УДК 577.16:547.96

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ АСКОРБИНАТА НИКОТИНАМИДА

[1]Сарыбаева Б.Д., [2]Пищугин Ф.В., [3]Арзыбаев М.А., [4]Исаев М.А.

[1]Таласский государственный университет, Талас, e-mail: baktygul_1@ mail.ru;
[2]Национальная академия наук Кыргызской Республики, Бишкек, e-mail: Pishugin@rambler.ru;
[3]Кыргызский национальный аграрный университет им. К.И. Скрябина, Бишкек, e-mail: amomun@mail.ru;
[4]Кыргызский научно-исследовательский институт ветеринарии им. А. Дуйшеева, Бишкек

В статье приводятся данные эксперимента по изучению биологической активности аскорбината никотинамида, полученного направленным синтезом. Установлено, что максимально переносимая доза ($ЛД_0$) аскорбината никотинамида для белых мышей составила 1500 мг/кг, $ЛД_{16}$ – 1835 мг/кг, среднелетальная доза ($ЛД_{50}$) – 2450 (2254÷1864,5) мг/кг, $ЛД_{84}$ – 2425 мг/кг, а его абсолютно летальная доза для мышей ($ЛД_{100}$) – 2800 мг/кг живой массы животных. Препарат обладает стимулирующим рост и развитие молодняка животных действием. При его применении повышается привес крольчат по сравнению с показателями контрольной группы на 17,6 ± 2,1%, а аскорбиновая кислота – на 4,9±1,4%. Под его действием гематологические показатели кроликов не претерпели существенных изменений.

Ключевые слова: витамины, аскорбиновая кислота, никотинамид, параметры острой токсичности, аскорбинат никотинамида

BIOLOGICAL ACTIVITY OF AN ASCORBAS OF NICOTINAMIDE

[1]Sarybaeva B.D., [2]Pischugin F.V., [3]Arzybaev M.A., [4]Isaev M.A.

[1]The Talas state university, Talas, e-mail: baktygul_1@mail.ru;
[2]National Academy of Sciences of the Kyrgyz Republic, Bishkek, e-mail: Pishugin@rambler.ru;
[3]The Kyrgyz National Agricultural University of K. I. Scriabin, Bishkek, e-mail: amomun@mail.ru;
[4]The Kyrgyz research institute of veterinary science of A. Duysheev, Bishkek

The article presents the data eksperimentalnogo for studying the biological activity of nicotinamide ascorbate, obtained by directed synthesis. It is established that the maximum tolerated dose ($ЛД_0$) ascorbate nicotinamide to mice was 1550 mg/kg, $ЛД_{16}$ – 1835 mg/kg, Sredneuralskaya dose (LD_{50}) – 2450 (2255÷1856) mg/kg, $ЛД_{84}$ – 2420 mg/kg, and its absolutely lethal dose for mice (LD_{100}) – 2700 mg/kg body weight of the animals. The drug has a stimulating the growth and development of young animals action. In its application improves the weight gain of rabbits compared with the control group 17.6±2.1% and ascorbic acid 4.9±1.4 percent. Under its action gematologichesky the performance of rabbits have not undergone significant changes.

Keywords: vitamins, ascorbic acid, nicotinamide, parameters of acute toxicity, ascorbas nicotinamide

Витамины принимают активное участие в обмене веществ в организме животного. Известны 13 витаминов, представляющих родственные соединения с одинаковой активностью (витамины противоксерофтальмический, антирахитный, антинервно-мышечных нарушений, антигипокоагуляционный растворимы в жирах, витамины антискорбутный, тиамин, дегидроретинол, пиридоксин, цианокобаламин, никотинамид, пантотенат, биотин, фолацин растворимы в воде). Кроме этих витаминов, существуют другие соединения, входящие в группу активных веществ, но свойства их еще полностью не установлены (калия оротат, B_8, тиактоцид, рутабион, B_{11}, B_{15}, убидекаренон). [1, 208–270; 2, 2083–2089; 3, 1–250].

Получение аскорбината никотинамида. В колбу помещают раствор 35,4 г (0,2 моль) аскорбиновой кислоты в 40 мл воды. Затем приливают раствор 24,4 г (0,14 моль) никотинамида в 500 мл спирта. Растворы перемешивают при комнатной температуре в течение 1,5 часа. Контроль за ходом реакции и чистотой конечных продуктов определяли методами УФ-спектроскопии и тонкослойной хроматографии (ТСХ). Смесь со временем переходит в желтый цвет. Выпадает светло-желтый осадок. Осадок отфильтровали, дополнительно очищали перекристаллизацией из пропанола. Выход продукта (65%) 19 г. Тпл. 145–146°С.

