
СПІВЗАСНОВНИКИ

Національна академія медичних наук України •
Державна установа «Інститут фармакології та токсикології
Національної академії медичних наук України» •
Державне підприємство «Державний експертний центр
Міністерства охорони здоров'я України» •
Всеукраїнська громадська організація «Асоціація фармакологів України»

ФАРМАКОЛОГІЯ ТА ЛІКАРСЬКА ТОКСИКОЛОГІЯ PHARMACOLOGY AND DRUG TOXICOLOGY

Науково-практичне видання

Журнал заснований у серпні 2007 р.

№ 4–5(40)/2014

Виходить 1 раз на 2 місяці

ЗМІСТ

ОГЛЯДИ

Шарикіна Н. І., Мешкова Н. О., Міщенко О. В., Хавич О. О., Кудрявцева І. Г.,
Пенделюк С. І. Трансдукція мітогенних сигналів як основа створення
протипухлинних таргетних препаратів (частина I) 3

У НАУКОВИХ ЛАБОРАТОРІЯХ

Беленичев І. Ф., Кучеренко Л. І., Волчик Ю. А., Абрамов А. В.,
Бухтиярова Н. В. Некоторые аспекты кардиопротекторного действия нового
β-адреноблокатора с NO-миметическим эффектом «Гипертрил»
на модели инфаркта миокарда 11

Волощук Н. І., Таран І. В. Гастротоксична дія диклофенаку натрію
на тлі дефіциту та надлишку гідроген сульфід у експерименті 17

Должикова О. В., Малоштан Л. М. Гістоморфологічні дослідження
впливу нових супозиторіїв вагінальних «Меланізол» на стан піхви щурів
на тлі експериментального вагініту 25

Дронов С. Н. Детоксицирующие свойства и острая токсичность фиксированной
комбинации низкоконцентрированного раствора гипохлорита натрия и таурина,
предназначенной для парентерального применения 32

Жилюк В. І., Мамчур В. Й. Дозозалежні ефекти метформіну
та піоглітазону щодо процесів навчання та збереження умовної навички
в щурів з алоксановим діабетом 40

Кабанова Т. А., Павловський В. І., Халімова О. І., Ушаков І. Ю.,
Карасьова Т. Л., Андронаті С. А. Анальгетичні та протизапальні властивості
1-метоксикарбонілметил-3-ариламінобенздіазепін-2-онів 47

Кальчук Р. О. Профілактичне та лікувальне застосування тіоцетаму
для корекції гострого запалення слизової оболонки порожнини рота
за умов іммобілізації в експерименті 54

Нагорна О. О., Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Волуй А. В., Кузнєцова О. В., Ярош О. К. Фармакокінетичні параметри ін'єкційної форми нового метаболітотропного препарату «Ангіолін»	60
Очеретнюк А. О., Черешнюк І. Л., Лисенко Д. А., Прокопенко С. В. Дослідження фрагментації ДНК у тканинах легень щурів після застосування 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом або 5 % розчину HAES-LX у гострому періоді опікової хвороби	66
Пясковська О. М., Бойчук І. В., Федорчук О. Г., Мельников О. Р., Дасюкевич О. Й., Колесник Д. Л., Соляник Г. І. Протипухлинна дія дихлорацетату щодо карциноми Ерліха.....	73
Рибак В. А., Малоштан Л. М. Вплив тривалого застосування густого екстракту квасолі на показники вуглеводного обміну в щурів з метаболічним синдромом на тлі ожиріння.....	80
Саєнко А. В. Вплив натрієвої солі 3-(2-оксо-3-феніл-2Н-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл) пропанової кислоти на фізичну витривалість щурів за умов гіпоксичних станів.....	85
Степанюк Г. І., Почелова О. В., Степанюк Н. Г., Коваленко С. І., Воскобойник О. Ю. Актопротекторна активність солей (3-Р-оксо-2Н-[1,2,4]-тріазино-[2,3-с]-хіназолін-6-іл)карбонових кислот та їхніх галогенвмісних аналогів	90
Суворова З. С. Ефективність похідного арилаліфатичних аміноспиртів на моделі експериментального оніхомікозу.....	96
ОСОБИСТОСТІ	
Леонід Олександрович Громов	103
СОДЕРЖАНИЕ	105
CONTENT	107

Н. І. Шарикіна¹, Н. О. Мешкова¹, О. В. Міщенко,
О. О. Хавич¹, І. Г. Кудрявцева², С. І. Пенделюк³

Трансдукція мітогенних сигналів як основа створення протипухлинних таргетних препаратів (частина I)

¹ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

²Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ

³Київська міська онкологічна лікарня

Без молекулярної біології онкологія може розглядатися як дескриптивна наука, що описує різні біологічні феномени без пояснення механізмів їхньої появи та біологічної сутності.

R. A. Weinberg, 2007 p.

Ключові слова: сигнальна трансдукція, таргетні препарати, біологічно активні речовини, механізми дії

Перші цитостатики як протипухлинні засоби з'явилися більше ніж 60 років тому й були спрямовані на пошкодження геному, апарату ділення клітини («класичні» хіміотерапевтичні препарати). Однак певні успіхи 1970–1990 років не призвели до подальших суттєвих «проривів». Розвиток цих напрямів досяг межі ефективності наприкінці XX століття й був охарактеризований як стагнація.

До цього часу було одержано великий масив даних щодо дезрегуляції сигнальної трансдукції при пухлинному рості як «хвороби неконтрольованої проліферації» [1]. Це дозволило зробити наступний крок у розвитку протипухлинної терапії з використанням основних біологічних ознак злоякісних новоутворень [2]:

- 1) автономність сигналів росту;
- 2) відхилення від рістгальмувальних сигналів;
- 3) пригнічення апоптозу;
- 4) необмежений потенціал реплікації;
- 5) спотворений ангиогенез;
- 6) здатність до інвазії та метастазування.

З'явилися можливості виявляти важливі для пухлини, але не критичні для організму сигнальні шляхи, каскади передачі сигналів, вплив на які став основою створення препаратів, що діють на конкретні молекулярні мішені – ланки патогенетичного ланцюга неопластичного процесу [3].

Цей напрям здобув назву молекулярно-спрямованої чи таргетної терапії (target – мішень) і зайняв домінуюче місце у світових дослідженнях та світовій онкології [3–7].

Перше офіційно прийняте визначення таргетних препаратів було дане Агентством з контролю над лікарськими засобами та харчовими продуктами США (USA, Food and Drug Administration, FDA), згідно із яким для дії таргетного препарату необхідна наявність мішені [8]. Ці засоби мають доказану значимість для життєдіяльності пухлини та малозначимі для функціонування нормальних тканин організму.

