високу γ -глутамілтранспептидазну активність. ВГ відіграє важливу роль у захисті білків від АФО, адже його SH-групи мають більшу схильність до окиснення, ніж SH-групи білкових молекул, тим самим захищаючи білки від ушкоджуючої окисної модифікації.

Збільшення вмісту ВГ у печінці щурів за дії АТС і ААТС у дозі 100 мг/кг, на тлі незмінної активності ГР та зниженні ГП свідчить про те, що естери можуть посилювати синтез ВГ *de novo* за участю γ -глутамілцистеїнсинтетази. Крім цього, тіосульфонати можуть перетворюватися на інші сполуки сульфуру під час біотрансформаційних процесів, та можуть служити джерелом для синтезу молекул GSH.

У нирках тіосульфонати в дозі 50 мг/кг по-різному впливали на показник активності ГР та вміст ВГ. Так, у нирках щурів за впливу ЕТС в дозі 50 мг/кг спостерігалася підвищена активність глутатіонредуктази на тлі підвищеного вмісту ВГ, що свідчить про позитивний вплив цих естерів на синтез ВГ шляхом ГР реакції відновлення окисненого глутатіону. Однак, у нирках щурів за дії АТС, та у печінці за дії ААТС у дозі 50 мг/кг маси тіла зафіксовано зниження активності ГР. Це може свідчити про те, що підвищений рівень ВГ за цих сполук може бути за рахунок синтезу його *de novo* у клітинах.

Зниження вмісту ВГ у селезінці тварин за дії естерів в дозі 100 мг/кг, в мозку за дії АТС та у скелетних м'язах за дії ААТС може бути пов'язано як з інтенсифікацією процесів ПОЛ в тканинах та посиленням його використання, так і в результаті вичерпання пулу ВГ, внаслідок інтенсивного використання глутатіонпероксидазою і, можливо, глутатіонтрансферазою, а також пришвидшенням катаболізму глутатіону [214].

Варто вказати, що ВГ відіграє дуже важливу роль у видаленні різноманітних АФО, АФН реактивних видів сульфуру (RSS). Він відповідає за зниження рівня в організмі пероксидів ліпідів і ксенобіотиків. Крім цього, ВГ також бере участь у регуляції клітинного циклу під час їх поділу [44, 180].

У підтримці рівня відновленої форми глутатіону, що має вирішальне значення для нейтралізації активних форм кисню та детоксикації шкідливих речовин, важливу участь приймає глутатіонредуктаза. Зниження активності ГР у нирках та селезінці за дії АТС і ААТС, а також мозку за дії ААТС в дозі 100 мг/кг можна пояснити виснаженням ензиму у реакціях відновлення дисульфідного зв'язку окисленого глутатіону (GSSG) до його сульфгідрильної форми (GSH). Відомо, що глутатіонредуктаза є залежним від НАДФН ензимом, активність якого пригнічується у разі накопичення окисленої форми нуклеотиду (НАДФ). Тому причиною зниження глутатіонредуктазної активності може бути зниження вмісту НАДФН та НАДН, спричинене порушенням функціонування мітохондрій. Крім цього, мітохондрії вважаються основним джерелом АФО, які утворюються в дихальному ланцюгу [118]. Було встановлено, що більшість шляхів клітинного старіння зумовлені саме змінами у мітохондріях і виснаження у них GSH [123].

У скелетних м'язах тварин ГР активність вірогідно підвищувалася за дії усіх естерів в дозі 50 мг/кг. Це відбувалося на тлі зростання рівня відновленого глутатіону за дії АТС. Аналогічно і в мозку щурів за дії ЕТС в дозі 50 мг/кг встановлено вірогідне підвищення активності ГР на тлі зростання рівня ВГ.

Отримані результати дозволяють припустити, що тіосульфонати ЕТС, АТС, ААТС можуть мати диференційований вплив на утворення відновлювальних еквівалентів у тканинах, що може впливати на активність АОС в клітинах. [127]. Вони можуть проявляти антиоксидантну дію, позитивно впливаючи на регуляторний шлях Keap1-NRF2, зменшуючи транскрипцію цитопротекторних генів [188].

Встановлено, що активація сигнального шляху Nrf2-ARE ініціюється ковалентною модифікацією тіодисульфідних зв'язків Keap1 за допомогою

електрофільних антиоксидантів та радикалів [181]. SH-вмісні похідні здатні посилювати транскрипцію генів регульованих антиоксидантно-зв'язуючими елементами (ARE) [136].

Результати досліджень свідчать, що новосинтезовані дисульфідні сполуки S-етил-4-амінобензентіосульфонат, S-аліл-4-амінобензентіосульфонат, S-ацетил-амінобензентіосульфонат у концентрації 100 і 50 мг/кг по-різному впливають на стан про/антиоксидантної системи у крові і тканинах печінки, нирок, селезінки, скелетних м'язів та мозку організму щурів. Естери тіосульфокислот можуть спричиняти як пригнічення процесів ПОЛ у тканинах, так і їх активацію.

Пероксидне окиснення ліпідів мембран є складним процесом, якому притаманні свої особливості, зумовлені структурованістю ліпідного бішару мембран, високим ступенем ненасиченості жирних кислот, які входять до складу фосфоліпідів, багатоконпонентністю складу ліпідів, наявністю в них здатності посилювати або послаблювати дію природних антиоксидантів та ініціювати окиснення.

Встановлено, що досліджувані естери сульфокислот впливають на концентрацію ліпідів у крові щурів та співвідношення їхніх класів. Зокрема встановлено, що вміст загальних ліпідів у крові дослідних тварин знижувався за дії ААТС у дозі 100 мг/кг маси тіла, а за дії ЕТС і АТС у дозі 50 мг/кг маси тіла. Це свідчить про те що гіполіпідемічний ефект ААТС проявлявся у вищій дозі, ніж ЕТС і АТС.

Зниження вмісту загальних ліпідів у плазмі крові може вказувати на можливе посилення активності катаболічних процесів і мобілізацію ліпідів як джерела енергії внаслідок активації ензиму ліпопротеїнліпази, що розщеплює ліпиди крові, або їх використання в адаптивних перебудовах ліпідного шару клітинних мембран. Встановлено, що природні сульфуроорганічні сполуки часнику та цибулі, які вважаються аналогами тіосульфонатів, володіють гіполіпідемічними властивостями сприяючи зниженню вмісту загальних ліпідів у крові [94].

Зниження вмісту загальних ліпідів в плазмі крові тварин за дії естерів сульфокислот відбувалося за рахунок зменшення вмісту триацилгліцеролів та естерифікованого холестеролу. Це підтверджує, що досліджувані сполуки пришвидшують розпад резервних ліпідів триацилгліцеролів та естерів холестеролу. Дане твердження базується на результатах досліджень, де встановлене вірогідне зменшення відносного вмісту триацилгліцеролів у плазмі крові тварин за впливу ЕТС, АТС і ААТС в дозі 100 мг/кг. У той же час відносний вміст моно- і диацилгліцеролів зростав за дії ЕТС та ААТС. За впливу ЕТС, АТС, ААТС в дозі 50 мг/кг достовірно зменшувався відносний вміст триацилгліцеролів, що може свідчити про їх розпад до ди- і моногліцеролів, що підтверджує вірогідне зростання їх вмісту у крові тварин усіх трьох дослідних груп. Цікаво, що вміст триацилгліцеролів у плазмі крові тварин, які споживали АТС як у дозі 100, так і 50 мг/кг, був нижчим відносно дослідних груп тварин, які споживали ЕТС та ААТС. Триацилгліцероли представляють собою головне джерело енергії для організму, а підвищені рівні можуть бути пов'язані з ризиком розвитку серцево-судинних захворювань.

У дослідженнях інших авторів [153] вказано, що тіосульфонати, зокрема ЕТС, беруть участь у регуляції ліпідного обміну за рахунок перерозподілу класів ліпідів, а також сприяють зниженню вмісту моно-, ди-, триацилгліцеролів і вільних жирних кислот у тканині печінки щурів.

Достовірно зниження відносного вмісту естерифікованого холестеролу за дії ЕТС, АТС і ААТС в дозі 100 мг/кг та за дії АТС і ААТС в дозі 50 мг/кг супроводжувалося незначним підвищенням неестерифікованого холестеролу за дії АТС в дозі 100 мг/кг і ААТС в дозі 50 мг/кг. Це може свідчити про збільшення гідролізу естерів холестеролу, які виконують роль резервної і транспортної форми холестеролу, за допомогою холестерол-естерази. В результаті цього естерифікований холестерол розщеплюється на неестерифікований холестерол та жирні кислоти. Крім цього, результати можуть свідчити, що активність ензиму, який контролює естерифікацію холестеролу – *лецитин(фосфатидилхолін)-холестерол-ацилтрансфераза*

(ЛХАТ) є низькою в крові тварин дослідних груп. Зниження рівня естерифікованого холестеролу в крові сприяє зменшенню ризику утворення холестеринових бляшок в судинах і розвитку серцево-судинних захворювань. Організм регулює рівень естерифікованого холестеролу за допомогою ензимів, які відповідають за етерифікацію та гідроліз холестеролу, а також за допомогою рецепторів, які контролюють його обмін у клітинах та тканинах, забезпечуючи їм нормальне функціонування [179].

Варто вказати, що зовнішньоклітинна естерифікація холестеролу здійснюється ЛХАТ шляхом перенесення ацильного залишку з 2-го (β -) положення фосфатидилхоліну на гідроксильну групу холестеролу. У той час як внутрішньоклітинна естерифікація холестеролу у печінці, що каталізується ацил-КоА–холестерино ацилтрансферазою шляхом перенесення жирної кислоти з коферменту А в гідроксильну групу на вуглець 3 холестеролу [8]. Однак, незалежно від того, чи є додатковою групою ацильний ланцюг або фосфатидилхолін, отримані ефіри холестеролу є більш гідрофобними, ніж вільний холестерол. Частина естерифікованого холестеролу у складі ліпопротеїнів транспортується до тканин, які потім використовують холестерол для синтезу мембран, утворення стероїдних гормонів та біосинтезу вітаміну D.

Після розщеплення естерів холестеролу за впливу холінестераз до неестерифікованого холестеролу і жирних кислот, далі холестерол вступає в обмінні процеси, які мають ряд особливостей, пов'язаних з хімічною будовою його молекули. Циклопентанпергідрофенантренове кільце холестеролу стійке до дії ферментів і тому в організмі людини майже не розщеплюється, а основні перетворення холестеролу пов'язані переважно з окисненням бічного ланцюга.

Основним регулюючим ензимом синтезу холестеролу є гідрокси-метилглутарил-КоА-редуктаза (ГМГ-КоА-редуктаза), швидкість синтезу якого контролюється одним із сімейства стеролорегуляторних елементозв'язуючих білків (SREBP), що знаходяться в ендоплазматичному ретикулумі. Розчинні SREBP необхідні для того, щоб ефективно стимулювати транскрипцію ГМГ-КоА-редуктази [34].

Холестерол може перетворюватися в печінці у жовчні кислоти та 25-ОН-вітамін D₃, в надниркових залозах – в кортикостероїди, в статевих залозах – в андрогени [83].

В результаті гідролізу естерифікованого холестеролу утворюються вищі жирні кислоти, зростання вмісту яких і зафіксовано у крові тварин дослідних груп. Зокрема, встановлено достовірне зростання ВЖК у крові щурів за дії ЕТС та ААТС в дозі 100 мг/кг. Аналогічно достовірно збільшувався відносний вміст неестерифікованих жирних кислот в крові тварин за дії АТС та ААТС в дозі 50 мг/кг. Це може бути зумовлено як гідролізом естерифікованого холестеролу, так і посиленням ліполізу і розпадом триацилгліцеролів. Однак дослідниками було встановлено, що діалілдисульфідри пригнічують індуковану високожировою і високовуглеводною дієтою активність ферментів, пов'язаних із синтезом жирних кислот, включаючи протеїн-1, що зв'язує регуляторний елемент стеролу, синтазу жирної кислоти та стеароїл-КоА-десатуразу-1 [54].

Вільні жирні кислоти відіграють важливу роль у багатьох біологічних процесах. Зазвичай вони піддаються подальшому розщепленню шляхом β-окислення або етерифікації та зберігаються у вигляді триацилгліцеролів. Крім того, жирні кислоти, які утворюються із триацилгліцеролів можуть бути основою для утворення фосфоліпідів та простагландинів [175]. Вони також відіграють важливу роль у побудові клітинних мембран разом із фосфоліпідами та неестерифікованим холестеролом. Регулювання рівня вільних жирних кислот у крові є важливим для збереження балансу в організмі та уникнення порушень обміну речовин.

Виявлено вірогідне зростання вмісту фосфоліпідів у плазмі щурів за дії АТС і ААТС в дозі 100 мг/кг та за впливу АТС у дозі 50 мг/кг. Оскільки фосфоліпіди у плазмі крові виконують транспортну функцію, то їхнє зростання має важливу роль для транспортування холестеролу, жирних кислот, а також новосинтезованих естерів сульфокислот, які надходять в організм.

Фосфоліпіди є важливою частиною усіх біологічних мембран. Вони обумовлюють пластичні та текучі властивості клітинних мембран та

мембранних органоїдів клітини, в той час як холестерол обумовлює жорсткість та стабільність мембрани. Крім того вони входять до складу ліпопротеїнів мембран. Оскільки фосфоліпиди забезпечують стабілізацію структури плазмолемі і мембран клітинних органел, то зменшення їх вмісту у біологічних мембранах призводить до порушення їх ультраструктурної організації, змін біосинтетичних процесів, випадіння окремих ланок метаболізму, зниження рівня важливих енергозалежних процесів, активного транспорту іонів. Це призводить до підвищення проникності клітинних мембран і, відповідно, порушення їх транспортних функцій, що є загальновідомою універсальною ознакою пошкодження клітин [228]. Відомо, що під впливом ензиматичної активності, гормональної відповіді та проникності мембран залежать фізико-хімічні властивості фосфоліпідного бішару плазматичної мембрани. Тому, коли виникає диспропорція у фосфоліпідному складі клітин, що впливає на щільність мембран, проникність та на активність ензимів, таких як протеїнкіназа С і PI3/Akt-кіназа [37].