Анализ ИК-спектров L-аскорбиновой кислоты, никотинамида и аскорбината никотинамида показал наличие полос поглощения в конечном продукте исходных компонентов и дополнительных полос поглощения в области 3377 $см^{-1}$ и 2360 $см^{-1}$, которые, согласно литературным данным, можно отнести за счет образования аммонийных солей никотинамида.

Полученный продукт аскорбинат никотинамида идентифицировали физико-химическими методами как элементный анализ, ИК-спектроскопия, УФ-спектроскопия, ТСХ, определением температуры плавления.

Кинетика взаимодействия L-аскорбиновой кислоты с никотинамидом. В качестве объектов исследования были взяты

L-аскорбиновая кислота и никотинамид марки «х.ч.», как растворитель применяли водно-спиртовые буферные растворы, приготовленные по методике.

Эквимолярные растворы L-аскорбиновой кислоты и никотинамида растворялись в буферных растворах и выдерживались при заданной температуре в течение 30 минут в термостате U-15° с точностью ± 0,1°С. За начало реакции принимался момент смешивания растворов витамина С и никотинамида.

Как показали предварительные опыты, при сливании термостатированных растворов в результате взаимодействия компонентов появляется желтая окраска и новый максимум поглощения в области 360 нм.

В случае если один или хоть сколько нибудь витаминов оказывается не целиком приемлемым для осваивания организмом или приемлемыми в ничтожном объеме, тогда разменные ходы повреждаются, в конечном счете сокращается производительность, приостанавливается развитие, образуется витаминная недостаточность, повреждается плодотворность у самочек и размножающая годность у производителей, увеличивается восприимчивость к заразным и паразитным болезням. Так, при недостатке витамина С нарушается превращение пролина в гидроксипролин (основной строительный элемент коллагеновых волокон), что обусловливает проявление признаков цинги (кровоток из прекапилляров и капилляров) с разделением объединительной ткани в суставах, деснах, костях и хрящах. Неспелые коллагеновые волокна и сниженная действенность сосудистой системы вызывают пупочное кровотечение [1, с. 208–270].

При авитаминозе С понижена резистентность телят к вирусам, в первую очередь к возбудителям респираторных заболеваний [4, с. 131–139], в связи с тем, что аскорбиновая кислота стимулирует образование μ-глобулинов и блокирует SB-группы цистеина, содержащегося в них. Повышенное содержание в тканях аскорбиновой кислоты понижает напряжение на поверхности клеточных мембран, облегчает растворение липопротеиновой оболочки лейкоцитов, что делает доступными нуклеиновые кислоты для воздействия на них нуклеаз.

При недостатке витамина РР у детей развивается пеллагра, основными признаками которой является диарея (приводящая к истощению), деменция (нарушение психики и мышления) и в более тяжелых случаях – дерматит.

Для профилактики гиповитаминоза витамин РР назначают детям, страдающим ахилией, энтеритами, колитами, аскоридозом, лямблиозом, язвенной болезнью, при которых нарушено всасывание витамина.

С лечебной целью никотиновую кислоту или ее амид применяют для устранения авитаминоза и признаков гиповитаминоза; для ликвидации явлений гипоксии и ацидоза у детей с пневмониями, шоком, различными токсикозами, для стимуляции анаболических процессов при лечении гипотрофий, заболеваний печени. Никотиновую кислоту и ее амид вводят в организм перорально. При недостатке никотинамида (ниацина) в организме нарушаются окислительно-восстановительные процессы, затрагивающие распад и синтез жирных кислот, углеводов и аминокислот. Это приводит у новорожденных свиней к потере аппетита, геморрагической диарее. У цыплят отмечается замедленный рост, потеря аппетита сквамозный дерматит на боковых сторонах головы и туловища, пероз, деформация бедренной кости и геморрагическая диарея [2, с. 2083–2089].

Вышеописанное доказывает важность применения витаминных препаратов в животноводстве для повышения их продуктивности, улучшения качества животноводческой продукции.

В этих целях нами синтезирован в Институте химии и химических технологий Национальной Академии Наук Кыргызской Республики в лаборатории органической химии новое соединение «аскорбинат никотинамида» [5]. Данная статья посвящается изучению его острой токсичности и биологической активности.

Материалы и методы исследования

Эксперименты по определению норм острой ядовитости аскорбината никотинамида вели на 60 клиничных, нормальных, белых, подопытных мышах с живой массой 18–20 г. Животных разбили на 6 групп по 10 голов в каждой. Вещество вводили животным внутрь (peros) в виде 20%-го водного раствора с помощью шприца, оборудованного специфическим металлическим шаром, в дозах 1550, 1835, 2450, 2420 и 2700 мг/кг живой массы. Подопытные мыши из 10 голов являлась контролем и получили нужный объем хлорида натрия.