У цілому термін «таргетна терапія» є не зовсім точним: для більшості протипухлинних лікарських засобів є свої мішені. Усе ж термін «таргетний» є загальноприйнятим в онкології при характеристиці патогенетично обґрунтованої терапії [9]. Термін «таргетна терапія» розглядають як стратегію, спрямовану проти означених молеку-

лярних мішеней, що залучені в процес неопластичної трансформації [10].

Пошук таргетних препаратів проводиться на підставі всіх означених молекулярно-генетичних властивостей злоякісних пухлин [2], але реальні успіхи «підбору ключів» до пухлинних ознак, перш за все, були одержані щодо «автономного росту пухлинних клітин», особливостей етапів сигнальної трансдукції, пов'язаних з:

- а) розпізнаванням та зв'язуванням з лігандами факторів росту;
- б) «Internalization» – потраплянням сигналу в клітину;
- в) багатоступінчастою трансмісією сигналів крізь цитоплазму за допомогою адаптерів та ензимів;
- г) проникненням сигналів в ядро клітини та активацією транскрипційними факторами специфічних генів, що реагують на сигнальні «накази» про проліферацію, диференціювання, репарацію, апоптоз [11].

Трансмісія сигналів здійснюється за допомогою протеїнів. «Міжклітинна, клітинна мова» – фосфорилування та дефосфорилювання [12].

Один із шляхів виходу пухлинних клітин з-під регулюючого контролю є продукція ними чи оточуючими стромальними клітинами поліпептидів – факторів росту, які запускають механізми аутокринної чи паракринної стимуляції проліферації [13].

Провідне місце серед ростових факторів займає сімейство епідермальних факторів росту (ЕФР, EGF) – універсальних реагентів, які призводять до стимуляції росту багатьох типів клітин [14, 15]. У сімейство, крім ЕФР, входять TGF- α , амфірегулін, гепаринзв'язуючий ЕФР-подібний фактор росту, бетацелюлін, епірегулін, неурегулін.

Усі члени сімейства мають спільні риси структури: одну чи декілька характерних амінокислотних послідовностей, які мають 6 цистеїнових залишків та 3 внутрішньомолекулярні дисульфідні зв'язки. Наявність дисульфідних зв'язків формує 3 структурні цикли, які беруть участь у зв'язуванні членів сімейства з рецепторами клітинної поверхні та ініціації специфічних ефектів. Один з найвивченіших факторів цього сімей-

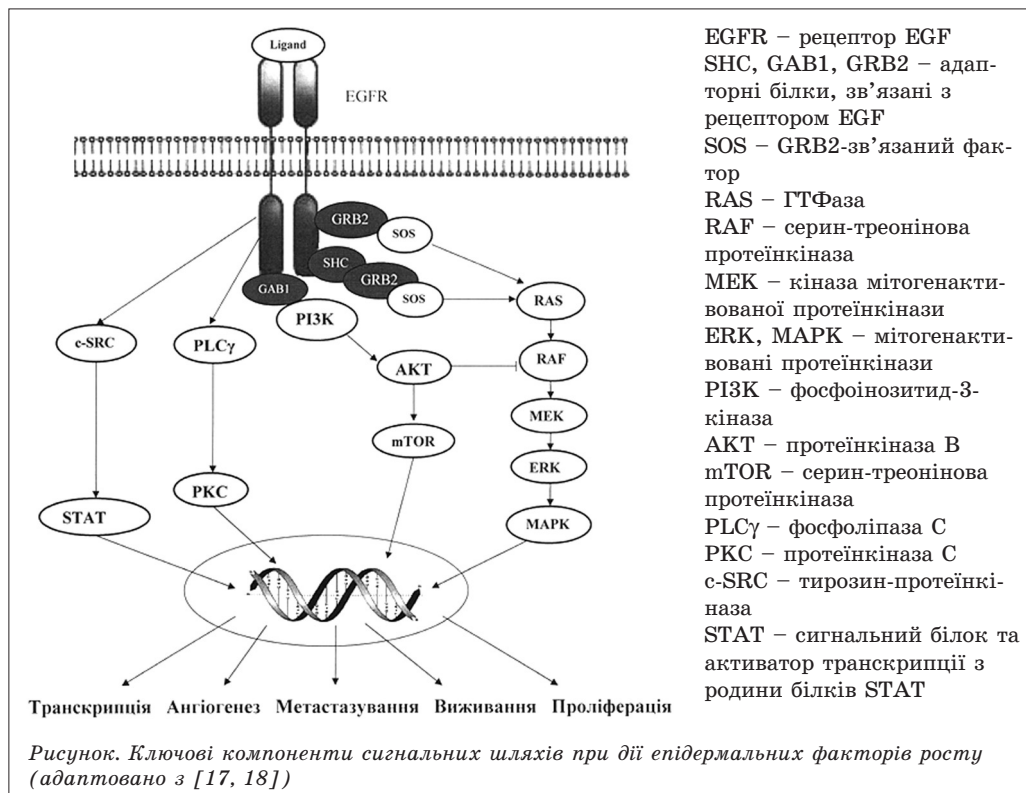
ства – епідермальний фактор росту – стимулює клітинний ріст та клітинне диференціювання. EGF вперше був вилучений із слинної залози в 1962 році, була розшифрована його структура (м.м. близько 6000 Да) [16]. Подальші дослідження дозволили представити процес передачі регуляторного сигналу ЕФР від клітинної мембрани до ядра [17] (рисунок), визначити можливі мішені для створення лікарських засобів.

Слід відмітити, що зазначена схема є досить спрощеною та не охоплює всіх можливих ефектів активованих EGFR, що відповідає рівню завдань роботи.

ЕФР здійснює свої ефекти за участі мембранного рецептора (РЕФР), який належить до родини ERBB, що включає чотири підродино рецепторів: ERBB-1 (EGFR), ERBB-2 (HER2/c-neu), ERBB-3 (Her 3) та ERBB 4 (Her 4) [18, 19]. Різні назви рецепторів пов'язані з тим, що незалежними групами дослідників одночасно були відкриті ген рецептора ростового фактора в людини (her), людський гомолог онкогена вірусу еритробластами птахів (erbb) та ген neu, уперше виділений з клітин неопластами щура [20].

Дослідженнями останніх років надана детальна структура РЕФР [18, 19]. РЕФР – великий трансмембранний глікопротеїн з молекулярною масою 170 000 дальтон – продукт одного з онкогенів сімейства erb – c-erbb1. Схема структури рецепторів зазначеного сімейства є спільною. Ліганд-зв'язуючий домен рецептора має 2 цистеїнові ділянки, що стабілізують вторинну структуру домена, 2 глобулярні ділянки, багаті гліцином, відповідальні, ймовірно, за розпізнавання специфічних лігандів. Біля трансмембранної спіралі з внутрішньої сторони розташовані мембранний регуляторний фрагмент, кіназна АТФ-зв'язана ділянка, «шарнірний» регуляторний фрагмент, автофосфорилюючий С-кінцевий субдомен.