Встановлено, що біологічно активна сполука часнику аліцин позитивно впливає на ліпідний профіль крові: концентрацію тригліцеролів, вільного холестеролу і холестеролу ліпопротеїнів низької та високої щільності у тварин із експериментальною моделлю неалкогольної жирової хвороби печінки.[169].

Однією з основних метаболічних систем, що визначає фізіолого-біохімічний гомеостаз організму є білковий обмін. Білки є досить лабільною системою, що відображає стан організму, а також зміни, які в ньому відбуваються за дії внутрішніх та зовнішніх чинників. Зростання загальної концентрації білка в плазмі крові щурів за дії ЕТС і АТС у дозі 100 мг/кг може свідчити про посилення білоксинтезувальної функції за впливу досліджуваних естерів сульфокислот. Регуляція синтезу білків за дії естерів сульфокислот відбувається на рівні трансляції мРНК [150]. Крім цього, тіосульфонати можуть взаємодіяти з тіольними та аміногрупами білків, тобто брати участь в дисульфідному та сульфенамідному обмінах. Естери сульфокислот беруть участь у стабілізації третинної структури білків та відіграють центральну роль у

життєвому циклі білків [52]. Крім того встановлено, що від груп сульфокислот також залежать фізичні та хімічні властивості молекул естерів сульфокислот [61]. Група сульфокислоти у естерах легко утворює ковалентні зв'язки з лізином, гістидином, серином і тирозином білків, що робить вихідну сполуку кращою в дії на білкову мішень [25][176].

Зростання загальної концентрації білка в плазмі крові щурів за дії естерів сульфокислот, очевидно, відбувалося внаслідок збільшення концентрації альбумінів, однак на тлі зниження вмісту α -глобулінів за дії ЕТС і АТС у дозі 100 мг/кг. Це призводило до зростання альбумін/глобулінового співвідношення у крові тварин цих дослідних груп. Варто зазначити, що збільшення вмісту альбумінів у крові в межах референтних значень може бути пов'язано з покращення білоксинтезувальної функції печінки та гепатопротекторної дії досліджуваних тіосульфонатів. Альбуміни є основними білковими компонентами плазми крові, в якій вони виконують транспортну функцію – переносять з потоком крові амінокислоти, жирні кислоти, іони металів, деякі вітаміни, гормони, холестерол, а також можуть переносити різні речовини, в тому числі й естери сульфокислот. Крім цього, альбуміни відіграють важливу роль і в підтриманні осмотичного тиску крові. У той час як за впливу ААТС у дозі 100 мг/кг змінювалося співвідношення між класами глобулінів, зокрема знижувався вміст α - та β -глобулінів на тлі зростання γ -глобулінів. Зростання кількості γ -глобулінів може свідчити про підвищення імунобіологічної реактивності організму за дії ААТС та активацію специфічного гуморального імунітету тварин.

За дії досліджуваних тіосульфонатів у дозі 50 мг/кг виявлено вірогідне зростання кількості альбумінів, що очевидно і позитивно впливало на транспорт метаболітів та екзогенних речовин в організмі. Зростання кількості альбумінів відбувалося на тлі зменшення α - і β -глобулінів, що відображалось на зростанні білкового коефіцієнту (А/Г) крові у тварин усіх дослідних груп.

За дії естерів сульфокислот змінювався профіль окремих показників білкового обміну крові. Зокрема, за їх дії у дозі 100 мг/кг встановлено вірогідне

зростання аспаратамінотрансферазної активності, а в дозі 50 мг/кг вірогідне зростання активності ензиму було лише за дії ААТС. Оскільки АсАТ каталізує реакцію оборотного перенесення аміногрупи з аспартату на α -кетокислоту, що важливо для процесу утворення енергії в циклі Кребса, то можливе підвищення АсАТ в плазмі крові більш ніж у 2-10 разів могло б свідчити про ушкодження тканин, зокрема міокарду і печінки [206]. Однак, виявлене нами підвищення активності АсАТ, що не виходило за межі норми, може бути зумовлене реакцією організму на прийом розчинів естерів сульфокислот.

Дослідження АсАТ активності здійснюється разом із АлАТ активністю, як складових частин загального аналізу функціонування печінки і міокарду. Ці обидва ензими вважаються двома найбільш важливими показниками пошкоджень тканин, хоча АлАТ є більш специфічною для тканин печінки, ніж АсАТ. У дослідженнях виявлено зниження АлАТ активності у крові щурів за дії АТС і ААТС в обох дозах, однак незначне зростання за дії ЕТС у дозі 50 мг/кг.

Важливим показником для діагностики патологічних процесів у тканинах організму є коефіцієнт де Рітіса. Зміни відношення АсАТ/АлАТ можуть свідчити про різні стани та порушення в організмі – різке зростання характерне для ушкодження міокарда, а відхилення від нижньої межі референтних значень може свідчити про ушкодження печінки [230]. Однак виявлене зростання цього коефіцієнта за дії естерів сульфокислот в дозі 100 мг/кг, що не виходить за межі норми, зумовлене підвищенням АсАТ та зниженням АлАТ активності в крові щурів. Крім цього, зростання коефіцієнта де Рітіса може свідчити про активацію глюконеогенезу через глюкозоаланіновий шунт із використанням АлАТ, який є необхідним для підтримки адекватного рівня глюкози у крові, що надалі призводить до зростання активності трансаміназ.

Лужна фосфатаза (ЛФ) – ензим, що належить до мембранних глікопротеїнів, каталізує відщеплення фосфатних груп з органічних сполук, таких як білки і нуклеотиди, та бере участь у транспорті фосфору і кальцію в організмі [4]. Активність ЛФ у сироватці крові залежить від активності її ізоферментів, що містяться в печінці, кістках, нирках, слизовій оболонці

кишечнику та плаценті. Лужна фосфатаза є одним з найбільш широко використовуваних індикаторів гепатобіліарної хвороби, і підвищення рівня в сироватці крові часто вказує на пошкодження печінки [54], а також і на порушення мінерального обміну [183]. Зниження активності цього ензиму за дії АТС та ААТС у дозі 50 мг/кг може бути зумовлено деяким пригніченням фосфорно-кальцієвого обміну.

Кінцевим продуктом метаболізму білків є сечовина, яка утворюється під час орнітинового циклу у печінці. Тому показник концентрації сечовини використовують для оцінки фізіологічної функції печінки та стану білкового обміну [81]. Вірогідне зменшення концентрації сечовини за дії естерів сульфокислот в обох дозах може бути зумовлене пригніченням катаболізму білків у поєднанні з прискореним їх анаболізмом та поліурією, а оскільки сечовина виводиться нирками, її визначення в крові дає уявлення і про функціональні властивості нирок [113].

Різна дія досліджуваних естерів сульфокислот на різні ланки обмінних процесів у крові та тканинах тварин може бути зумовлена як специфікою та фізіологічними особливостями цих тканин, так і біохімічними особливостями досліджуваних сполук в різних дозах.

Дослідження використання нових біологічно активних сполук естерів сульфокислот, які проявляють більшу чи меншу біологічну дію на метаболічні процеси та антиоксидантну систему захисту, тим самим, регулювати фізіологічну активність клітини, органів або й цілого організму є важливим і необхідним завданням. Поруч з теоретичним і практичним значенням ці сполуки представляють безперечний інтерес як моделі для вивчення взаємозв'язку між структурою і біологічною активністю.

Застосування S-естерів тіосульфокислот, як потенційних сполук для захисту кормів від патогенів при їх виробництві та зберіганні, можуть сприятливо впливати і на метаболічні процеси в організмі тварин, що споживають дані корми. Завдяки високій реакційній здатності та широкому спектру їх дії тіосульфонати можуть бути основою для розробки нових

кормових добавок та терапевтичних засобів. Вони проявляють надзвичайно широкий спектр біологічної дії поруч з низькою токсичністю, мають сильніші лікувальні властивості і є стабільнішими, ніж їх близькі природні аналоги.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі теоретично узагальнено та експериментально обґрунтовано можливість застосування S-естерів тіосульфокислот як антимікробних речовин для захисту кормів від контамінації їх грибами, а також для регуляції метаболічних процесів в організмі тварин. Встановлено, що застосування цих сполук впливає на функціонування антиоксидантної системи та окремих ланок білкового і ліпідного обміну в досліджуваних тканинах тварин. Завдяки високій реакційній здатності та широкому спектру дії S-естери тіосульфокислот у визначених дозах можуть бути запропоновані як нові кормові добавки та терапевтичні засоби.

1. У дослідженнях встановлено високі фунгібактерицидні властивості S-етил-4-амінобензентіосульфонату (ЕТС), S-аліл-4-амінобензентіосульфонату (АТС), S-аліл-4-ацетиламінобензентіосульфонату (ААТС) по відношенню до штамів мікроорганізмів *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium luteum*, *Candida tenuis*, *Aspergillus niger*, що дозволяє характеризувати досліджувані тіосульфоестери як перспективні антимікробні речовини.

2. Встановлено високу радикал-поглинальну активність досліджуваних S-естерів тіосульфокислот, причому найвищу активність проявляв АТС. ААТС проявляв меншу радикал-поглинальну активність, що очевидно зумовлене ацилювання аміногрупи. ЕТС проявляв нижчу радикал-поглинальну активність, ніж АТС та ААТС, але все ж достатню, щоб проявляти антиоксидантні властивості.

3. Встановлено, що S-етил-4-амінобензентіосульфонат (ЕТС) в дозі 100 мг/кг позитивно впливав на антиоксидантний профіль у крові та тканинах тварин, за винятком ГР активності в крові та ГП – у нирках і селезінці. В той час як ЕТС у дозі 50 мг/кг зумовлював зростання активності всіх ензимів АОС у крові і тканинах, за виключенням ГП у скелетних м'язах і селезінці.

4. Виявлено, що S-аліл-4-амінобензентіосульфонат (АТС) в дозі 100 мг/кг у крові зумовлював зростання СОД і КАТ активності та вмісту ВГ на тлі зниження ГР активності, а у тканинах спостерігалось деяке пригнічення

активності ензимів антиоксидантної системи, однак зростання вмісту ВГ у печінці і нирках. А вплив АТС у дозі 50 мг/кг зумовлював зростання ензимів АОС у крові і тканинах, за винятком ГР у нирках, КАТ – у скелетних м'язах та СОД – у мозку.

5. S-аліл-4-ацетиламінобензентіосульфонат (ААТС) у дозі 100 мг/кг у крові зумовлював зростання СОД і КАТ на тлі зниження ГП і ГР активності. У тканинах ААТС в цій дозі призводив до зростання КАТ у печінці, ГП – у селезінці, вмісту ВГ – у печінці і нирках. За дії ААТС в дозі 50 мг/кг у крові зростали СОД активність і вміст ВГ, на тлі зниження ГП активності. У той час у тканинах спостерігалось зростання СОД активності у печінці, ГП – у нирках і скелетних м'язах, ГР – у скелетних м'язах, вмісту ВГ – у печінці і нирках.

6. З'ясовано, що S-естери тіосульфокислот впливають на загальну концентрацію ліпідів у крові щурів та співвідношення їхніх класів. Зокрема встановлено, що вміст загальних ліпідів у крові дослідних тварин знижувався за дії ААТС у дозі 100 мг/кг, а за дії ЕТС і АТС у дозі 50 мг/кг. Це свідчить про те що гіполіпідемічний ефект ААТС проявлявся у вищій дозі, ніж ЕТС і АТС. Виявлено, що зниження загальної концентрації ліпідів за дії естерів сульфокислот відбувалося за рахунок зменшення вмісту триацилгліцеролів та естерифікованого холестеролу в плазмі крові тварин.

7. Встановлено, що за дії ЕТС і АТС у дозі 100 мг/кг в плазмі крові щурів зростала загальна концентрація білків, що свідчить про посилення білоксинтезувальної функції печінки. Крім цього, у крові збільшувалося альбумін/глобулінове співвідношення, зростав коефіцієнт де Рітіса та знижувалася концентрація сечовини, що підтверджує посилення анаболізму білків. За дії досліджуваних S-естерів тіосульфокислот в дозі 50 мг/кг підвищений рівень альбумін/глобулінового співвідношення у крові тварин усіх дослідних груп не впливав на загальну концентрацію білка, однак було виявлено зниження концентрації сечовини та активності лужної фосфатази у крові тварин усіх дослідних груп.

8. Додавання щурам до раціону S-естерів тіосульфокислот у досліджуваних дозах виявилось ефективним у регуляції окремих ланок метаболізму в організмі тварин. Причому встановлено, що за регуляції антиоксидантної системи захисту найкращий ефект виявляла сполука АТС (що також підтверджено у дослідженнях *in vitro*) у дозі 50 мг/кг, в той час як у дозі 100 мг/кг найкращий ефект проявляв ЕТС. Виявлено, що найкращий гіполіпідемічний ефект проявляли ААТС у дозі 100 мг/кг, а ЕТС і АТС у дозі 50 мг/кг. Встановлено, що найбільш сприятливий вплив на білоксинтезувальну функцію проявляли ЕТС і АТС у дозі 100 мг/кг.