Опыты продолжались 12 дней, в течение которых велось наблюдение за подопытными и контрольными животными. При этом учитывали общее состояние, аппетит, характер и клинику химического токсикоза и гибель животных. Трупы павших животных были подвергнуты патологическому вскрытию для выявления характера и степень патологических изменений во внутренних органах [6, с. 524–537].

Полученные цифровые данные подвергли статистической обработке методом пробит анализа (Lichfield, Wilcoxon, 1949) в варианте 3. Рота (Z. Roth, 1960) с применением привычной миллиметровой бумаги [7, с. 126–146].

Опыты по изучению биологической активности проводили на 9 головах молодняка кроликов с живой массой 1,0–1,1 кг (1000–1100 г). Подопытные кролики разделены на 3 группы. В каждой группе по 3 кролика. Крольчат первой группы кормили измельченной зерносмесью с добавкой аскорбината никотинамида из перерасчета 8 мг на килограмм сухого корма. Вторую группу кормили зерносмесью с добавкой аскорбиновой кислоты (витамина С, антицинготный витамин) в такой же дозе. Третья группа служила контролем и получала только зерносмесь. Опыты продолжались 1 месяц. После опытов крольчат взвесили и взяли анализ крови для гематологических исследований. Основные гематологические показатели у кроликов изучили по общепринятой методике [8, с. 65–193].

Статистическую обработку цифровых материалов опытов проводили методом Фишера-Стьюдента с использованием критерия (t) Ермолова [9, с. 49–56].

Результаты исследования и их обсуждение

Клиническая картина отравления белых мышей, получивших токсические дозы аскорбината никотинамида, проявлялась через 30–45 минут после его введения. Основные признаки токсикоза у мышей были следующие: общее беспокойство, отказ от корма и воды, учащенное и поверхностное дыхание, частое сердцебиение, потливость, понос и частое мочеотделение, повышение тактильной чувствительности кожи, понижение температуры тела. Перед смертью у животных наблюдается прогрессирующее общее угнетение, и они падают на пол в неестественном положении. Смерть наступает в сильных клонико-тонических судорогах, как правило, в течение первого и второго дней отравления. Оставшиеся в живых мыши быстро восстанавливаются, начинают бегать по клетке и есть корм [10, с. 23–25].

Результаты статистической обработки цифровых данных опытов показывают (табл. 1), что максимально переносимая доза ($ЛД_0$) аскорбината никотинамида для белых мышей составила 1550 мг/кг, $ЛД_{16}$ – 1835 мг/кг, среднелетальная доза ($ЛД_{50}$) – 2450 (2255÷1856) мг/кг, $ЛД_{84}$ – 2420 мг/кг а его абсолютно летальная доза для мышей ($ЛД_{100}$) – 2700 мг/кг живой массы животных.

Визуальный осмотр внутренних органов при патолого-анатомическом вскрытии трупов павших мышей показал следующие изменения в них: катарально-геморрогическое воспаление слизистой оболочки желудка и тонкого отдела кишечника; печень увеличена, под её оболочкой множественные точечные кровоизлияния; почки темно-коричневого цвета, при разрезе сочится пенистая кровь, на оболочке кровоизлияния [10, с. 23–25].

Итоги экспериментов по определению биологической активности показали, что за время проведения эксперимента масса крольчат в первой группе составила 670±11,4 г ($P > 0,01$), во второй –5 98 ±42,4 г ($P < 0,05$), в третьей-группе – 570±16,2 г. Как видно из данных опыта, аскорбинат никотинамида в испытанной дозе повышает прирост крольчат по сравнению с показателями контрольной группы на 17,6±2,1 %, а аскорбиновая кислота – на 4,9±1,4 % (табл. 2). Эти данные подтверждают, что аскорбинат никотинамида обладает выраженным стимулирующим рост и развитие молодняка животных действием. Различие показателей по сравнению с контролем статистически достоверно ($P > 0,01$). Такое же влияние оказывает и аскорбиновая кислота в дозе, аналогичной первому соединению. Однако это действие статистически недостоверно ($P < 0,05$).

Вдобавок установлен значительный подъем гематологических признаков крови у крольчат под действием аскорбината никотинамида (табл. 3). Однако разница в показателях была статистически недостоверна ($P < 0,05$).