У регуляторних фрагментах знаходяться залишки треоніна та серину, які можуть фосфорилуватися внутрішньоклітинними протейніназами, такими як протейніназа С, мітогенактивована протейніназа (МАРК) чи кіназа мітогенактивованої протейнінази (МЕК) та ін.



У С-кінцевій ділянці молекули РЕФР знаходяться 4–5 залишків тирозину, що автофосфорилуються внутрішньою рецепторною тирозинкіназою. Саме ці фрагменти впізнають ефекторні чи адапторні білки, які забезпечують передачу регуляторних сигналів [19].

EGFR експресується на поверхні як нормальних, так і трансформованих епітеліальних клітин. Але кількість рецепторів EGFR на поверхні пухлинних клітин при пухлинній хворобі значно перевищує їхній уміст у нормальній клітині [20–23]. Для пухлинного росту характерні якісні (мутації) чи кількісні (гіперекспресія, ампліфікація) зміни рецепторів та генів, які їх кодують, що призводить до надлишкової стимуляції внутрішньоклітинних сигнальних шляхів. Саме порушення функціональної активності РЕФР та його лігандів обумовлює більше ніж 70 % усіх злоякісних пухлин [24, 25].

Таким чином, РЕФР ініціює передачу мітогенних сигналів у клітині. Цю дію можна розподілити на декілька рівнів [26, 27]. Перший рівень включає природні поліпептидні ліганди (епідермальні

ні ростові фактори), які взаємодіють з РЕФР та активують кіназну активність. Активовані гомо- та гетеродимери ініціюють взаємодію з адапторними білками, які, у свою чергу, призводять до каскадів переносу сигналів. Каскади білків об'єднані в складну сітку. Це другий рівень, де реалізуються тонкі механізми, що регулюють швидкість передачі сигналів. Третій, епігенетичний рівень – сигнали доходять до факторів транскрипції, які беруть участь у регуляції експресії генів, що відповідають за реалізацію основних життєвих процесів клітини, зокрема, проліферації.

Сигнальна мережа, яка опосередкована рецепторами епідермального фактора росту, містить значну кількість мішеней, у напрямках яких відбувається пошук таргетних препаратів (фактори росту, рецептори ERBB, сигнальні білки та адаптори, кінази BRAF, KRAS, MRAS, NRAS, AKT, MEK, PI3K, фосфатаза PTEN, шаперон HSP90 та ін.) [4, 28, 29, 30, 31, 32, 33]. З сигнальними каскадами рецепторів ERBB пов'язані альтернативні шляхи передачі сигналу, що можуть бути діагностичними марке-

рами та терапевтичними мішенями при пухлинних захворюваннях [34, 35].

Найбільше експериментальних досліджень проведено щодо каскаду передачі мітогенних сигналів, пов'язаного з рецептором епідермального фактора росту в наступних напрямках:

- вибіркове блокування лігандів рецепторів ERBB, у тому числі за допомогою моноклональних антитіл [36];

- вибіркове блокування ERBB – рецепторів за допомогою моноклональних антитіл [37, 38];
- блокування автофосфорилування та кіназної активності ERBB рецепторів за допомогою низькомолекулярних інгібіторів кіназ різного ступеня специфічності [39, 40];
- інгібіція шаперону HSP90 з метою прискорення деградації мутованих p53, RAF-1, AKT, ERBB2 [41, 42];

Таблиця

*Препарати та біологічно активні речовини, що впливають на процеси, залежні від епідермальних факторів росту в пухлинних клітинах**

№	Препарат, біологічно активна речовина	Принцип дії	Клінічні показання
1	Сурамін, карагеніни, сульфати ламінаріну, сульфати декстрану	Неспецифічне пригнічення взаємодії ЕФР з рецептором	Дослідження <i>in vitro</i> та <i>in vivo</i>
2	Моноклональні антитіла до ЕФР	Специфічне зв'язування з ЕФР	Дослідження <i>in vitro</i> та <i>in vivo</i>
3	Моноклональні антитіла до рецептора ЕФР: Цетуксимаб (Ербітукс)** Трастузумаб (Герцептин)** Пертузумаб (Пер'єста)** Панітумумаб (Вектибікс)** Німотузумаб (Тералок) Залутумумаб Нецитумумаб Ертумаксумаб	Специфічне пригнічення взаємодії ЕФР з рецептором	Недрібноклітинний рак легень, рак товстого кишечника, пухлини голови та шиї Рак молочної залози Рак молочної залози Недрібноклітинний рак легень, рак молочної залози, колоректальний рак Плоскоклітинний рак голови та шиї, гліома Клінічні дослідження щодо плоскоклітинного раку голови та шиї Клінічні дослідження щодо недрібноклітинного раку легень Клінічні дослідження щодо раку молочної залози
4	Інгібітори тирозинкінази: Гефітиніб (Іресса)** Ерлотиніб (Тарцева)** Іматиніб (Глівек)** Латапатиніб (Тайверб)**	Вплив на функціональну активність рецептора ЕФР	Недрібноклітинний рак легень Недрібноклітинний рак легень, метастатичний рак підшлункової залози у комбінації з гемцитабіном Хронічний мієлолейкоз Рак молочної залози у складі комбінованої терапії
5	Рекомбінантні білки: α-ТФР – екзотоксин А з <i>Pseudomonas</i> (TP-40), ЕФР-дифтерійний токсин DAB389EGF	Спрямований транспорт цитотоксичних агентів	Дослідження <i>in vitro</i>

Примітка. *Адаптовано з [18, 38], **зареєстровано в Україні.

- інгібіція транскрипції генів, що кодують ERBB рецептори [43];
- інгібіція шедаз – ферментів, що «зрізають» ектодомен рецепторів ERBB з поверхні ракових клітин [44, 45];
- антисмислові олігонуклеотиди [46, 47];
- коротколанцюгові та мікроРНК [48, 49].

Результати зазначених досліджень надано в таблиці.

У частині II цього огляду буде наведено опис препаратів та біологічно активних речовин, наданих в таблиці, а також білків, що продовжують трансдукцію мітогенних сигналів від внутрішньоклітинних процесів до ядра, можливі підходи до їхньої інгібіції.