Список використаних джерел

1. Abad, P., Arroyo-Manzanares, N., Gil, L., & García-Campaña, A. M. (2017). Use of Onion Extract as a Dairy Cattle Feed Supplement: Monitoring Propyl Propane Thiosulfonate as a Marker of Its Effect on Milk Attributes. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65(4), 793–799. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04395>
2. Abad, P.; Arroyo-Manzanares, N.; Ariza, J. J.; Baños, A., García-Campaña, A. M. (2020). Effect of Allium Extract Supplementation on Egg Quality, Productivity, and Intestinal Microbiota of Laying Hens. *Animals (Basel)*, 11, 41, <https://doi.org/10.3390/ani11010041>.
3. Alexopoulos D. (2014). P2y12 receptor inhibitors in acute coronary syndromes: from the research laboratory to the clinic and vice versa. *Cardiology*, 127(4), 211–219. <https://doi.org/10.1159/000357399>.
4. Allison, G. L., Lowe, G. M., Rahman, K. (2012). Aged garlic extract inhibits platelet activation by increasing intracellular cAMP and reducing the interaction of GPIIb/IIIa receptor with fibrinogen. *National Library of Medicine*, 91(25-26), 127–580. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2012.09.019> .
5. Amagase, H., Petesch, B. L., Matsuura, H., Kasuga, S., & Itakura, Y. (2001). Intake of garlic and its bioactive components. *The Journal of nutrition*, 131(3s), 955S–62S. <https://doi.org/10.1093/jn/131.3.955S>
6. Andersen, L. W., Thiis, J., Kharazmi, A., & Rygg, I. (1995). The role of N-acetylcystein administration on the oxidative response of neutrophils during cardiopulmonary bypass. *Perfusion*, 10(1), 21-26.
7. Babak, O. Ya., Bilovol, O. M., Yakovleva, O. O. (2010). *Klinichna farmakolohiya: pidruchnyk dlya medychnykh VNZ III-IV rivniv akredytatsiyi*. Kyiv: Medytsyna, 776.
8. Bagheri, B., Alikhani, A., Mokhtari, H., & Rasouli, M. (2018). The Ratio of Unesterified/esterified Cholesterol is the Major Determinant of Atherogenicity of Lipoprotein Fractions. *Medical archives (Sarajevo, Bosnia and Herzegovina)*, 72(2), 103–107. <https://doi.org/10.5455/medarh.2018.72.103-107>

9. Banya, A. R., Karpenko, O. Y., Lubenets, V. I., Baranov, V. I., Novikov, V. P., & Karpenko, O. V. (2015). Influence of surface-active rhamnolipid biocomplex and thylthiosulfanilate on growth and biochemical values of plants in the oil contaminated soil. *Biotechnologia Acta*, 8(5), 71–77. <https://doi.org/10.15407/biotech8.05.071> .
10. Baranovych, D. B., & Lubenets, V. I. (2020). Synthesis, properties, and screening of the biological activity of S-esters of thiosulfonic acids with 3,4-aryldisubstituted fragments. In *Actual problems of natural sciences: modern scientific discussions* (pp. 18–42). Riga: Baltija Publishing. <https://doi.org/10.30525/978-9934-588-45-7.2>
11. Beloqui, O., Prieto, J., Suárez, M., Gil, B., Qian, C. H., García, N., & Civeira, M. P. (1993). N-acetyl cysteine enhances the response to interferon-alpha in chronic hepatitis C: a pilot study. *Journal of interferon research*, 13(4), 279–282. <https://doi.org/10.1089/jir.1993.13.279> .
12. Benavides, G. A., Squadrito, G. L., Mills, R. W., Patel, H. D., Isbell, T. S., Patel, R. P., Darley-USmar, V. M., Doeller, J. E., & Kraus, D. W. (2007). Hydrogen sulfide mediates the vasoactivity of garlic. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(46), 17977–17982. <https://doi.org/10.1073/pnas.0705710104>.
13. Betteridge D. J. (2000). What is oxidative stress?. *Metabolism: clinical and experimental*, 49(2 Suppl 1), 3–8. [https://doi.org/10.1016/s0026-0495\(00\)80077-3](https://doi.org/10.1016/s0026-0495(00)80077-3)
14. Block, E. Fifty Years of Smelling Sulfur. *J. Sulfur Chem.* 2013, 34, 158–207.
15. Block, E., Thiruvazhi, M., Toscano, P. J., Bayer, T., Grisoni, S., & Zhao, S. H. (1996). Allium chemistry: Structure, synthesis, natural occurrence in onion (*Allium cepa*), and reactions of 2, 3-dimethyl-5, 6-dithiabicyclo [2.1. 1] hexane S-oxides. *Journal of the American Chemical Society*, 118(12), 2790-2798.
16. Block, S. S., Weidner, A. Walsh. (1964). Sulfur disinfectants: antimicrobial activity of thiosulfonates. *J. Org. Chem.* 3. 117–121.
17. Blume, L., Long, T. E., & Turos, E. (2023). Applications and opportunities in using disulfides, thiosulfinates, and thiosulfonates as antibacterials. *International*

journal of molecular sciences, 24(10), 8659.

<https://doi.org/10.3390/ijms24108659/>

18. Bolibrukh, Kh.; Polovkovich, S.; Khoumeri, O.; Halenova, T.; Nikolaeva, I.; Savchuk, O.; Terme, T.; Vanelle, P.; Lubenets, V.; Novikov, V. (2015). Synthesis and anti-platelet activity of thiosulfonate derivatives containing quinone moiety. *Sci Pharm.*, 83, 221–231. <https://doi.org/10.3797/scipharm.1411-14>.
19. Borek, D., & Jaskólski, M. (2001). Sequence analysis of enzymes with asparaginase activity. *Acta Biochimica Polonica*, 48(4), 893-902.
20. Borlinghaus, J., Albrecht, F., Gruhlke, M. C., Nwachukwu, I. D., & Slusarenko, A. J. (2014). Allicin: chemistry and biological properties. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 19(8), 12591–12618. <https://doi.org/10.3390/molecules190812591>
21. Borlinghaus, J., Foerster Née Reiter, J., Kappler, U., Antelmann, H., Noll, U., Gruhlke, M. C. H., & Slusarenko, A. J. (2021). Allicin, the Odor of Freshly Crushed Garlic: A Review of Recent Progress in Understanding Allicin's Effects on Cells. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(6), 1505. <https://doi.org/10.3390/molecules26061505>
22. Boucher, H.W.; Talbot, G.H.; Bradley, J.S.; Edwards, J.E.; Gilbert, D.; Rice, L.B.; Scheld, M.; Spellberg, B.; Bartlett, J. Bad Bugs, No Drugs: No ESKAPE An Update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.* 2009, 48, 1–12.
23. Briggs, W. H., Xiao, H., Parkin, K. L., Shen, C., & Goldman, I. L. (2000). Differential inhibition of human platelet aggregation by selected *Allium* thiosulfinates. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(11), 5731–5735. <https://doi.org/10.1021/jf0004412>.
24. Broos, K., Feys, H. B., De Meyer, S. F., Vanhoorelbeke, K., & Deckmyn, H. (2011). Platelets at work in primary hemostasis. *Blood reviews*, 25(4), 155-167. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2011.03.002> .
25. Bum-Erdene, K., Liu, D., Gonzalez-Gutierrez, G., Ghozayel, M. K., Xu, D., & Meroueh, S. O. (2020). Small-molecule covalent bond formation at tyrosine creates a binding site and inhibits activation of Ral GTPases. *Proceedings of the*

- National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(13), 7131–7139. <https://doi.org/10.1073/pnas.1913654117>
26. Carlberg, I., & Mannervik, B. (1985). Glutathione reductase. *Methods in enzymology*, 113, 484–490. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(85\)13062-4](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(85)13062-4) .
27. Chandrashekar, P. M., & Venkatesh, Y. P. (2009). Identification of the protein components displaying immunomodulatory activity in aged garlic extract. *Journal of ethnopharmacology*, 124(3), 384–390. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.05.030> .
28. Chen, Z., Xie, L., Xu, J., Lin, X., Ye, J., Shao, R., & Yao, X. (2021). Changes in alkaline phosphatase, calcium, C-reactive protein, D-dimer, phosphorus and hemoglobin in elderly osteoporotic hip fracture patients. *Annals of palliative medicine*, 10(2), 1079–1088. <https://doi.org/10.21037/apm-20-218>
29. Choi, I. H.; Park, W. Y.; Kim, Y. J. (2010). Effects of dietary garlic powder and α -tocopherol supplementation on performance, serum cholesterol levels, and meat quality of chicken. *Poult. Sci.* 89, 1724-1731, <https://doi.org/10.3382/ps.2009-00052>.
30. Curtis, H., Noll, U., Störmann, J., Slusarenko, A. J. (2004). Broad-spectrum activity of the volatile phytoanticipin allicin in extracts of garlic (*Allium sativum* L.) against plant pathogenic bacteria, fungi and Oomycetes. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*; 65: 79–89. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2004.11.006> .
31. Dalle-Donne, I., Rossi, R., Colombo, G., Giustarini, D., & Milzani, A. (2009). Protein S-glutathionylation: a regulatory device from bacteria to humans. *Trends in biochemical sciences*, 34(2), 85–96. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2008.11.002>
32. Dean, R. T., Roberts, C. R., & Jessup, W. (1985). Fragmentation of extracellular and intracellular polypeptides by free radicals. *Progress in clinical and biological research*, 180, 341–350.
33. Dmitryjuk, M., Szczotko, M., Kubiak, K., Trojanowicz, R., Parashchyn, Z., Khomitska, H., & Lubenets, V. (2020). S-methyl-(2-methoxycarbonylamino-benzimidazole-5) thiosulfonate as a potential antiparasitic agent – its action on the

- development of *Ascaris suum* eggs in vitro. *Pharmaceuticals*, 13(11), 332. <https://doi.org/10.3390/ph13110332> .
34. Edwards, P. A., & Ericsson, J. (1999). Sterols and isoprenoids: signaling molecules derived from the cholesterol biosynthetic pathway. *Annual review of biochemistry*, 68(1), 157-185.
35. El Bcheraoui, C., Mokdad, A. H., Dwyer-Lindgren, L., Bertozzi-Villa, A., Stubbs, R. W., Morozoff, C., Shirude, S., Naghavi, M., & Murray, C. J. L. (2018). Trends and Patterns of Differences in Infectious Disease Mortality Among US Counties, 1980-2014. *JAMA*, 319(12), 1248–1260. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.2089>
36. El-Saber Batiha, G., Magdy Beshbishy, A., G Wasef, L., Elewa, Y. H. A., A Al-Sagan, A., Abd El-Hack, M. E., Taha, A. E., M Abd-Elhakim, Y., & Prasad Devkota, H. (2020). Chemical Constituents and Pharmacological Activities of Garlic (*Allium sativum* L.): A Review. *Nutrients*, 12(3), 872. <https://doi.org/10.3390/nu12030872>
37. Erkkilä, K., Hirvonen, V., Wuokko, E., Parvinen, M., & Dunkel, L. (1998). N-acetyl-L-cysteine inhibits apoptosis in human male germ cells *in vitro*. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 83(7), 2523–2531. <https://doi.org/10.1210/jcem.83.7.4949>
38. Espenshade P. J. (2006). SREBPs: sterol-regulated transcription factors. *Journal of cell science*, 119(Pt 6), 973–976. <https://doi.org/10.1242/jcs.02866>
39. Eylar, E., Rivera-Quinones, C., Molina, C., Báez, I., Molina, F., & Mercado, C. M. (1993). N-acetylcysteine enhances T cell functions and T cell growth in culture. *International immunology*, 5(1), 97–101. <https://doi.org/10.1093/intimm/5.1.97>.
40. Fahey R. C. (2001). Novel thiols of prokaryotes. *Annual review of microbiology*, 55, 333–356. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.55.1.333>
41. Feng, M., Tang, B., Liang, S. H., & Jiang, X. (2016). Sulfur Containing Scaffolds in Drugs: Synthesis and Application in Medicinal Chemistry. *Current topics in*

- medicinal chemistry*, 16(11), 1200–1216.
<https://doi.org/10.2174/1568026615666150915111741>
42. Folch, J., Ascoli, I., Lees, M., Meath, J. A., & LeBaron, F. N. (1951). Preparation of lipide extracts from brain tissue. *Journal of Biological Chemistry*, 191(2), 833–841.
43. Folch, J., Lees, M., & Sloane Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226(1), 497–509.
44. Forman, H. J., Zhang, H., & Rinna, A. (2009). Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Molecular aspects of medicine*, 30(1-2), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2008.08.006>
45. Freedman, J. E. (2005). Molecular regulation of platelet-dependent thrombosis. *Circulation*, 112(17), 2725–2734.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.104.494468>
46. Freeman, F. Angeletakis, C. (1985). Formation of elusive vic-disulfoxides and OS-sulfenyl sulfinates during the m-chloroperoxybenzoic acid (MCPBA) oxidation of alkyl aryl disulfides and their regioisomeric sulfinothioic acid S-esters. *J. Org. Chem.* 50(6), 793–798.
47. Freeman, M. R., Schneck, F. X., Gagnon, M. L., Corless, C., Soker, S., Niknejad, K., Peoples, G. E., & Klagsbrun, M. (1995). Peripheral blood T lymphocytes and lymphocytes infiltrating human cancers express vascular endothelial growth factor: a potential role for T cells in angiogenesis. *Cancer research*, 55(18), 4140–4145.
48. Fukao, H., Yoshida, H., Tazawa, Y. (2007). Antithrombotic effects of odorless garlic powder both *in vitro* and *in vivo*. *Biosci Biotechnol Biochem.*, 71(1), 84–90.
<https://doi.org/10.1271/bbb.60380> .
49. Gaballa, A., Newton, G. L., Antelmann, H., Parsonage, D., Upton, H., Rawat, M., Claiborne, A., Fahey, R. C., & Helmann, J. D. (2010). Biosynthesis and functions of bacillithiol, a major low-molecular-weight thiol in Bacilli. *Proceedings of the*