Таблица 1

Параметры острой токсичности аскорбината никотинамида

№ гр.	Доза, мг/кг	Количество мышей	Результаты		Параметры острой токсичности
			пало	выжило	
1	1550	10	0	10	$ЛД_0$=1550 мг/кг $ЛД_{16}$=1835мг/кг $ЛД_{50}$=2450(2255:1856) мг/кг $ЛД_{84}$=2420 мг/кг $ЛД_{100}$=2700 мг/кг
2	1700	10	1	9	
3	2100	10	5	5	
4	2400	10	9	1	
5	2700	10	10	0	
6	Контроль	10	0	10	

Таблица 2

Влияние аскорбината никотинамида на рост и развитие крольчат (п=3)

№ гр.	Препараты	Привес крольчат, г		Привес, г M±m	Разница привеса по сравнению с контролем, % M±m	P
		Масса крольчат в исходном состоянии, г; M±m	Масса крольчат через 30 дней после дачи препаратов, г; M±m			
1	Аскорбинат никотинамида	1015± 49,0	1685 ±52,9	670±11,4	+17,6± 2,1	>0,01
2	Аскорбиновая кислота	994± 22,5	1615 ±57,8	598 ±42,4	+4,9± 1,4	<0,05
3	Контроль	980 ±105	1550± 56,9	570 ±16,2		

Таблица 3

Влияние аскорбината никотинамида на гематологические показатели у крольчат

Компоненты крови	Гематологические показатели		P
	Контроль контроль	Опыт	
Эритроциты, млн	6,80±0,41	7,962±0,56	<0,05
Лейкоциты, тыс.	8,300± 0,91	9,47±1,55	<0,05
Гемоглобин, г%	11,57±1,94	11,76±2,1	<0,05
Общий белок, мг%	5,55±0,26	5,746±0,22	<0,05

Заключение

Установлено, что максимально переносимая доза ($ЛД_0$) аскорбината никотинамида для белых мышей составила 1550 мг/кг, $ЛД_{16}$ – 1835 мг/кг, среднелетальная доза ($ЛД_{50}$) – 2450 (2254÷1864,5) мг/кг, $ЛД_{84}$ – 2425 мг/кг, а его абсолютно летальная доза для мышей ($ЛД_{100}$) – 2800 мг/кг живой массы животных. При применении аскорбината никотинамида повышается привес крольчат по сравнению с показателями контрольной группы на 17,6 ± 2,1%, а аскорбиновой кислоты – на 4,9 ± 1,4%. Под его действием гемотологические показатели кроликов не претерпели существенных изменений.

Список литературы

1. Алиев А.А., Барей В., Бартко П. и др. Профилактика нарушений обмена веществ у сельскохозяйственных животных / А.А. Алиев, В. Барей, П. Бартко. – М.: Агропромиздат, 1986. – 208–270 с.

2. Hoek-stra W. G.Biochemical function of selenium and its relation to vitamin E. Federation Proc., 34., 1975. s. 2083–2089.

3. Hoffmann, F-L.aRoche: Vitamin Compendium. The propert. the vitamins and their importance in human and animal nutrition. Co. Lijfc,- Switzerland, 1201, 1976, s. 1–250.

4. Hosotani T., Kurimoto K., Mori T. The differences of the metabolism related to vitamin C.J. Nutr. Sci. Vitaminol, 25, 1979, p. 131–139.

5. Сарыбаева Б.Д., Пищугин Ф.В., Арзыбаев М.А., Исаев М.А. Аскорбинат никотинамида, стимулирующий рост и развитие молодняка животных // Патент Кыргызской Республики № 1863. 2016. Бюл. № 5 (205).

6. Першин Г.Н. Методы экспериментальной химиотерапии (Практическое руководство). – М.: Медицина. – 1971. – С. 524–537.

7. Кудрин А.Н., Пономарева Г.Т. Применение математики в экспериментальной и клинической медицине / А.Н. Кудрин, Г.Т. Пономарева. – М.: Медицина, 1967. – С. 126–146.

8. Кудрявцев А.А., Кудрявцева Л.А. Клиническая гематология животных / А.А. Кудрявцев, Л.А. Кудрявцева. – М.: Колос, 1979. – 65–193 с.

9. Шевченко И.Т., Богатов О.П., Хрипти Ф.П. Элементы математической статистики в медицине / И.Т. Шевченко, О.П. Богатов, Ф.П. Хрипти. – Киев.: Здоровье, 1970. – С. 49–56.

10. Шайкиева Н.Т., Ахматова Ж.Т., Арзыбаев М.А., Исаев М.А. Изучение острой токсичности и физиологической активности соединения Mn(HCOO)2*2NH(CONH2)2*H2O / Н.Т. Шайкиева, Ж.Т. Ахматова, М.А. Арзыбаев, М.А. Исаев // Проблемы современной науки и образования. – 2016. – № 11(53). – С. 23–25.