1. Weinberg R. A. The biology of cancer / Weinberg R. A. – New York : Garland Science, 2007. – 796 p.
2. Hanahan D. The hallmarks of cancer / Hanahan D., Weinberg R. A. // Cell. – 2000. – V. 100, № 1. – P. 57–70.
3. Giaccone G. Targeted Therapies in oncology / G. Giaccone, J.-C. Soria. – CRC Press, 2007. – 424 p.
4. Wujcik D. Science and Mechanism of Action of Targeted Therapies in Cancer Treatment / D. Wujcik // Seminars in Oncology Nursing. – 2014. – V. 30, № 3. – P. 139–146.
5. Bozic I. Dynamics of targeted cancer therapy / I. Bozic, B. Allen, M. A. Nowak // Trends in Molecular Medicine. – 2012. – V. 18, № 6. – P. 311–316.
6. Molecularly targeted cancer therapy: some lessons from the past decade / M. Huang, A. Shen, J. Ding [et al.] // Trends in Pharmacological Sciences. – 2014. – V. 35, № 1. – P. 41–50.
7. Klein S. Targeted Cancer Therapy: Promise and Reality / S. Klein, A. Levitzki // Advances in Cancer Research. – 2007. – V. 97. – P. 295–319.
8. US Food and Drug Administration, Office of Combination. Products Annual Report to Congress Federal Food, Drug, and Cosmetic Act as Amended by the Medical Device User Fee Act of 2002, National Press Office; Rockville, MD. Brien, S.E., Zagzag, D., and Brem, S. (1989) Neurosurgery. – 2003. – V. 25. – P. 715–719.
9. Arkenau H.-T. Targeted agents in cancer therapy / H.-T. Arkenau, C. P. Carden, J. S. de Bono // Medicine. – 2008. – V. 36, № 1. – P. 33–37.
10. Kurzrock R. Targeted Cancer Therapy / R. Kurzrock, M. Markman. – Humana Press Inc., 2010. – 458 p.
11. Yarden Y. Untangling the ErbB signalling network / Yarden Y., Sliwkowski M. X. // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. – 2001. – V. 2, № 2. – P. 127–137.
12. Hunter T. Signaling-2000 and beyond / Hunter T. // Cell. – 2000. – V. 100, № 1. – P. 113–127.
13. Witsch E. Roles for growth factors in cancer progression / Witsch E., Sela M., Yarden Y. // Physiology (Bethesda). – 2010. – V. 25, № 1. – P. 85–101.
14. Gullick W. J. The epidermal growth factor system of ligands and receptors in cancer / Gullick W. J. // Eur. J. Cancer. – 2009. – V. 45, Suppl. 1. – P. 205–210.
15. Герштейн Е. С. Современные представления о механизмах передачи сигналов факторов роста как основа эффективной молекулярно-направленной противоопухолевой терапии / Герштейн Е. С., Кушлинский Н. Е. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2007. – № 1. – С. 4–9.
16. Луценко Е. В. Биологическая активность и терапевтический потенциал эпидермального фактора роста человека / Луценко Е. В., Николаенко Т. В., Фельдман Н. Б. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2006. – № 4. – С. 5–14.
17. The epidermal growth factor receptor family as a central element for cellular signal transduction and diversification / Prenzel N., Fischer O.M., Streit S. [et al.] // Endocr. Relat. Cancer. – 2001. – V. 8, № 1. – P. 11–31.
18. Haley J. D. EGFR Signaling Networks in Cancer Therapy / J. D. Haley, W. J. Gullick. – New York : Humana Press, 2009. – 395 p.
19. Roskoski R. The ErbB/HER family of protein-tyrosine kinases and cancer / R. Roskoski // Pharmacological Research. – 2014. – V. 78. – P. 34–74.
20. Шаназаров Н. А. Роль эпидермального фактора роста и его рецептора в канцерогенезе: молекулярные механизмы их действия / Шаназаров Н. А., Сабиров А. Х., Сироткина С. М. // Российский биотерапевтический журнал. – 2009. – Т. 8, № 4. – С. 85–90.
21. The complexity of targeting EGFR signalling in cancer: from expression to turnover / Sebastian S., Settleman J., Reshkin S.J. [et al.] // Biochim. Biophys. Acta. – 2006. – V. 1766, № 1. – P. 120–139.
22. Ciardiello F. Epidermal growth factor receptor (EGFR) as a target in cancer therapy: understanding the role of receptor expression and other molecular determinants that could influence the response to anti-EGFR drugs / Ciardiello F., Tortora G. // Eur J Cancer. – 2003. – V. 39, № 10. – P. 1348–1354.