- National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(14), 6482–6486. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000928107>
50. Gail, M. H., You, W. C., Chang, Y. S., Zhang, L., Blot, W. J., Brown, L. M., Groves, F. D., Heinrich, J. P., Hu, J., Jin, M. L., Li, J. Y., Liu, W. D., Ma, J. L., Mark, S. D., Rabkin, C. S., Fraumeni, J. F., Jr, & Xu, G. W. (1998). Factorial trial of three interventions to reduce the progression of precancerous gastric lesions in Shandong, China: design issues and initial data. *Controlled clinical trials*, 19(4), 352–369. [https://doi.org/10.1016/s0197-2456\(98\)00016-6](https://doi.org/10.1016/s0197-2456(98)00016-6)
 51. Gamkrelidze, N., Sanikidze, T., Pavliashvili, N., Petriashvili, T., & Topuridze, M. (2016). Changes of lipoperoxidation and antioxidative enzymes during crush-syndrome modelling. *Georgian medical news*, (251), 84–88.
 52. Gangemi, C. M., D'Agostino, E., Aversa, M. C., Barattucci, A., & Bonaccorsi, P. M. (2023). Sulfoxides and disulfides from sulfenic acids: Synthesis and applications. *Tetrahedron*, 143, 133550. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2023.133550>
 53. Gfeller, D., Grosdidier, A., Wirth, M., Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2014). SwissTargetPrediction: a web server for target prediction of bioactive small molecules. *Nucleic acids research*, 42(Web Server issue), W32–W38. <https://doi.org/10.1093/nar/gku293> .
 54. Green, M. R., & Sambrook, J. (2020). Alkaline Phosphatase. *Cold spring harbor protocols*, 8, 100768. <http://doi.org/10.1101/pdb.top100768>
 55. Gruhlke, M. C., Antelmann, H., Bernhardt, J., Kloubert, V., Rink, L., & Slusarenko, A. J. (2019). The human allicin-proteome: S-thioallylation of proteins by the garlic defence substance allicin and its biological effects. *Free Radical Biology and Medicine*, 131, 144-153. <http://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.11.022> .
 56. Gruhlke, M. C., Hemmis, B., Noll, U., Wagner, R., Lühring, H., & Slusarenko, A. J. (2015). The defense substance allicin from garlic permeabilizes membranes of *Beta vulgaris*, *Rhoeo discolor*, *Chara corallina* and artificial lipid bilayers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1850(4), 602-611. <http://doi.org/10.1016/j.bbagen.2014.11.020> .

57. Gruhlke, M. C., Portz, D., Stitz, M., Anwar, A., Schneider, T., Jacob, C., Schlaich, N. L., & Slusarenko, A. J. (2010). Allicin disrupts the cell's electrochemical potential and induces apoptosis in yeast. *Free radical biology & medicine*, 49(12), 1916–1924. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.019>.
58. Gruhlke, M. C., Schlembach, I., Leontiev, R., Uebachs, A., Gollwitzer, P. U., Weiss, A., ... & Slusarenko, A. J. (2017). Yap1p, the central regulator of the *S. cerevisiae* oxidative stress response, is activated by allicin, a natural oxidant and defence substance of garlic. *Free Radical Biology and Medicine*, 108, 793-802. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.05.004> .
59. Gu, X., Wu, H., & Fu, P. (2013). Allicin attenuates inflammation and suppresses HLA-B27 protein expression in ankylosing spondylitis mice. *BioMed research international*, 2013, 171573. <https://doi.org/10.1155/2013/171573>
60. Guillamón, E., Mut-Salud, N., Rodríguez-Sojo, M. J., Ruiz-Malagón, A. J., Cuberos-Escobar, A., Martínez-Férez, A., Rodríguez-Nogales, A., Gálvez, J., & Baños, A. (2023). In Vitro Antitumor and Anti-Inflammatory Activities of *Allium*-Derived Compounds Propyl Propane Thiosulfonate (PTSO) and Propyl Propane Thiosulfinate (PTS). *Nutrients*, 15(6), 1363. <https://doi.org/10.3390/nu15061363>
61. Guo, T., Xia, R., Chen, M., Su, S., He, J., He, M., ... & Xue, W. (2019). Biological activity evaluation and action mechanism of 1, 4-Pentadien-3-one derivatives containing thiophene sulfonate. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 195(2), 123-130. <https://doi.org/10.1080/10426507.2019.1655418>.
62. Haase, H., Hieke, N., Plum, L. M., Gruhlke, M. C., Slusarenko, A. J., & Rink, L. (2012). Impact of allicin on macrophage activity. *Food chemistry*, 134(1), 141-148. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.080>.
63. Halenova T. I., Nikolaeva I. V., Stasevych M. V., Zvarych V. I., Lunin V. V., Novikov V. P., Savchuk O. M. (2017) Platelet aggregation under the influence of some dithiocarbamate derivatives of 9,10-anthracenedione. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* , 8, 1626–1632. <https://doi.org/10.24959/ophcj.17.919> .

64. Halenova, T. I., Nikolaeva, I. V., Nakonechna, A. V., Bolibrukh, K. B., Monka, N. Y., Lubenets, V. I., ... & Ostapchenko, L. I. (2015). The search of compounds with antiaggregation activity among S-esters of thiosulfonic acids. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 87(5), 83-92. <https://doi.org/10.15407/ubj87.05.083> .
65. Hayashi, S., Furukawa, M., Fujino, Y., & Matsukura, H. (1969). Studies on antitumor substances. IX. Chemical behaviors of thiosulfonate toward active methylene compound. *Chemical & pharmaceutical bulletin*, 17(3), 419–424. <https://doi.org/10.1248/cpb.17.419>
66. Heck, D. E., Shakarjian, M., Kim, H. D., Laskin, J. D., & Vetrano, A. M. (2010). Mechanisms of oxidant generation by catalase. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1203, 120–125. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05603.x>
67. Henkemeyer, M., Orioli, D., Henderson, J. T., Saxton, T. M., Roder, J., Pawson, T., & Klein, R. (1996). Nuk controls pathfinding of commissural axons in the mammalian central nervous system. *Cell*, 86(1), 35–46. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80075](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80075) .
68. Hochachka, P. W., & Somero, G. N. (2002). Biochemical adaptation: mechanism and process in physiological evolution. Oxford university press. 480 p.
69. Hosoki, R., Matsuki, N., & Kimura, H. (1997). The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide. *Biochemical and biophysical research communications*, 237(3), 527–531. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1997.6878>
70. Hubbard, S. R., & Till, J. H. (2000). Protein tyrosine kinase structure and function. *Annual review of biochemistry*, 69, 373–398. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.69.1.373>
71. Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria journal of medicine*, 54(4), 287-293. <https://doi.org/10.1016/ij.ajme.2017.09.001> .
72. Iskra, R. Ya. (2013) The peculiarities of operation of glutathione component of antioxidant protection and lipid metabolism in pregnant rat females under the

- action of chromium citrate. *Studia Biologica*, 7(1); 71–80. <https://doi.org/10.30970/sbi.0701.276>]
73. Iskra, R., & Liubas, N. Вплив S-естерів тіосульфокислот на окремі біохімічні показники крові щурів. Вісник Львівського університету. Серія біологічна, (89), 20-26. <https://doi.org/10.30970/VLUBS.2023.89.02>.
74. Jandke, J., & Spiteller, G. (1987). Unusual conjugates in biological profiles originating from consumption of onions and garlic. *Journal of chromatography*, 421(1), 1–8. [https://doi.org/10.1016/0378-4347\(87\)80373-0](https://doi.org/10.1016/0378-4347(87)80373-0) .
75. Ji, X., & Hou, M. (2011). Novel agents for anti-platelet therapy. *Journal of hematology & oncology*, 4, 1-7. <https://doi.org/10.1186/1756-8722-4-44> .
76. Jung, H. J., Kyung, K. H., Jung, Y. S., & Kyung, S. H. (2008). Synthesis and Biological Activities of Alkyl Thiosulfonates. *Applied Biological Chemistry*, 51(3), 183-187. 2468-0842(eISSN)
77. Kates, M. (1986). *Techniques of lipidology*. Amsterdam: Elsevier; 451 p.
78. Kennett, E. C., & Kuchel, P. W. (2003). Redox reactions and electron transfer across the red cell membrane. *IUBMB life*, 55(7), 375–385. <https://doi.org/10.1080/15216540310001592843>
79. Kim, Y. S., Kim, K. S., Han, I., Kim, M. H., Jung, M. H., & Park, H. K. (2012). Quantitative and qualitative analysis of the antifungal activity of allicin alone and in combination with antifungal drugs. *PloS one*, 7(6), e38242. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038242>
80. Klaassen, C. D., & Reisman, S. A. (2010). Nrf2 the rescue: effects of the antioxidative/electrophilic response on the liver. *Toxicology and applied pharmacology*, 244(1), 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2010.01.013>
81. Kohn, D. F., & Clifford, C. B. (2002). Biology and diseases of rats. *Laboratory animal medicine*, 121-165. <https://doi.org/10.1016/B978-012263951-7/50007-7> .
82. Kotyk, B., Iskra, R. Y., Slivinska, O. M., Liubas, N. M., Pylypets, A. Z., Lubenets, V. I., & Pryimych, V. I. (2020). Effects of ethylthiosulfanyl and chromium (VI) on the state of pro/antioxidant system in rat liver. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 92(5), 78-86. <https://doi.org/10.15407/ubj92.05.078> .

83. Kozachok, M. M., Osodlo, G. V., & Kucz, T. V. (2006). The role and place of essential phospholipids in the treatment of chronic diffuse liver diseases. *Suchasna gastroenterologiya*, 4(30), 95-101.
84. Kyung, K. H. & Fleming, H. P. (1994). S-Methyl-L-Cysteine Sulfoxide as the Precursor of Methyl Methanethiolsulfonate, the Principal Antibacterial Compound in Cabbage. *J. Food Sci.* 59, 350–355
85. Kyung, K. H. & Fleming, H. P. (1997) Antimicrobial activity of sulfur compounds derived from cabbage. *J. Food Protect.* 60, 67–71
86. Kyung, K. H. (2012). Antimicrobial properties of allium species. *Current opinion in biotechnology*, 23(2), 142–147. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.08.004> .
87. Laemmli U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0> .
88. Lang, A., Lahav, M., Sakhnini, E., Barshack, I., Fidler, H. H., Avidan, B., Bardan, E., Hershkovich, R., Bar-Meir, S., & Chowers, Y. (2004). Allicin inhibits spontaneous and TNF-alpha induced secretion of proinflammatory cytokines and chemokines from intestinal epithelial cells. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 23(5), 1199–1208. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2004.03.011>
89. Lawson, L. D., & Hughes, B. G. (1992). Characterization of the formation of allicin and other thiosulfinates from garlic. *Planta medica*, 58(4), 345–350. <https://doi.org/10.1055/s-2006-961482>
90. Leontiev, R., Hohaus, N., Jacob, C., Gruhlke, M. C., & Slusarenko, A. J. (2018). A comparison of the antibacterial and antifungal activities of thiosulfinate analogues of allicin. *Scientific reports*, 8(1), 6763. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25154-9>
91. Li, R., Pourpak, A., & Morris, S. W. (2009). Inhibition of the insulin-like growth factor-1 receptor (IGF1R) tyrosine kinase as a novel cancer therapy approach. *Journal of medicinal chemistry*, 52(16), 4981–5004. <https://doi.org/10.1021/jm9002395> .

92. Li, T., & Chiang, J. Y. (2009). Regulation of bile acid and cholesterol metabolism by PPARs. *PPAR research*, 2009, 501739. <https://doi.org/10.1155/2009/501739>
93. Lindsay Blume, Timothy E. Long Edward Turos Applications and Opportunities in Using Disulfides, Thiosulfinates, and Thiosulfonates as Antibacterials. *Int. J. Mol. Sci.* 2023, 24(10), 8659; <https://doi.org/10.3390/ijms24108659>
94. Liu, L., & Yeh, Y. Y. (2000). Inhibition of cholesterol biosynthesis by organosulfur compounds derived from garlic. *Lipids*, 35(2), 197–203. <https://doi.org/10.1007/BF02664770>
95. Liubas, N. M. Blood lipid profile in animals for the influence of synthetic sulfur-containing compounds. Proceedings of the 10th International scientific and practical conference «Modern problems of science, education and society». (Kyiv, December 4-6, 2023). – P. 88-90.
96. Liubas, N. M., & Oliynyk, I. Y. (2023). The role of oil solutions of thiosulfonates in the modulation of antioxidant parameters in rat kidneys (2023) *The Animal Biology*, 25(3), 13-18. <https://doi.org/10.15407/animbiol25.03.013>.
97. Liubas, N. M., Iskra, R. Ya. Effect of thiosulfonate esters on the content of total protein and lipids in the blood of animals. *Food Additives. Healthy Man and Human Patient Diet: proceedings of X International scientific and practical internet conference.* Prague, Oktan-Print s.r.o., 2023. p. 193-194. <https://doi.org/10.46489/FAHM-23-25>.
98. Liubas, N. M., Iskra, R. Ya., Kotyk, B. I., Monka, N. Ya., Lubenets, V. I. (2022). Prooxidant-antioxidant profile in tissues of rats under the action of thiosulfonate esters. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 94(6), 18-29. <https://doi.org/10.15407/ubj94.06.018>.
99. Liubas, N. M., Iskra, R. Ya. (2021). Influence of thiosulfonates on the activity of antioxidant protection enzymes in rat liver. Abstracts of XV IMBG all-Ukrainian Conference of Young Scientists with international participation. *Biopolymers and Cell.* 37(3), P. 225. <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000A56>.
100. Liubas, N., Bedrylo, A., Terletska, M., Iskra, R. (2023) Effect of thiosulfonate esters on the activity of antioxidant defense enzymes in rat blood. Abstracts of