23. Клиническое значение рецепторов эпидермального фактора роста в злокачественных опухолях / Костылева О. И., Герштейн Е. С., Ажигова Р. Р. [и др.] // Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки. – 2014. – Т. 19, № 1. – С. 21–35.
24. Мутации EGFR и KRAS, важные для таргетной терапии немелкоклеточного рака легких / Мазуренко Н. Н., Цыганова И. В., Гагарин И. М. [и др.] // Молекулярная медицина. – 2013. – № 6. – С. 55–59.
25. Мутации рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) как показатель эффективности ингибиторов тирозинкиназ у больных немелкоклеточным раком легкого / Горбунова В. А., Мазуренко Н. Н., Гагарин И. М. [и др.] // Эффективная фармакотерапия. Онкология, Гематология и Радиология. – 2012. – № 4. – С. 36–40.
26. Grandis J. R. Signaling through the epidermal growth factor receptor during the development of malignancy / J. R. Grandis, J. C. Sok // Pharmacology & Therapeutics. – 2004. – V. 102, № 1. – P. 37–46.
27. Hynes N. E. ErbB receptors and signaling pathways in cancer / Hynes N. E., MacDonald G. // Curr. Opin. Cell Biol. – 2009. – V. 21, № 2. – P. 177–184.
28. Targeting erbB receptors / Cai Z., Zhang H., Liu J. [et al.] // Semin. Cell Dev. Biol. – 2010. – V. 21, № 9. – P. 961–966.
29. Johansson C. H. BRAF inhibitors in cancer therapy / C. H. Johansson, S. E. Brage // Pharmacology & Therapeutics. – 2014. – V. 142, № 2. – P. 176–182.
30. Friday B. B. K-ras as a target for cancer therapy / B. B. Friday, A. A. Adjei // Biochimica et Biophysica Acta – Reviews on Cancer. – 2005. – V. 1756, № 2. – P. 127–144.
31. Polivka J. Molecular targets for cancer therapy in the PI3K/AKT/mTOR pathway / J. Polivka, F. Janku // Pharmacology & Therapeutics. – 2014. – V. 142, № 2. – P. 164–175.
32. Targeting the PI3-Kinase/Akt/mTOR Signaling Pathway / B. Hassan, A. Akcakanat, A. M. Holder [et al.] // Surgical Oncology Clinics of North America – 2013. – V. 22, № 4. – P. 641–664.
33. Zhang P. New insights into PTEN regulation mechanisms and its potential function in targeted therapies / P. Zhang, J. Chen, X. Guo // Biomedicine & Pharmacotherapy. – 2012. – V. 66, № 7. – P. 485–490.
34. Bartlett J. M. S. Biomarkers and Patient Selection for PI3K/Akt/mTOR Targeted Therapies: Current Status and Future Directions / J. M. S. Bartlett // Clinical Breast Cancer. – 2010. – V. 10, Suppl. 3. – P. S86–S95.
35. Биологические маркеры опухолей в клинике – достижения, проблемы, перспективы / Кушлинский Н. Е., Герштейн Е. С., Овчинникова Л. К. [и др.] // Российский биотерапевтический журнал. – 2009. – Т. 8, № 3. – С. 95–102.
36. Tailored cancer immunotherapy using combinations of chemotherapy and a mixture of antibodies against EGF-receptor ligands / Lindzen, M., Lavi, S., Leitner, O. [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2010. – V. 107, № 28. – P. 12559–12563.
37. Anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies in cancer therapy / Martinelli E., De Palma R., Orditura M. [et al.] // Clin. Exp. Immunol. – 2009. – V. 158, № 1. – P. 1–9.
38. Поляновский О. Л. ERBB – онкогены – мишени моноклональных антител / Поляновский О. Л., Лебедево Е. Н., Деев С. М. // Биохимия. – 2012. – Т. 77, № 3. – С. 289–311.
39. Zhang J. Targeting cancer with small molecule kinase inhibitors / Zhang J., Yang P. L., Gray N. S. // Nat Rev Cancer. – 2009. – V. 9, № 1. – P. 28–39.
40. Duckett D. R. Metabolism considerations for kinase inhibitors in cancer treatment / Duckett D. R., Cameron M. D. // Expert Opin. Drug Metab. Toxicol. – 2010. – V. 6, № 10. – P. 1175–1193.
41. Sidera K. HSP90 inhibitors: current development and potential in cancer therapy / Sidera K., Patsavoudi E. // Recent Pat. Anticancer Drug Discov. – 2014. – V. 9, № 1. – P. 1–20.
42. Soga S. Hsp90 inhibitors as anti-cancer agents, from basic discoveries to clinical development / Soga S., Akinaga S., Shiotsu Y. // Curr. Pharm. Des. – 2013. – V. 19, № 3. – P. 366–376.
43. FAS and NF- κ B signalling modulate dependence of lung cancers on mutant EGFR / Bivona T. G., Hieronymus H., Parker J. [et al.] // Nature. – 2011. – V. 471, № 7339. – P. 523–526.
44. Dempsey P. Emerging roles of TACE as a key protease in ErbB ligand shedding / Dempsey P., Garton K. J., Raines E. W. // Molecular Interventions. – 2002. – № 2. – P. 136–141.
45. ADAM10 as a target for anti-cancer therapy / Moss M. L., Stoeck A., Yan W. [et al.] // Curr. Pharm. Biotechnol. – 2008. – V. 9, № 1. – P. 2–8.
46. Wacheck V. Antisense molecules for targeted cancer therapy / Wacheck V., Zangemeister-Wittke U. // Crit. Rev. Oncol. Hematol. – 2006. – V. 59, № 1. – P. 65–73.
47. Coppelli F. M. Oligonucleotides as anticancer agents: from the benchside to the clinic and beyond / Coppelli F. M., Grandis J. R. // Curr Pharm Des. – 2005. – V. 11, № 22. – P. 2825–2840.
48. RNA interference and personalized cancer therapy / Rao D. D., Wang Z., Senzer N. [et al.] // Discov. Med. – 2013. – V. 15, № 81. – P. 101–110.
49. Petrocca F. Promise and challenge of RNA interference-based therapy for cancer / Petrocca F., Lieberman J. // J. Clin. Oncol. – 2011. – V. 29, № 6. – P. 747–754.

**Н. І. Шарикіна, Н. О. Мешкова, О. В. Міщенко, О. О. Хавич,
І. Г. Кудрявцева, С. І. Пенделюк**

Трансдукція мітогенних сигналів як основа створення протипухлинних таргетних препаратів (частина I)

У першій частині огляду наведено основні риси дезрегуляції сигнальної трансдукції при пухлинному рості з акцентом на автономності сигналів росту та відхиленні від ростгальмувальних сигналів. У цьому напрямі досягнуті реальні успіхи «підбору ключів» до пухлинних ознак.

Дано визначення таргетних протипухлинних засобів, для дії яких необхідна наявність мішеней патогенетично обґрунтованої терапії.

Підкреслено провідне місце в дослідженнях цієї спрямованості сімейства епідермальних факторів росту, їхніх рецепторів та пов'язаних з ними каскадів передачі мітогенних сигналів.

Відображено особливості етапів сигнальної трансдукції, пов'язаних з рецептором епідермального фактора росту, та напрями створення протипухлинних засобів (вибіркове блокування лігандів рецепторів ERBB, у тому числі за допомогою моноклональних антитіл; вибіркове блокування ERBB – рецепторів за допомогою моноклональних антитіл; блокування автофосфорилювання та кіназної активності ERBB рецепторів за допомогою низькомолекулярних інгібіторів кіназ різного ступеня специфічності; інгібіція шаперону HSP90 з метою прискорення деградації мутованих p53, RAF-1, AKT, ERBB2; інгібіція транскрипції генів, що кодують ERBB рецептори; інгібіція шедаз – ферментів, що «зрізають» ектодомен рецепторів ERBB з поверхні ракових клітин; антизмистовні олігонуклеотиди; коротколанцюгові та мікроРНК). Наведено препарати та біологічно активні речовини, які впливають на ЕФР – залежні процеси в пухлинних клітинах, їхня протипухлинна дія, клінічні показання, стан реєстрації в Україні.

Деталізацію означених підходів та їхніх результатів надано в частині II огляду, який буде надруковано в наступному номері журналу.

Ключові слова: сигнальна трансдукція, таргетні препарати, біологічно активні речовини, механізми дії

**Н. И. Шарыкина, Н. А. Мешкова, О. В. Мищенко, О. А. Хавич,
И. Г. Кудрявцева, С. И. Пенделюк**

Трансдукция митогенных сигналов как основа создания противоопухолевых таргетных препаратов (часть I)

В первой части обзора указаны основные черты дезрегуляции сигнальной трансдукции при опухолевом росте с акцентом на автономности сигналов роста и отклонении от задерживающих рост сигналов. В этом направлении достигнуты реальные успехи «подбора ключем» к опухолевым признакам.

Дано определение таргетных противоопухолевых средств, для действия которых необходимо наличие мишеней патогенетически обоснованной терапии.

Подчеркнуто ведущее место в исследованиях этой направленности семейства эпидермальных факторов роста (ЭФР), их рецепторов и связанных с ними каскадов передачи митогенных сигналов.

Отражены особенности этапов сигнальной трансдукции, связанные с рецептором ЭФР, и направления создания противоопухолевых средств (избирательное блокирование лигандов рецепторов ERBB, в том числе с помощью моноклональных антител; избирательное блокирование ERBB –рецепторов с помощью моноклональных антител; блокирование аутофосфорилювания и киназной активности ERBB – рецепторов с помощью низькомолекулярных ингибиторов киназ различной степени специфичности; ингибирование шаперона HSP90 для ускорения деградации мутировавших p53, RAF-1, AKT, ERBB2; ингибирование транскрипции генов, кодирующих ERBB рецепторы; ингибирование шедаз – ферментов, «срезающих» эктодомен рецепторов ERBB с поверхности раковых клеток; антисмысловые олигонуклеотиды; короткоцепочные и микроРНК). Представлены препараты и биологически активные вещества, которые влияют на ЭФР-зависимые процессы в опухолевых клетках, их противоопухолевое действие, клинические показания, состояние регистрации в Украине.

Детализация указанных подходов и их результатов представлены в части II обзора, который будет опубликован в следующем номере журнала.

Ключевые слова: сигнальная трансдукция, таргетные препараты, биологически активные вещества, механизмы действия

**N. I. Sharykina, N. A. Meshkova, O. V. Mischenko, O. A. Khavich,
I. G. Kudryavtzeva, S. I. Pendeluk**

Transduction of mitogenic signals as a basis for the creation of anticancer targeted agents (part I)

The first part of the review defines the main characteristics of the dysregulation of signal transduction in tumor growth with an emphasis on the autonomy of growth signals and deviances of growth arresting signals. A real progress in «selection of keys» to cancer hallmarks achieved in this direction.

The definition of targeted anticancer agents, their actions requiring targets for pathogenetically substantiated therapy are presented.

The leading position of the epidermal growth factor family, their receptors and related cascades of the mitogenic signaling transmission are accentuated in the researches of this direction.

It is described the features of signal transduction pathways, associated with epidermal growth factor receptor, the directions of creation of novel anticancer agents (selective blockade of ERBB receptor ligands, including a monoclonal antibody; a selective blockade of ERBB-receptors using monoclonal antibodies; blockade of autophosphorylation and kinase activity of ERBB receptors, using small molecule kinase inhibitors with various degrees of specificity; inhibition of HSP90 chaperone to accelerate the degradation of mutant p53, RAF-1, AKT, ERBB2; inhibition of transcription of gene, encoding ERBB receptors; inhibition shedase – enzymes that «cut-off» ectodomain ERBB receptors on the surface of cancer cells; antisense oligonucleotides; short-chain and microRNA).

It is characterized drugs and biologically active substances that affect on EGF-dependent processes in tumor cells and their antitumor effect, clinical indications, registration status in Ukraine.

Characterization of these approaches and their results are presented in part II of the review and will be published in the next issue.

Key words: signal transduction, targeted drugs, biologically active substances, the mechanisms of action

Надійшла: 09.09.2014 р.

Контактна особа: Шарикіна Надія Іванівна, доктор медичних наук, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», б. 14, вул. Е. Потье, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 42 56.

И. Ф. Беленичев², Л. И. Кучеренко^{1,2}, Ю. А. Волчик²,
А. В. Абрамов², Н. В. Бухтиярова²

Некоторые аспекты кардиопротекторного действия нового β -адреноблокатора с NO-миметическим эффектом «Гипертрил» на модели инфаркта миокарда

¹НПО «Фарматрон», Запорожье

²Запорожский государственный медицинский университет

Ключевые слова: инфаркт миокарда, β -адреноблокаторы, 4-амино-1,2,4-триазолы, Гипертрил, кардиопротекция

Интенсивная терапия в остром периоде инфаркта миокарда является одной из сложных клинических проблем [1, 2]. Именно в этот период широко назначаются тромболитики, антикоагулянты и β -адреноблокаторы. Назначение β -адреноблокаторов (метопролол, небиволол, атенолол) в первые часы инфаркта миокарда снижает потребность миокарда в кислороде и улучшает его доставку, уменьшает боль, способствует ограничению зоны инфаркта и снижает риск угрожающих жизни желудочковых аритмий [2, 8]. Анализ результатов контролируемых клинических исследований показал, что введение β -адреноблокаторов снижает летальность, риск остановки кровообращения и повторных инфарктов без смертельного исхода на 15 % [2, 8, 10]. С учетом всего вышеизложенного, дальнейшее создание высокоэффективных β -адреноблокаторов с кардиопротекторным, вазодилатирующим, антиоксидантным действием является актуальной задачей современной фармакологии. Сотрудниками НПО «Фарматрон» был разработан подход к созданию новых антиангинальных препаратов и синтезировано соединение – производное 4-амино-1,2,4-триазола под шифром «МТ», в дальнейшем «Гипертрил», которое оказывает NO-миметическое, β_1 -адреноблокирующее, антигипертензивное действие [3, 5–7]. Цель исследования – изучение кардиопротекторного действия Гипертрила.

Материалы и методы. Опыты выполнены на 60 белых беспородных крысах-самцах массой 160–180 г, полученных из ЧП «Биомодельсервис». Все экспериментальные процедуры и оперативные вмешательства осуществляли в соответствии с «Положением об использовании животных в биомедицинских исследованиях». Инфаркт миокарда (ИМ) моделировали введением изадрина (SIGMA-ALDRICH, USA) и питуитрина (AB «Endokrininiai», Литва) по схеме: питуитрин – 0,5 Ед/кг – внутривентриально, через 20 мин изадрин – 100 мг/кг – подкожно, через 6 ч инъекцию изадрина повторяли и через 24 ч вводили оба агента в тех же дозах [4]. Исследуемые препараты вводили внутривентриально трижды в течение суток через 30 мин после каждой инъекции изадрина: Гипертрил в дозе 2,5 мг/кг, метопролол – 10 мг/кг. В работе использовали: Гипертрил – 0,5 % раствор для инъекций (НПО «Фарматрон») и метопролол – 1% раствор для инъекций в ампулах (Astra Zeneca UK Ltd., Швеция). В каждой группе было по 15 животных. У животных регистрировали ЭКГ под тиопентал-натриевым наркозом (40 мг/кг), анализ которой проводили на компьютерном анализаторе CardioCom-2000plus (ХАИ-медика, Украина). Для морфологических исследований верхушку сердца в течение 24 ч фиксировали в 10 % формалине нейтральном, заливали в парафиновые блоки, из которых готовили серийные 5-микронные срезы. Окрашивание проводили галоцианин-хро-

мовыми квасцами по Эйнарсону [9]. Морфометрический анализ проводили на микроскопе Axioskop (Zeiss, Germany) при помощи видеокамеры COHU-4922 (USA) и вводили в систему цифрового анализа изображения VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Germany).