- XIX International Scientific Conference for Students and PhD Students «Youth and Progress of Biology» (Lviv, April 26–27, 2023). P. 187 – 188.
101. Liubas, N., Iskra, R., & Lubenets, V. Antioxidant defense system of rat liver under the influence thiosulfonates esters. (2023). *Studia Biologica*, 17(2), 43–56. <https://doi:10.30970/sbi.1702.709>.
102. Liubas, N., Terletska ,M., Bedrylo, A., Iskra, R., Lubenets, V. (2022). Activities of catalase and superoxide dismutase in the liver of rats under the thiosulfonate esters action. Abstracts of XVIII International Scientific Conference for Students and PhD Students dedicated to the 195th anniversary from the birthday of Julius Planer «Youth and Progress of Biology» (Lviv, October 6–7, 2022). *Lviv: SPOLOM*, P. 154 – 155.
103. Liubas, N.; Iskra, R.; Stadnytska, N.; Monka, N.; Havryliak, V.; Lubenets, V. (2022). Antioxidant activity of thiosulfonate compounds in experiments *in vitro* and *in vivo*. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 12(3) 3106–3116. <https://doi.org/10.33263/BRIAC123.31063116>.
104. López-Mirabal, H. R., Torsen, M., Kielland-Brandt, M. C., Toledano, M. B. & Winther, J. R. (2007) Cytoplasmic glutathione redox status determines survival upon exposure to the thiol-oxidant 4,4'-dipyridyl disulfide. *FEMS Yeast Research*. 7(3):391-403. <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2006.00202.x> .
105. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265–275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6) .
106. Lubenets V., Karpenko O., Ponomarenko M., Zahoriy G., Krychkovska A., Novikov V.. Development of new antimicrobial compositions of thiosulfonate structure. *Chemistry & Chemical Technology*. 2013, 7(2), 119.
107. Lubenets, V. I. (2003). Thiosulphonates: synthesis and properties. *Ukr khim Zhurn*. 69(3), 109-117.
108. Lubenets, V. I., Havryliak, V. V., Pylypets, A. Z., & Nakonechna, A. V. (2018). Changes in the spectrum of proteins and phospholipids in tissues of rats exposed

- to thiosulfonates. *Regulatory mechanisms in biosystems*, 9(4), 495-500. <https://doi.org/10.15421/021874>.
109. Lubenets, V., Parashchyn, Z., Vasylyuk, S., Novikov, V. The S-methyl-(2-methoxycarbonylamino- benzimidazole-5) thiosulfonate as potential anticancer agents // *Global journal of Pharmacy & Pharmaceutical Science* **2017**, 3, 27-29, <https://doi.org/10.19080 / GJPPS.2017.03.555607>
110. Lubenets, V., Vasylyuk, S., Monka, N., Bolibrukh, K., Komarovska-Porokhnyavets, O., Baranovych, D., Musyanovych, R., Zaczynska, E., Czarny, A., Nawrot, U., & Novikov, V. (2017). Synthesis and antimicrobial properties of 4-acylamino-benzenethiosulfoacid S-esters. *Saudi pharmaceutical journal : SPJ : the official publication of the Saudi Pharmaceutical Society*, 25(2), 266–274. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2016.06.007>
111. Lubenets, V.; Stadnytska, N.; Baranovych, D.; Vasylyuk, S.; Karpenko O.; Havryliak V.; Novikov V. Thiosulfonates: the prospective substances against fungal infections. In: *Fungal Infection*, ed. By É. S. de Loreto and J. S. M. Tondolo. *Intech Open*, 2019, 1–24. <https://doi.org/10.5772/intechopen.84436>
112. MacDonald, J. A., & Langler, R. F. (2000). Structure-activity relationships for selected sulfur-rich antithrombotic compounds. *Biochemical and biophysical research communications*, 273(2), 421–424. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.2950>
113. Macedo, E., & Mehta, R. L. (2018). Clinical approach to the diagnosis of acute kidney injury. *National Kidney Foundation Primer on Kidney Diseases* (pp. 300-310). <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-47794-9.00031-7>
114. Magendiramani, V., Umesalma, S., Kalayarasan, S., Nagendraprabhu, P., Arunkumar, J., & Sudhandiran, G. (2009). S-allylcysteine attenuates renal injury by altering the expressions of iNOS and matrix metallo proteinase-2 during cyclosporine-induced nephrotoxicity in *Wistar* rats. *Journal of applied toxicology: JAT*, 29(6), 522–530. <https://doi.org/10.1002/jat.1437>
115. Maino, A., Siegerink, B., Algra, A., Peyvandi, F., Rosendaal, F. R. (2016). Recurrence and Mortality in Young Women With Myocardial Infarction or

- Ischemic Stroke. *JAMA Internal Medicine*, 176(1), 134–136.
<https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2015.6523>
116. Mampuy, P., McElroy, C. R., Clark, J. H., Orru, R. V. A., & Maes, B. U. W. (2019). Thiosulfonates as emerging reactants: synthesis and applications. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 362(1), 3–64.
<https://doi.org/10.1002/adsc.201900864> .
117. Margalef, J., & Samec, J. S. M. (2021). Assessing methodologies to synthesize α -Sulfenylated carbonyl compounds by green chemistry metrics. *ChemSusChem*, 14(3), 808–823. <https://doi.org/10.1002/cssc.202002409> .
118. Marí, M., de Gregorio, E., de Dios, C., Roca-Agujetas, V., Cucarull, B., Tutusaus, A., Morales, A., & Colell, A. (2020). Mitochondrial glutathione: recent insights and role in disease. *Antioxidants*, 9(10), 909.
<https://doi.org/10.3390/antiox9100909>
119. Marsh, C. L., Torrey, R. R., Woolley, J. L., Barker, G. R., & Lau, B. H. (1987). Superiority of intravesical immunotherapy with *Corynebacterium parvum* and *Allium sativum* in control of murine bladder cancer. *The Journal of urology*, 137(2), 359–362. [https://doi.org/10.1016/s0022-5347\(17\)44023-7](https://doi.org/10.1016/s0022-5347(17)44023-7) .
120. Martin, S. A., Brash, A. R., & Murphy, R. C. (2016). The discovery and early structural studies of arachidonic acid. *Journal of lipid research*, 57(7), 1126–1132. <https://doi.org/10.1194/jlr.R068072>
121. Martínez, M., Martínez, N., Hernández, A. I., & Ferrándiz, M. L. (1999). Hypothesis: can N-acetylcysteine be beneficial in Parkinson's disease? *Life sciences*, 64(15), 1253–1257. [https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(98\)00472-x](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(98)00472-x) .
122. Martínez-Fernández, G.; Abecia, L.; Martín-García, A. I.; Ramos-Morales, E.; Denman, S. E.; Newbold, C. J.; Molina-Alcaide, E.; Yáñez-Ruiz, D. R. Response of the rumen archaeal and bacterial populations to anti-methanogenic organosulphur compounds in continuous-culture fermenters. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2015, 91, <https://doi:10.1093/femsec/fiv079> .

123. Martini, H., & Passos, J. F. (2023). Cellular senescence: all roads lead to mitochondria. *The FEBS journal*, 290(5), 1186–1202. <https://doi.org/10.1111/febs.16361>
124. Martirosyan, I., Pakholiuk, O., Semak, B., Lubenets, V., & Peredriy, O. (2019). Investigation of wear resistance of cotton-polyester fabric with antimicrobial treatment. *Grabchenko's International Conference on Advanced Manufacturing Processes*, 433-441.
125. Martyrosian, I.A.; Pakholiuk, O.V.; Semak, B.D.; Komarovska-Porokhniavets, O.Z.; Lubenets, V.I.; Pambuk, S.A. New Technologies of Effective Protection of Textiles Against Microbiological Damage. *NANOSISTEMI, NANOMATERIALI, NANOTEHNOLOGII*. **2019**, 17 (4), 621–636, <https://doi.org/10.15407/nnn.17.04.621>
126. Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesi, C., & Giovannini, C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *The Journal of nutritional biochemistry*, 16(10), 577–586. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2005.05.013>
127. Melekh, B., Ilkiv, I., Lozynskyi, A., & Sklyarov, A. (2017). Antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in rat liver exposed to celecoxib and lansoprazole under epinephrine-induced stress. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7(10), 094-099. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2017.71013>
128. Meyer, Y., Buchanan, B. B., Vignols, F., & Reichheld, J. P. (2009). Thioredoxins and glutaredoxins: unifying elements in redox biology. *Annual review of genetics*, 43, 335–367. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-102108-134201>
129. Miron, T., Rabinkov, A., Mirelman, D., Wilchek, M., & Weiner, L. (2000). The mode of action of allicin: its ready permeability through phospholipid membranes may contribute to its biological activity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1463(1), 20-30. [https://doi.org/10.1016/s0005-2736\(99\)00174-1](https://doi.org/10.1016/s0005-2736(99)00174-1)

130. Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. sci. technol*, 26(2), 211-219.
131. Morgan, G. A., Barrett, K. C., Leech, N. L., & Gloeckner, G. W. (2019). IBM SPSS for introductory statistics: Use and interpretation. P. 250.
132. Mustafa, M., & Winum, J. Y. (2022). The importance of sulfur-containing motifs in drug design and discovery. *Expert opinion on drug discovery*, 17(5), 501–512. <https://doi.org/10.1080/17460441.2022.2044783> .
133. Nakamura, K., Maeda, H., Nakagawa, T., Sakuma, H., Kitano, T., Takeda, K., & Yamaguchi, N. (1988). *Kaku igaku. The Japanese journal of nuclear medicine*, 25(12), 1363–1369.
134. Nakamura, Y., Matsuo, T., Shimoi, K., Nakamura, Y., & Tomita, I. (1993). S-methyl methane thiosulfonate, a new antimutagenic compound isolated from *Brassica oleracea* L. var. botrytis. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 16(2), 207–209. <https://doi.org/10.1248/bpb.16.207>
135. Newton, G. L., Arnold, K., Price, M. S., Sherrill, C., Delcardayre, S. B., Aharonowitz, Y., Cohen, G., Davies, J., Fahey, R. C., & Davis, C. (1996). Distribution of thiols in microorganisms: mycothiol is a major thiol in most actinomycetes. *Journal of bacteriology*, 178(7), 1990–1995. <https://doi.org/10.1128/jb.178.7.1990-1995.1996>
136. Nguyen, T., Sherratt, P. J., & Pickett, C. B. (2003). Regulatory mechanisms controlling gene expression mediated by the antioxidant response element. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 43, 233–260. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.43.100901.140229>
137. Njus, D., Kelley, P. M., Tu, Y. J., & Schlegel, H. B. (2020). Ascorbic acid: The chemistry underlying its antioxidant properties. *Free Radical Biology and Medicine*, 159, 37-43. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.07.013>
138. Noboru, T., Watanabe, N., & Suenaga, K. (2001). Isolation and structures of hedathiosulfonic acids A and B, novel thiosulfonic acids from the deep-sea urchin *Echinocardium cordatum*. *Tetrahedron lett*, 42, 6557-6560.

139. Novikov, V., Zaichenko, A., Mitina, N., Shevchuk, O., Rayevska, K., Lobaz, V., ... & Lastukhin, Y. (2004). Inorganic, polymeric and hybrid colloidal carriers with multi-layer reactive shell. *Macromolecular Symposia*, 210(1), 193-202. <https://doi.org/10.1002/masy.200450622>.
140. Odewumi, C. O., Badisa, V. L., Le, U. T., Latinwo, L. M., Ikediobi, C. O., Badisa, R. B., & Darling-Reed, S. F. (2011). Protective effects of N-acetylcysteine against cadmium-induced damage in cultured rat normal liver cells. *International journal of molecular medicine*, 27(2), 243–248. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2010.564> .
141. Ogita, A., Hirooka, K., Yamamoto, Y., Tsutsui, N., Fujita, K., Taniguchi, M., & Tanaka, T. (2005). Synergistic fungicidal activity of Cu(2+) and allicin, an allyl sulfur compound from garlic, and its relation to the role of alkyl hydroperoxide reductase 1 as a cell surface defense in *Saccharomyces cerevisiae*. *Toxicology*, 215(3), 205–213. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2005.07.006>
142. Oriabinska, S.; Starovoitova, S.; Vasylyuk, V.; Novikov, V.; Lubenets, V. (2017) Ethylthiosulfanilate effect on *Candida tropicalis*. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 89 (5), 70–76, <https://doi.org/10.15407/ubj89.05.070>
143. Papageorgiou, C., Corbet, J. P., Menezes-Brandao, F., Pecegueiro, M., & Benezra, C. (1983). Allergic contact dermatitis to garlic (*Allium sativum* L.). Identification of the allergens: the role of mono-, di-, and trisulfides present in garlic. A comparative study in man and animal (guinea-pig). *Archives of dermatological research*, 275(4), 229–234. <https://doi.org/10.1007/BF00416666> .
144. Park J. B. (2009). Isolation and characterization of N-feruloyltyramine as the P-selectin expression suppressor from garlic (*Allium sativum*). *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(19), 8868–8872. <https://doi.org/10.1021/jf9018382>
145. Patya, M., Zahalka, M. A., Vanichkin, A., Rabinkov, A., Miron, T., Mirelman, D., Wilchek, M., Lander, H. M., & Novogrodsky, A. (2004). Allicin stimulates lymphocytes and elicits an antitumor effect: a possible role of p21ras.

International immunology, 16(2), 275–281.