Результаты исследования обработаны с применением статистического пакета лицензионной программы «STATISTICA for Windows 6.1» (StatSoft Inc., № AXX R712D833214SAN5), а также «SPSS 16.0», «Microsoft Excel 2003». Сравнение групп проводили при помощи критерия Mann-Whitney.

Результаты и их обсуждение. Моделирование инфаркта миокарда сопровождалось снижением физической активности животных и отеком легких. Развитие сердечной недостаточности подтверждается снижением диуреза в два раза. В терминальных стадиях возникали патологические типы дыхания (Чейн-Стокса, Куссмауля, Биота), судороги, параличи, остановка сердечной деятельности. Летальность в группе нелеченых животных составляла 53,4 % (табл. 1). В группе животных, получавших лечение препаратом Гипертрил, отмечены повышение двигательной активности, улучшение внешнего вида животных, их поведения и сердечно-сосудистой деятельности.

В группе животных с экспериментальной патологией, получавших Гипертрил, летальности не наблюдали, что очень важно в острый период ИМ

[2]. В группе животных с ИМ, получавших метопролол, летальность составляла 40 %. Экспериментальный инфаркт миокарда у животных характеризовался увеличением ЧСС на 57,1 % по сравнению с интактной группой (табл. 2).

При этом отмечали снижение амплитуды зубца R на 32,2 % и увеличение отклонения интервала ST от изолинии в 4,8 раза, что свидетельствовало об ишемическом изменении миокарда. Следует отметить, что развитие инфаркта миокарда приводило к достоверному увеличению (на 3,2 %) длительности деполяризации предсердий (зубец P) относительно длительности сердечного цикла (интервал RR), времени проведения импульса (на 6,8 %) по атриовентрикулярному соединению (интервал PQ) и длительности электрической систолы желудочков (на 7,4 %, комплекс QRS). Это привело к укорочению диастолического периода TP на 15,6 % по сравнению с интактной группой.

Экспериментальная терапия препаратом Гипертрил приводила к снижению ЧСС на 22,1 % ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными крысами с ИМ (табл. 2).

При этом у экспериментальных животных, получавших Гипертрил, на 47,6 % ($p < 0,05$) увеличивалась амплитуда зубца R, и данный показатель статистически не отличался от показателя контрольных крыс без ИМ. Таким образом, препарат Гипертрил проявляет отрицательный хронотропный эффект при инфаркте миокарда. В

Таблица 1

Выживаемость животных в условиях экспериментального инфаркта миокарда и применения Гипертрила

Группа животных	Количество животных в группе	Количество выживших животных	Процент выживания
Интактные животные	15	15	100,0
Инфаркт миокарда (контроль)	15	7	46,6
Инфаркт миокарда + Гипертрил, 2,5 мг/кг	15	15 ^{*1}	100,0
Инфаркт миокарда + Метопролол, 10 мг/кг	15	9	60,0

Примечание. Здесь и в табл. 2–3: *Изменения достоверны по отношению к животным контрольной группы ($p < 0,05$); ¹изменения достоверны по отношению к группе животных, получавших метопролол ($p < 0,05$).

Показатели ЭКГ у животных с экспериментальным инфарктом миокарда и в условиях применения Гипертрила ($M \pm m$, $n = 15$)

Исследуемый показатель		Инфаркт миокарда	ИМ + Метопролол, 10 мг/кг	ИМ + Гипертрил, 2,5 мг/кг	Интakтные животные
Частота сердечных сокращений, уд/мин		597 ± 2	$490 \pm 12^*$	$465 \pm 13^*$	380 ± 10
Амплитуда зубцов, мВ	P	$0,040 \pm 0,010$	$0,008 \pm 0,022$	$0,026 \pm 0,008$	$0,026 \pm 0,008$
	R	$0,151 \pm 0,010$	$0,174 \pm 0,073$	$0,223 \pm 0,030^*$	$0,223 \pm 0,030$
	T	$0,078 \pm 0,023$	$0,072 \pm 0,038$	$0,076 \pm 0,017$	$0,076 \pm 0,017$
Отклонение интервала ST относительно изолинии, мВ		$0,034 \pm 0,029$	$-0,044 \pm 0,023$	$-0,101 \pm 0,024^{*1}$	$-0,007 \pm 0,021$
Длительность интервалов, числитель – мс, знаменатель – % к интервалу RR	P	$21,33 \pm 0,44$ $20,52 \pm 0,44$	$19,00 \pm 1,89$ $16,28 \pm 1,24$	$27,46 \pm 1,43^{*1}$ $17,28 \pm 1,07^*$	$27,46 \pm 1,42$ $17,28 \pm 1,07$
	PQ	$34,00 \pm 0,76$ $32,71 \pm 0,82$	$30,33 \pm 1,64$ $26,24 \pm 0,90^*$	$41,75 \pm 1,95^{*1}$ $25,85 \pm 1,08^*$	$41,75 \pm 1,95$ $25,85 \pm 1,08$
	QRS	$27,56 \pm 0,87$ $26,48 \pm 0,77$	$24,33 \pm 0,83^*$ $21,14 \pm 0,44^*$	$26,80 \pm 0,26^{*1}$ $22,33 \pm 0,53^*$	$30,38 \pm 0,70$ $19,02 \pm 0,55$
	TP диастола, %	$40,81 \pm 1,02$	$52,62 \pm 1,27^*$	$49,38 \pm 1,34^*$	$55,14 \pm 2,41$

группе животных, получавших Гипертрил, регистрировали снижение степени отклонения интервала ST от изолинии в 3,4 раза ($p < 0,05$), что в сочетании с восстановлением амплитуды зубца R указывало на сохранение более высокой функциональной активности кардиомиоцитов и проявление противоишемического действия исследуемого препарата. Важно отметить, что введение препарата Гипертрил приводило к достоверному уменьшению абсолютной и относительной (к интервалу RR) длительности зубца P, интервалов PQ и QRS, что указывало на снижение степени асинхронности сокращения миокарда предсердий и желудочков. При этом почти на 9 % увеличивалась электрическая диастола сердца, что в условиях тахикардии положительно влияет на течение реполяризационных процессов и энергетическое восстановление кардиомиоцитов.