<https://doi.org/10.1093/intimm/dxh038>

146. Peinado, M. J., Ruiz, R., Echávarri, A., & Rubio, L. A. (2012). Garlic derivative propyl propane thiosulfonate is effective against broiler enteropathogens *in vivo*. *Poultry science*, 91(9), 2148–2157. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02280>.
147. Perelló, A., Gruhlke, M., & Slusarenko, A. J. (2013). Effect of garlic extract on seed germination, seedling health, and vigour of pathogen-infested wheat. *Journal of plant protection research*, 53(4), 317–324. <https://doi.org/10.2478/jppr-2013-0048>.
148. Pettersen, A. A., Arnesen, H., Seljeflot, I. (2015). A brief review on high on-aspirin residual platelet reactivity. *Vascul Pharmacol.*, 67 (69), 6–9. doi: 10.1016/j.vph.2015.03.018. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2015.03.018>
149. Poli, V., Madduru, R., Aparna, Y., Kandukuri, V., & Motireddy, S. R. (2022). Amelioration of Cadmium-Induced Oxidative Damage in Wistar Rats by Vitamin C, Zinc and *N*-Acetylcysteine. *Medical sciences (Basel, Switzerland)*, 10(1), 7. <https://doi.org/10.3390/medsci10010007>.
150. Poole L. B. (2004). Formation and functions of protein sulfenic acids. *Current protocols in toxicology*, Chapter 17, Unit17.1. <https://doi.org/10.1002/0471140856.tx1701s18>.
151. Prager-Khoutorsky, M., Goncharov, I., Rabinkov, A., Mirelman, D., Geiger, B., & Bershadsky, A. D. (2007). Allicin inhibits cell polarization, migration and division via its direct effect on microtubules. *Cell motility and the cytoskeleton*, 64(5), 321–337. <https://doi.org/10.1002/cm.20185>
152. Prasad, V. N. V. (2000). Synthesis of Heterocyclic Thiosulfonates. *J. Org. Lett.* 2(8), 1069–1072. <https://doi.org/10.1021/ol0056170>
153. Pylypets, A. Z., Iskra, R. Y., Havryliak, V. V., Nakonechna, A. V., Novikov, V. P., & Lubenets, V. I. (2017). Effects of thiosulfonates on the lipid composition of rat tissues. *The Ukrainian Biochemical Journal*, (89, № 6), 56–62. <https://doi.org/10.15407/ubj89.06.056>.

154. Rabinkov, A., Wilchek, M., & Mirelman, D. (1995). Alliinase (alliin lyase) from garlic (*Allium sativum*) is glycosylated at ASN146 and forms a complex with a garlic mannose-specific lectin. *Glycoconjugate journal*, 12(5), 690–698. <https://doi.org/10.1007/BF00731266> .
155. Rahman, K. (2007). Effects of garlic on platelet biochemistry and physiology. *Mol. Nutr Food*, 51(11), 1335–1344. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700058> .
156. Reeves, B. D., Hilmer, J. K., Mellmann, L., Hartzheim, M., Poffenberger, K., Johnson, K., Joshi, N., Singel, D. J., & Grieco, P. A. (2013). Selective trapping of SNO-BSA and GSNO by benzenesulfinic acid sodium salt: mechanistic study of thiosulphonate formation and feasibility as a protein S-nitrosothiol detection strategy. *Tetrahedron letters*, 54(42). <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2013.08.011> .
157. Revell, K. D., Heldreth, B., Long, T. E., Jang, S., & Turos, E. (2007). N-thiolated beta-lactams: Studies on the mode of action and identification of a primary cellular target in *Staphylococcus aureus*. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 15(6), 2453–2467. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2006.12.027> .
158. Romano, E. L., Montaña, R. F., Brito, B., Apitz, R., Alonso, J., Romano, M., Gebrán, S., Soyano, A. (1997). Effects of Ajoene on lymphocyte and macrophage membrane-dependent functions. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, 19(1), 15–36. <https://doi.org/10.3109/08923979709038531> .
159. Sánchez, C.J.; Martínez-Miró, S.; Ariza, J.J.; Madrid, J.; Orengo, J.; Aguinaga, M.A.; Baños, A.; Hernández, F. (2020). Effect of alliaceae extract supplementation on performance and intestinal microbiota of growing-finishing pig. *Animals*, 10, 1557. <https://doi.org/10.3390/ani10091557>
160. Sánchez-Valle, V., Chávez-Tapia, N. C., Uribe, M., & Méndez-Sánchez, N. (2012). Role of oxidative stress and molecular changes in liver fibrosis: a review. *Current medicinal chemistry*, 19(28), 4850–4860. <https://doi.org/10.2174/092986712803341520>
161. Sayre, L. M., Smith, M. A., & Perry, G. (2001). Chemistry and biochemistry of oxidative stress in neurodegenerative disease. *Current medicinal chemistry*, 8(7), 721–738. <https://doi.org/10.2174/0929867013372922>.

162. Schenk, P. W., & Snaar-Jagalska, B. E. (1999). Signal perception and transduction: the role of protein kinases. *Biochimica et biophysica acta*, 1449(1), 1–24. [https://doi.org/10.1016/s0167-4889\(98\)00178-5](https://doi.org/10.1016/s0167-4889(98)00178-5) .
163. Sela, U., Ganor, S., Hecht, I., Brill, A., Miron, T., Rabinkov, A., Wilchek, M., Mirelman, D., Lider, O., & HersHKoviz, R. (2004). Allicin inhibits SDF-1 α -induced T cell interactions with fibronectin and endothelial cells by down-regulating cytoskeleton rearrangement, Pyk-2 phosphorylation and VLA-4 expression. *Immunology*, 111(4), 391–399. <https://doi.org/10.1111/j.0019-2805.2004.01841.x>
164. Sener, G., Sakarcan, A., & Yegen, B. C. (2007). Role of garlic in the prevention of ischemia-reperfusion injury. *Molecular nutrition & food research*, 51(11), 1345–1352. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700078>
165. Shadkchan, Y., Shemesh, E., Mirelman, D., Miron, T., Rabinkov, A., Wilchek, M., & Osherov, N. (2004). Efficacy of allicin, the reactive molecule of garlic, in inhibiting *Aspergillus* spp. in vitro, and in a murine model of disseminated aspergillosis. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 53(5), 832–836. <https://doi.org/10.1093/jac/dkh174>
166. Shaikh, Z. A., Zaman, K., Tang, W., & Vu, T. (1999). Treatment of chronic cadmium nephrotoxicity by N-acetyl cysteine. *Toxicology letters*, 104(1-2), 137–142. [https://doi.org/10.1016/s0378-4274\(98\)00358-0](https://doi.org/10.1016/s0378-4274(98)00358-0) .
167. Sheng, Y., Abreu, I. A., Cabelli, D. E., Maroney, M. J., Miller, A. F., Teixeira, M., & Valentine, J. S. (2014). Superoxide dismutases and superoxide reductases. *Chemical reviews*, 114(7), 3854–3918. <https://doi.org/10.1021/cr4005296>
168. Sheppard, J. G., Frazier, K. R., Saralkar, P., Hossain, M. F., Geldenhuys, W. J., & Long, T. E. (2018). Disulfiram-based disulfides as narrow-spectrum antibacterial agents. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 28(8), 1298-1302. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2018.03.023> .
169. Shojaei-Zarghani, S., Najafi, N., Fattahi, M. R., & Safarpour, A. R. (2023). Influence of garlic on the glycemic control and lipid profile in animals with

- nonalcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. *Planta medica*, 89(12), 1125–1137. <https://doi.org/10.1055/a-2112-6204>
170. Sifuentes-Franco, S., Padilla-Tejeda, D. E., Carrillo-Ibarra, S., & Miranda-Díaz, A. G. (2018). Oxidative stress, apoptosis, and mitochondrial function in diabetic nephropathy. *International journal of endocrinology*, 1875870. <https://doi.org/10.1155/2018/1875870>
171. Spellberg, B., Guidos, R., Gilbert, D., Bradley, J., Boucher, H. W., Scheld, W. M., Bartlett, J. G., Edwards, J., Jr, & Infectious Diseases Society of America (2008). The epidemic of antibiotic-resistant infections: a call to action for the medical community from the Infectious Diseases Society of America. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 46(2), 155–164. <https://doi.org/10.1086/524891> .
172. Steiner, M., & Li, W. (2001). Aged garlic extract, a modulator of cardiovascular risk factors: a dose-finding study on the effects of AGE on platelet functions. *The Journal of nutrition*, 131(3s), 980S–4S. <https://doi.org/10.1093/jn/131.3.980S> .
173. Steiner, M., Khan, A., Holbert, D., Lin, R. (1996). A double-blind crossover study in moderately hypercholesterolemic men that compared the effect of aged garlic extract and placebo administration on blood lipids. *Am. J. Clin. Nutr.* 64(6), P. 866–870.
174. Stellenboom, N., Hunter, R., Caira, M., Bourne, S., Cele, K., & Qwebani, T. (2007). Synthesis and inclusion of S-aryl alkylthiosulfinates as stable allicin mimics. *OpenUCT*. 53-63. <http://hdl.handle.net/11427/35051>
175. Syrén, M. L., Turolo, S., de Marco, E. A., De Cosmi, V., Risé, P., Marangoni, F., Minoli, D. G., Manzoni, G., & Agostoni, C. (2022). Whole blood fatty acid profile of young subjects and adherence to the Mediterranean diet: an observational cohort study. *Lipids in health and disease*, 21(1), 23. <https://doi.org/10.1186/s12944-022-01633-x>
176. Teng, M., Ficarro, S. B., Yoon, H., Che, J., Zhou, J., Fischer, E. S., Marto, J. A., Zhang, T., & Gray, N. S. (2020). Rationally designed covalent BCL6 inhibitor

- that targets a tyrosine residue in the homodimer interface. *ACS medicinal chemistry letters*, 11(6), 1269–1273. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.0c00111>
177. Till, J. H., Becerra, M., Watty, A., Lu, Y., Ma, Y., Neubert, T. A., Burden, S. J., & Hubbard, S. R. (2002). Crystal structure of the MuSK tyrosine kinase: insights into receptor autoregulation. *Structure*, 10(9), 1187–1196. [https://doi.org/10.1016/s0969-2126\(02\)00814-6](https://doi.org/10.1016/s0969-2126(02)00814-6)
178. Turos, E., Revell, K. D., Ramaraju, P., Gergeres, D. A., Greenhalgh, K., Young, A., Sathyanarayan, N., Dickey, S., Lim, D., Alhamadsheh, M. M., & Reynolds, K. (2008). Unsymmetric aryl-alkyl disulfide growth inhibitors of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Bacillus anthracis*. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 16(13), 6501–6508. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.05.032>
179. Valastyan, S., Thakur, V., Johnson, A., Kumar, K., & Manor, D. (2008). Novel transcriptional activities of vitamin E: inhibition of cholesterol biosynthesis. *Biochemistry*, 47(2), 744–752. <https://doi.org/10.1021/bi701432q>
180. Vašková, J., Kočan, L., Vaško, L., & Perjési, P. (2023). Glutathione-Related Enzymes and Proteins: A Review. *Molecules*, 28(3), 1447. <https://doi.org/10.3390/molecules28031447>
181. Vavilin, V. A., Shintyapina, A. B., Safronova, O. G., Antontseva, E. V., Mordvinov, V. A., Nikishina, M. V., ... & Lyakhovich, V. V. (2014). Position of an active thiosulfonate group in new phenolic antioxidants is critical for ARE-mediated induction of GSTP1 and NQO1. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(4), 178. Available at: <https://www.jpsr.pharmainfo.in/Documents/Volumes/vol6issue04/jpsr06041403.pdf> .
182. Vezza, T., Algieri, F., Garrido-Mesa, J., Utrilla, M. P., Rodríguez-Cabezas, M. E., Baños, A., Guillamón, E., García, F., Rodríguez-Nogales, A., & Gálvez, J. (2019). The Immunomodulatory Properties of Propyl-Propane Thiosulfonate Contribute to its Intestinal Anti-Inflammatory Effect in Experimental Colitis.

- Molecular nutrition & food research*, 63(5), e1800653.
<https://doi.org/10.1002/mnfr.201800653>
183. Vimalraj, S. (2020). Alkaline phosphatase: Structure, expression and its function in bone mineralization. *Gene*, 754, 144855.
<https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.144855>
184. Waag, T., Gelhaus, C., Rath, J., Stich, A., Leippe, M., & Schirmeister, T. (2010). Allicin and derivatives are cysteine protease inhibitors with antiparasitic activity. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 20(18), 5541-5543.
<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.07.062>.
185. Wagner, D. D., & Burger, P. C. (2003). Platelets in inflammation and thrombosis. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 23(12), 2131-2137. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000095974.95122.EC>
186. Wallock-Richards, D., Doherty, C. J., Doherty, L., Clarke, D. J., Place, M., Govan, J. R., & Campopiano, D. J. (2014). Garlic revisited: antimicrobial activity of allicin-containing garlic extracts against *Burkholderia cepacia* complex. *PLoS One*, 9(12), <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112726> .
187. Whiteman, M., Li, L., Kostetski, I., Chu, S. H., Siau, J. L., Bhatia, M., & Moore, P. K. (2006). Evidence for the formation of a novel nitrosothiol from the gaseous mediators nitric oxide and hydrogen sulphide. *Biochemical and biophysical research communications*, 343(1), 303–310.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.02.154>
188. Yang, G., Wu, L., Jiang, B., Yang, W., Qi, J., Cao, K., Meng, Q., Mustafa, A. K., Mu, W., Zhang, S., Snyder, S. H., & Wang, R. (2008). H₂S as a physiologic vasorelaxant: hypertension in mice with deletion of cystathionine gamma-lyase. *Science*, 322(5901), 587–590. <https://doi.org/10.1126/science.1162667>
189. Yeh, Y. Y., & Yeh, S. M. (1994). Garlic reduces plasma lipids by inhibiting hepatic cholesterol and triacylglycerol synthesis. *Lipids*, 29(3), 189–193.
<https://doi.org/10.1007/BF02536728> .

190. Yip, J.; Shen, Y.; Berndt, M.C.; Andrews, R.K. (2005). Primary platelet adhesion receptors. *IUBMB Life*, 57, 103–108. <https://doi.org/10.1080/15216540500078962>
191. Yoshida, H., Katsuzaki, H., Ohta, R., Ishikawa, K., Fukuda, H., Fujino, T., & Suzuki, A. (1999). Antimicrobial activity of the thiosulfinates isolated from oil-macerated garlic extract. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 63(3), 591-594. <https://doi.org/10.1271/bbb.63.591> .
192. Yoshida, S., Kasuga, S., Hayashi, N., Ushiroguchi, T., Matsuura, H., & Nakagawa, S. (1987). Antifungal activity of ajoene derived from garlic. *Applied and environmental microbiology*, 53(3), 615–617. <https://doi.org/10.1128/aem.53.3.615-617.1987> .
193. Yusof, M., Yildiz, D., & Ercal, N. (1999). N-acetyl-L-cysteine protects against delta-aminolevulinic acid-induced 8-hydroxydeoxyguanosine formation. *Toxicology letters*, 106(1), 41–47. [https://doi.org/10.1016/s0378-4274\(99\)00014-4](https://doi.org/10.1016/s0378-4274(99)00014-4)
194. Zaczynska, E., Duś, D., Paprocka, M., & Błach-Olszewska, Z. (2008). Resistance of human leukocytes to vesicular stomatitis virus infection as one of the innate antiviral immune activities; participation of cell subpopulations. *Folia histochemica et cytobiologica*, 46(1), 39–43. <https://doi.org/10.2478/v10042-008-0004-9>
195. Zaczynska, E., Duś, D., Paprocka, M., & Błach-Olszewska, Z. (2008). Resistance of human leukocytes to vesicular stomatitis virus infection as one of the innate antiviral immune activities; participation of cell subpopulations. *Folia histochemica et cytobiologica*, 46(1), 39–43. <https://doi.org/10.2478/v10042-008-0004-9/>
196. Zelber-Sagi, S., Ivancovsky-Wajcman, D., Fliss-Isakov, N., Hahn, M., Webb, M., Shibolet, O., Kariv, R., & Tirosh, O. (2020). Serum malondialdehyde is associated with non-alcoholic fatty liver and related liver damage differentially in men and women. *Antioxidants*, 9(7), 578. <https://doi.org/10.3390/antiox9070578>
197. Zhang, H. X., Shi, Z. X., Jia, H. Z. (2007). Effects of garlicin on NIH3T3 cell proliferation and collagen synthesis. *Zhongguo Zhong xi yi jie he za zhi Zhongguo*

- Zhongxiyi jiehe zazhi = Chinese journal of integrated traditional and Western medicine*, 27(5), 431–434.
198. Zhang, X., & Munster, P. N. (2014). New protein kinase inhibitors in breast cancer: afatinib and neratinib. *Expert opinion on pharmacotherapy*, 15(9), 1277–1288. <https://doi.org/10.1517/14656566.2014.913570> .
199. Zhao, W., Zhang, J., Lu, Y., & Wang, R. (2001). The vasorelaxant effect of H(2)S as a novel endogenous gaseous K(ATP) channel opener. *The EMBO journal*, 20(21), 6008–6016. <https://doi.org/10.1093/emboj/20.21.6008>
200. Zhu, L., Andersen-Civil, A. I., Castro-Mejia, J. L., Nielsen, D. S., Blanchard, A., Olsen, J. E., ... & Williams, A. R. (2022). Garlic-derived metabolites exert antioxidant activity, modulate gut microbiota composition and limit citrobacter rodentium infection in mice. *Antioxidants*, 11(10), 2033. <https://doi.org/10.3390/antiox11102033>
201. Zhu, L.; Myhill, L. J.; Andersen-Civil, A. I. S.; Thamsborg, S. M.; Blanchard, A.; Williams, A. R. (2022). Garlic-derived organosulfur compounds regulate metabolic and immune pathways in macrophages and attenuate intestinal inflammation in mice. *Mol. Nutr. Food Res.*, 66, e2101004. <https://doi.org/10.1002/mnfr.202101004> .
202. Zoccali, C., Catalano, C., & Rastelli, S. (2009). Blood pressure control: hydrogen sulfide, a new gasotransmitter, takes stage. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 24(5), 1394–1396. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfp053>.
203. Баранович Д. Б., Комаровська О. З., Лубенець В. І., Новіков В. П. Синтез і біологічна активність S-алкілбензолтіосульфонатів. (2001) Фізіологічно активні речовини. 2(30). 33–36.
204. Баранович, Д. Б., & Лубенець, В. І. Баранович Д. Б. Синтез та властивості функціональних алілових і арилових естрів 1,1 -діокситіолан-3- та арилтіосульфокислот : дисертація канд. хімічних. наук : 02.00.03 - органічна хімія. Нац. ун-т «Львів. політехніка». — Львів, 2002. — 171 с.

205. Бражко, О. А. (2009). L-цистеїн синтон для створення біологічно активних речовин. Вісник Запорізького національного університету: Збірник наукових статей. Біологічні науки, 4, 65-80.
206. Вікуліна, Г. В., & Боровков, С. Б. (2017). Діагностичне значення деяких біохімічних індексів крові та сечі (оглядова інформація). *Scientific Progress & Innovations*, (3), 118-121. <https://doi.org/10.31210/visnyk2017.03.27>
207. Влізло, В. В., Федорук, Р. С., & Ратич, І. Б. (2012). Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник. Львів: Сполом, 764.
208. Гаращук, М. І., Степченко, Л. М., Спіцина, Т. Л., & Горяний, В. Р. (2021). Стан процесів метаболізму у лабораторних щурів за застосування амарантової олії та Гуміліді. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 9(1), 30–34. <https://doi.org/10.32819/2021.91005>.
209. Губський, Ю. І. (2000). Біологічна хімія. Підручник. Київ-Тернопіль: Укрмедкнига, 508 с.
210. Данилова, А. & Запорожченко, А. (2012). Стан антиоксидантної системи захисту у щурів з експериментальними патологіями при введенні до складу раціону препаратів з пробіотичними мікроорганізмами. Вісник Львівського університету. Серія біологічна, 60, 90–97.
211. Данчук, В. В. (2006). Пероксидне окиснення у сільськогосподарських тварин і птиці. *Кам'янець-Подільський: Абетка*, 192, 38.
212. Довгань, Н. Я. (1998) Методики досліджень з фізіології і біохімії сільськогосподарських тварин. Львів: ВКП "ВМС". 131.
213. Іскра, Р. Я., Любас, Н., Котик, Б., Бедрило, А., Терлецька, М. Вплив естерів тіосульфокислот на систему антиоксидантного захисту у нирках і печінці тварин. Збірник тез доповідей Міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні проблеми фізіології тварин», присвячена 100-річному ювілею ректора Степана Васильовича Стояновського (Львів, 25–26 травня 2023 року). – С. 31-32.

214. Іскра, Р. Я., Сварчевська, О. З., & Максимович, І. Я. (2012). Глутатіонова антипероксидна система в крові та тканинах щурів за дії цитрату нанохрому. *Вісник проблем біології і медицини*, 2(2), 032-035.
215. Котик, Б., Іскра, Р., Сушко, О., Слівінська, О., Климець, Г., Бучко, О., ... & Приймич, В. (2019). Вплив етилтіосульфанілату та хрому (VI) на стан про/антиоксидантної системи в крові щурів. *Animal Biology*, 21(4). 38-45 <https://doi.org/10.15407/animbiol21.04.038>
216. Коцюмбас, І. Я., Малик, О. Г., & Патерега, І. П. (2006). Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів. *Триада плюс*, 360(8).
217. Лавришин, Ю. Ю., Вархоляк, І. С., Мартишук, Т. В., Гута, З. А., Іванків, Л. Б., Паладійчук, О. Р., ... & Гуфрій, Д. Ф. (2016). Біологічне значення системи антиоксидантного захисту організму тварин. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені СЗ Гжицького*, 18(2 (66)), 100-111. <https://doi.org/10.15421/nvlvet6622>.
218. Лубенець В.І. *Укр. хім. журн.* 2001. № 67 (1). С. 45–48.
219. Любас, Н. М., Іскра Р. Я., Лубенець В. І. (2023). Вплив тіосульфонатів на окремі показники антиоксидантного захисту в м'язах щурів. Матервали VIII Міжнародного молодіжного конгресу «Сталий розвиток: захист навколишнього середовища. Енергоощадність. Збалансоване природокористування». (Львів, 2-3 березня 2023р.), С. 154.
220. Любас, Н. М., Іскра, Р. Я. (2021). Вплив тіосульфонатів на антиоксидантний баланс у нирках щурів. Матеріали VI Міжнародної науково-практичної конференції викладачів і студентів «Актуальні аспекти біології тварин, ветеринарної медицини та ветеринарно-санітарної експертизи». (Дніпро, 6-7 травня 2021 р.), С. 78-79.
221. Любас, Н. М., Іскра, Р. Я., Стадницька, Н. Є., Монька, Н. Я., Гавриляк, В. В., Лубенець, В. І. (2021). Антиоксидантна активність тіосульфонатів у досліджах *in vitro* та *in vivo*. Збірник тез доповідей учасників Міжнародної наукової конференції, присвяченої 75-річчю від дня народження професора

- Є. В. Барковського «Фізико-хімічна біологія як основа сучасної медицини». Мінськ : БДМУ, 2021, С. 175-176.
222. Любас, Н., Іскра, Р. (2021). Особливості антиоксидантного захисту в мозку щурів за впливу естерів тіосульфонатів. Матеріали XIX Всеукраїнської науково-практичної інтернетконференції молодих учених «Молоді вчені у розв'язанні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (Львів, 3-4 грудня 2020р.), Біологія тварин, 22(4), С. 75. <https://doi.org/10.15407/animbiol22.04> .
223. Любас, Н., Іскра, Р., Лубенець, В. (2020) Вплив естерів тіосульфонатів на стан антиоксидантної системи крові щурів. Матеріали V Міжнародної наукової конференції «Актуальні проблеми сучасної біохімії, клітинної біології та фізіології» (Дніпро, 1-2 жовтня 2020р.), С. 107-108.
224. Любас, Н., Котик, Б., Іскра, Р. (2023) Глутатіонова ланка антиоксидантного захисту крові щурів за впливу естерів тіосульфонатів. Тези доповідей XX Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених, присвячена 100-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора Василя Юхимовича Шавкуна. (Львів, 18 травня 2023 р.). *Біологія тварин*, 25(2), С. 63. <https://doi.org/10.15407/animbiol25.02>.
225. Марієвський, В. Ф., Таран, В. В., Кролевецька, Н. М., Матошко, Г. В., & Жалко-Титаренко, В. П. (2008). Вивчення процесів формування стійкості мікроорганізмів до дезінфекційних засобів з різних груп хімічних сполук. *Профілактична медицина*, № 2. С. 13-17
226. Монька, Н. Я. (2016). Синтез та властивості алкілових, карбо- та гетероциклічних естерів тіосульфокислот: дисертація канд. хімічних наук : 02.00.03 - органічна хімія. Нац.ун-т «Львів. Політехніка». Львів, 172 с.
227. Монька, Н. Я., Василюк, С. В., Наконечна, А. В., Болібрех, Х. Б., Лубенець, В. І. (2018). Естери тіосульфокислот: одержання, властивості та перспективи застосування. *Український хімічний журнал*. 84(9), 65–97.
228. Немова, Т. В., Якимчук, О. М., & Цвіліховський, М. І. (2011). Вміст фосфоліпідів у плазмі крові кітних молочних кіз за порушень мінерального

- обміну. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького*, 13(4), 325-328.
229. Ніколаенко В. Б. (2019). Мукорегулятор, антиоксидант, пневмопротектор — сучасне уявлення про місце ацетилцистеїну в терапії захворювань респіраторної системи. *Український медичний часопис*, 1(129), С. 2-7. <https://doi.org/10.32471/umj.1680-3051.129.136819> .
230. Панчишин, Ю. М., Гук-Лешневська, З. О., Мостова, О. Ф., & Шулюк, Ю. В. (2014). Клінічні особливості перебігу стабільної стенокардії з гіпохолестеролемією залежно від величини індексу де Рітиса. *Практикуючий лікар*, (2), 26-31.
231. Патент на корисну модель 153357. Лубенець, В. І.; Фізер, Л. В.; Зварич, В. І.; Монька, Н. Я. Спосіб одержання тіосульфонатної субстанції // заявн. Національний університет "Львівська політехніка". – u202204890; заявл. 20.12.2022; опубл. 21.06.2023, бюл. № 25.
232. Передерій, В. Г., & Ткач, С. М. (2010). *Основи внутрішньої медицини*. Вінниця: Нова книга, 3, 1004.
233. Петруша, Ю. Ю., & Добродуб, І. В. (2011). Біорегулятори на основі N, S-похідних L-цистеїну. *Вісник Запорізького національного університету*, 1, С. 125-134.
234. Сибірна, Н. О. (2011). *Механізми біохімічних реакцій: навч. посіб. Львів: ЛНУ. 320с.*
235. Сибірна, Н. О., Маєвська, О. М., & Барська, М. Л. (2006). Дослідження окремих біохімічних показників за умов оксидативного стресу: навч.-метод. посіб. *Львів: Вид. центр ЛНУ ім. І. Франка*, 60.
236. Стадницька, Н. Є., Лубенець, В. І., Новіков, В. П. (2000). Синтез та біологічна активність S-алкіл(8-хінолін)тіосульфонатів. *Фізіологічно активні речовини*. 30(2), С. 27–29.
237. Струтинська, Н. А., Коркач, Ю. П., Мись, Л. А., Лучкова, А. Ю., & Сагач, В. Ф. (2020). L-цистеїн стимулює ендогенний синтез сірководню, пригнічує

- окисний стрес і відкривання мітохондріальної пори у серці старих щурів. *Фізіологічний журнал*, 66 (2-3), 3-12. <https://doi.org/10.15407/fz66.2-3.003> .
238. Сушко, О. О. (2020). Метаболічні процеси в організмі щурів за дії цитратів ванадію та хрому на тлі експериментального цукрового діабету: дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії (кандидата біологічних наук) за спеціальністю 03.00.04 «Біохімія». Львівський національний університет імені Івана Франка, Львів, 198с.
239. Харіна А. В., Будзанівська, І. Г., Поліщук, В. П. (2003). Вступ до хіміотерапії вірусних інфекцій. Київ. нац. ун-т ім. Т. Шевченка. *Фітосоціоцентр*, 144 с.
240. Чорна І. В. Вплив гліфосат-резистентної генетично модифікованої сої на показники білкового обміну та антиоксидантну систему щурів. - дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04. – біохімія – Інститут біології тварин НААН, Львів, 2021.
241. Яремкевич, О. С. (2012). Вплив тіосульфонатів на Na^+ , K^+ -АТФазу і трансмембранний потенціал зародків в'юна *Misgurnus fossilis*: дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика. Національний університет «Львівська політехніка». Львів, 171 с.
242. Яремкевич, О. С., Лубенець В. І. (2023). Вплив похідних тіосульфокислот на морфологічні властивості зародків в'юна на початкових стадіях розвитку. *Chemistry, Technology and Application of Substances* 6(1), 99–109. <https://doi.org/10.23939/ctas2023.01.099>.

ДОДАТОК 1

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковано основні результати дисертації:

1. Liubas, N.; Iskra, R.; Stadnytska, N.; Monka, N.; Havryliak, V.; Lubenets, V. (2022). Antioxidant activity of thiosulfonate compounds in experiments *in vitro* and *in vivo*. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 12(3) 3106–3116. <https://doi.org/10.33263/BRIAC123.31063116> .
2. Liubas, N. M., Iskra, R. Ya., Kotyk, B. I., Monka, N. Ya., Lubenets, V. I. (2022) Prooxidant-antioxidant profile in tissues of rats under the action of thiosulfonate esters. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 94(6), 18-29. <https://doi.org/10.15407/ubj94.06.018> .
3. Liubas, N., Iskra, R., Lubenets, V. (2023) Antioxidant defense system of rat liver under the influence thiosulfonates esters. *Studia Biologica*. 17(2), 43–56. <https://doi:10.30970/sbi.1702.709> .
4. Іскра, Р. Я., Любас, Н. М. (2023). Вплив S-естерів тіосульфокислот на окремі біохімічні показники крові щурів. *Вісник Львівського університету. Серія Біологічна*. 89, 20-26. <http://dx.doi.org/10.30970/vlubs.2023.89> .
5. Liubas, N. M., Oliynyk, I. Y. (2023). The role of oil solutions of thiosulfonates in the modulation of antioxidant parameters in rat kidneys. *The Animal Biology*, 25(3), 13-18. <https://doi.org/10.15407/animbiol25.03.013> .

Праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

6. Любас, Н., Іскра, Р., Лубенець, В. Вплив естерів тіосульфонатів на стан антиоксидантної системи крові щурів. Матеріали V Міжнародної наукової конференції «Актуальні проблеми сучасної біохімії, клітинної біології та фізіології» (Дніпро, 1-2 жовтня 2020 р.). — С. 107-108.
7. Любас, Н., Іскра, Р. Особливості антиоксидантного захисту в мозку щурів за впливу естерів тіосульфонатів. Матеріали XIX Всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції молодих учених «Молоді вчені у розв'язанні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини». (Львів, 3-4 грудня 2020 р.). — С. 42.

8. Любас, Н. М., Іскра, Р. Я. Вплив тіосульфонатів на антиоксидантний баланс у нирках щурів. Матеріали VI Міжнародної науково-практичної конференції викладачів і студентів «Актуальні аспекти біології тварин, ветеринарної медицини та ветеринарно-санітарної експертизи». (Дніпро, 6-7 травня 2021 р.). — С. 78-79.
9. Liubas N. M., Iskra R. Ya. Influence of thiosulfonates on the activity of antioxidant protection enzymes in rat liver. Proceedings of the XV IMBG all-Ukrainian Conference of Young Scientists with international participation. (Kyiv, May 26-27, 2021) — P. 225. <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000A56>.
10. Любас, Н. М., Іскра, Р. Я., Стадницька, Н. І., Монька, Н. Я., Гавриляк, В. В., Лубенець В. І. Антиоксидантна активність тіосульфонатів у досліджах *in vitro* та *in vivo*. Матеріали міжнародної наукової конференції присвяченої 75-річчю від дня народження професора Є. В. Барковського «Фізико-хімічна біологія як основа сучасної медицини». (Мінськ, 21 травня 2021 р.). — С. 175-176.
11. Kotyk, B., Liubas, N., Iskra R. (2021). Effect of ethylthiosulfanylate on hematological indicators of rats under the toxic effect of Chromium(VI). Proceedings of the 1st Ukrainian-Polish Scientific Forum AGROBIOPERSPECTIVES. (Lviv, September 29–30, 2021). – P. 60.
12. Liubas, N. M., Kotyk, B. I., Iskra, R. Ya., Lubenets, V. I. The effect of thiosulfonate esters on the glutathionr link of antioxidant protection in rats. Proceedings of the all-Ukrainian Conference on Molecular and Cell Biology with international participation, dedicated to the heroic struggle of the Ukrainian people against the Russian invaders. (Kyiv, June 15-17, 2022) — P. 58.
13. Любас, Н. Дослідження впливу естерів тіосульфонатів на активність каталази та супероксиддисмутази в м'язах щурів. Збірник наукових праць «Сучасні тенденції розвитку освіти й науки: проблеми та перспективи». (Київ – Львів – Бережани – Ломза, 2022). — С. 212 -216.
14. Котик, Б., Іскра, Р., Любас, Н. Показники фосфоліпідного складу плазми крові щурів за впливу етилтіосульфанілату на фоні Хром(VI)-індукованої токсичності. Тези доповідей XX Всеукраїнської науково-практичної

конференції молодих вчених, присвяченої 90-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора, члена-кореспондента НААН, заслуженого діяча науки і техніки України Макара Івана Арсентійовича. (Львів, 19 травня 2022 р.). — С. 42.

15. Liubas, N., Terletska, M., Bedrylo, A., Iskra, R., Lubenets, V. Activities of catalase and superoxide dismutase in the liver of rats under the thiosulfonate esters action. . Activities of catalase and superoxide dismutase in the liver of rats under the thiosulfonate esters action. Abstracts of XVIII International Scientific Conference for Students and PhD Students dedicated to the 195th anniversary from the birthday of Julius Planer «Youth and Progress of Biology» (Lviv, October 6–7, 2022). – Lviv: SPOLOM, 2022. — P. 154 – 155.

16. Liubas, N., Bedrylo, A., Terletska, M., Iskra, R. Effect of thiosulfonate esters on the activity of antioxidant defense enzymes in rat blood. Abstracts of XIX International Scientific Conference for Students and PhD Students «Youth and Progress of Biology». (Lviv, April 26–27, 2023). — P. 187–188.

17. Любас, Н. М., Іскра, Р. Я., Лубенець, В. І. Вплив тіосульфонатів на окремі показники антиоксидантного захисту в м'язах щурів. Збірник матеріалів VIII Міжнародного молодіжного конгресу «Сталий розвиток: захист навколишнього середовища. Енергоощадність. Збалансоване природокористування». (Львів, 2-3 березня 2023). — С. 154.

18. Любас Н., Котик Б., Іскра Р. Глутатіонова ланка антиоксидантного захисту крові щурів за впливу естерів тіосульфонатів. Тези доповідей ХХ Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених, присвячена 100-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора Василя Юхимовича Шавкуна. (Львів, 18 травня 2023 р.), Біологія тварин, 2023, 25(2), с. 63.

19. Іскра Р., Любас Н., Котик Б., Бедрило А., Терлецька М. Вплив естерів тіосульфокислот на систему антиоксидантного захисту у нирках і печінці тварин. Збірник тез доповідей Міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні проблеми фізіології тварин», присвячена 100-річному ювілею

ректора Степана Васильовича Стояновського (Львів, 25–26 травня 2023 року). — С. 31-32.

20. Liubas, N. M.; Iskra, P. Ya. Effect of thiosulfonate esters on the content of total protein and lipids in the blood of animals. Proceedings of X International scientific and practical internet conference «Food Additives. Healthy Man and Human Patient Diet». (Prague, Czech Republic, November 10, 2023). — P. 193-194. <https://doi.org/10.46489/FAHM-23-25>.

21. Liubas, N. M. Blood lipid profile in animals for the influence of synthetic sulfur-containing compounds. Proceedings of the 10th International scientific and practical conference «Modern problems of science, education and society». (Kyiv, December 4-6, 2023). – P. 88-90.

Публікації, які додатково відображають наукові результати дисертації:

22. Kotyk, B., Iskra, R., Slivinska, O., Liubas, N., Pylypets, A., Lubenets, V., Prymych, V. (2020) Effects of ethylthiosulfanylate and chromium (VI) on the state of pro/antioxidant system in rat liver. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 92(05), 78-86. S. <https://doi.org/10.15407/ubj92.05.078>.

23. Polish, N., Yaremkevych, O., Marintsova, N., Zhurakhivska, L, Koretska, N., Pokynbroda, T., Liubas, N., Lubenets, V., Karpenko, E. (2023). *In vitro* antioxidant activity of composition based on biosurfactants and amino-containing heterocyclic derivatives of 1,4-naphtoquinone. *J Microbiol Biotech Food Sci/Polishet al.*: x (x) e9771, 1-5. <https://doi.org/10.55251/jmbfs.9771/>

ДОДАТОК 2



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження:

Проксидантно-антиоксидантний профіль у тканинах щурів за дії естерів тиосульфокислот.

2. Ким запропоновано, адреса, виконавці:

Інститут біології тварин НААН, вул. Василя Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна. Здобувач Любас Н. М.

3. Джерела інформації:

1. Liubas N. M., Oliynyk, I. Y. (2023). The role of oil solutions of thiosulfonates in the modulation of antioxidant parameters in rat kidneys. *The Animal Biology*, 2023, 25(3), p. 13-18. <https://doi.org/10.15407/animbiol25.03.013>.
2. Liubas, N., Iskra, R., Lubenets, V. (2023) Antioxidant defense system of rat liver under the influence thiosulfonates esters. *Studia Biologica*. 17(2), P. 43–56. <https://doi:10.30970/sbi.1702.709>

4. Рекомендовано впровадити: у навчально-дослідницький процес кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології при вивченні дисциплін «Біологія і фізіологія з основами анатомії» та «Хімія канцерогенів».

5. Термін впровадження: з 01.04.2023 р.

6. Ефективність впровадження відповідно до критеріїв, що викладені в п.3

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, що впроваджує
Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям наведеним в джерелі інформації. Дана розробка застосовується у навчально-дослідній роботі студентів та науковій роботі кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології.		

7. Зауваження, пропозиції: немає.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри технології
 біологічно активних сполук,
 фармації та біотехнології,
 доктор хімічних наук, професор

Віра ЛУБЕНЕЦЬ



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор

науково-педагогічної роботи
Національного університету
«Львівська політехніка»

Олег ДАВИДЧАК

2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Система антиоксидантного захисту печінки шурів за дії естерів тиосульфокислоти.

2. **Установа, її адреса, виконавці:** Інститут біології тварин НААН, вул. Василя Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна. Здобувач Любас Н. М.

3. **Джерела інформації:**

3.1. Liubas, N., Iskra, R., Lubenets, V. (2023) Antioxidant defense system of rat liver under the influence thiosulfonates esters. *Studia Biologica*. 17(2), P. 43–56. <https://doi.org/10.30970/sbi.1702.709>

3.2. Іскра Р. Я., Любас Н. М. Вплив S-естерів тиосульфокислот на окремі біохімічні показники крові шурів. Вісник Львівського університету. Серія Біологічна. 2023. №89, с. 20–26. <http://dx.doi.org/10.30970/vlubs.2023.89>

3.3. Polish, N., Yaremkevych, O., Marintsova, N., Zhurakhivska, L., Koretska, N., Rokynbroda, T., Liubas, N., Lubenets, V., Karpenko, E. (2023). In vitro antioxidant activity of composition based on biosurfactants and amino-containing heterocyclic derivatives of 1,4-naphthoquinone. *J Microbiol Biotech Food Sci/Polishet al.*: x (x) e9771, 1-5. <https://doi.org/10.55251/jmbfs.9771/>

4. **Впроваджено** для використання в навчальному процесі кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології при вивченні відповідних тем з освітньої компоненти «Біофізика» для студентів 3 курсу спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія».

5. **Термін впровадження** з 05.09.2023 року.

6. **Ефективність впровадження** відповідно до критеріїв, що викладені в джерелах інформації:

Показники	За даними	
	розробників	установи, що затверджує
Результати наукових досліджень впроваджені до навчального процесу та використовуються викладачами кафедри під час підготовки лекцій та слухачами/інтернами.		

7. **Зауваження, пропозиції:** розповсюдити отримані позитивні результати впровадження для застосування у навчальному процесі закладів вищої освіти України.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри
технології біологічно активних сполук,
фармації та біотехнології
Національного університету
«Львівська політехніка»
доктор хімічних наук, професор
« » 2023 року

Віра ЛУБЕНЕЦЬ