Экспериментальная терапия инфаркта миокарда метопрололом также приводила к достоверному уменьшению ЧСС и степени отклонения от изолинии

интервала ST. Однако по силе проявляемого эффекта метопролол значительно уступал Гипертрилу. При терапии метопрололом наблюдалось уменьшение абсолютной и относительной (к интервалу RR) длительности зубца P, интервалов PQ и QRS, что указывало на снижение степени асинхронности сокращения миокарда предсердий и желудочков. Кроме того, более чем на 10 % увеличивалась электрическая диастола сердца. Сравнивая эффективность экспериментальной терапии инфаркта миокарда препаратом Гипертрил и метопрололом по показателям электрической активности сердца, следует отметить преимущества препарата Гипертрил: уменьшение ЧСС, степени отклонения интервала ST от изолинии и повышение амплитуды зубца R. Этот факт также может свидетельствовать о том, что исследуемый препарат Гипертрил оказывает протективное действие на кардиомиоциты в зоне ишемии, способствует восстановлению их энергообеспечения [3, 5], что дает им возможность включиться в систолу наряду с

неповрежденными кардиомиоцитами. Моделирование ИМ приводило к нарушению гистоструктуры миокарда – формированию очага некроза, занимающего до 27,8 % площади всех срезов, уменьшению плотности на 23,1 % и площади на 30,7 % ядер кардиомиоцитов, снижению в них концентрации РНК на 19,0 % на фоне снижения концентрации РНК в цитоплазме кардиомиоцитов на 27,3 % по сравнению с показателями интактных животных. Параллельно в этих срезах отмечали повышение количества апоптотически измененных кардиомиоцитов на 280 % (табл. 3).

Указанные изменения свидетельствовали об ишемических нарушениях метаболизма кардиомиоцитов, в частности, о нарушении баланса процессов биосинтеза в миокарде, деструкции клеток и усилении некроза/апоптоза [2, 8, 10]. Курсовое назначение Гипертрила в дозе 2,5 мг/кг животным с инфарктом миокарда оказывало значительный кардиопротективный эффект, о чем свидетельствовало уменьшение зоны некроза в миокарде на 20,8 %.

Параллельно в миокарде крыс с ИМ, получавших Гипертрил, отмеча-

лось увеличение на 29 % плотности ядер кардиомиоцитов на фоне увеличения их площади на 23,7 % по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Введение Гипертрила приводило и к уменьшению апоптотически измененных кардиомиоцитов на 74,8 % ($p < 0,05$) по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы, что свидетельствовало о кардиопротекторном и антиапоптотическом действии препарата. Экспериментальная терапия Гипертрилом приводила к увеличению концентрации РНК в ядрах на 18,7 % и цитоплазме кардиомиоцитов на 20,1 % по сравнению с нелечеными животными, что свидетельствует о стимуляции процессов транскрипции и репаративных свойствах препарата. Курсовое введение метопролола оказывало менее выраженное кардиопротекторное действие по сравнению с Гипертрилом. Причем по ряду показателей (летальность, отклонение интервала ST на ЭКГ, площадь некроза миокарда, плотность ядер кардиомиоцитов и содержание в них РНК, плотность ядер апоптотически и деструктивно измененных клеток) Гипертрил достоверно ($p < 0,05$) превосходит метопролол.

Таблица 3

Морфофункциональные характеристики кардиомиоцитов в условиях экспериментального инфаркта миокарда и применения Гипертрила

Исследуемый показатель	Интактные животные	Инфаркт (контроль)	ИМ + Гипертрил, 2,5 мг/кг	ИМ+ Метопролол, 10 мг/кг
Площадь ядер кардиомиоцитов, мкм ²	14,0 ± 0,8	9,70 ± 0,38	12,0 ± 0,5*	10,4 ± 0,2
Плотность ядер кардиомиоцитов на 1 мм ² площади миокарда	9773 ± 217	7512 ± 263	9681 ± 178* ¹	8507 ± 255*
Плотность ядер апоптотических и деструктивно-измененных кардиомиоцитов на 1 мм ² площади миокарда	207 ± 14	787 ± 15	235 ± 11* ¹	473 ± 19*
Концентрация РНК в ядрах кардиомиоцитов, E _{оп}	0,264 ± 0,001	0,214 ± 0,001	0,254 ± 0,002* ¹	0,215 ± 0,001
Концентрация РНК в цитоплазме кардиомиоцитов, E _{оп}	0,095 ± 0,001	0,069 ± 0,001	0,083 ± 0,002* ¹	0,073 ± 0,001*
Площадь некроза, % к общей площади срезов	0	27,8 ± 3,5	7,0 ± 0,6* ¹	12,3 ± 1,1*

Выводы

1. Введение Гипертрила в дозе 2,5 мг/кг внутрибрюшинно крысам параллельно формированию острого инфаркта миокарда приводит к снижению летальности на 53,4 % и улучшению показателей ЭКГ – снижению ЧСС на 22,1 % ($p < 0,05$), увеличению на 47,6 % ($p < 0,05$) амплитуды зубца R на фоне снижения суммарного отклонения интервала ST от изолинии в 3,4 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой, что указывает на сохранение функциональной активности кардиомиоцитов.
2. Назначение Гипертрила животным с инфарктом миокарда приводит к уменьшению площади некроза миокарда на 20,8 %, снижению

плотности ядер апоптических и деструктивно измененных кардиомиоцитов на 70 %, повышению плотности ядер кардиомиоцитов на 29 %, увеличению содержания РНК (в ядрах на 18,7 % и в цитозоле на 20 %) по сравнению с группой нелеченых животных.

3. По основным показателям кардиопротекторной активности (летальность экспериментальных животных, морфофункциональные показатели кардиомиоцитов, отклонение интервала ST от изолинии на ЭКГ) Гипертрил достоверно ($p < 0,05$) превосходит метопролол (10 мг/кг).
 4. Полученные данные являются экспериментальным обоснованием для дальнейшего углубленного изучения Гипертрила как потенциально-антиангинального препарата.
1. Агеев Ф. Т. Диастолическая дисфункция как проявление ремоделирования сердца / Агеев Ф. Т., Овчинников А. Г. // Сердечная недостаточность. – 2011. – Т. 3, № 4 (14). – С. 190–195.
 2. Коняхин А. Ю. Современные патогенетические подходы к коррекции ишемии миокарда: Автореф. дисс. на соискание учен. степени доктора медицинских наук. – Москва, 2007. – 47 с.
 3. Патент № 2404974 РФ, МПК C07D249/08 (2006.01) A61P9/04 (2006.01), A61P9/10 (2006.01), A61P9/12 (2006.01). Бромид 1-(β -фенилэтил)-4-амино-1,2,4-триазолия (MT), обладающий кардиопротективным, противоишемическим, антигипертензивным, антиоксидантным, протеинсинтетическим и энерготропным действием / Мазур И. А., Беленичев И. Ф., Колесник Ю. М., Кучеренко Л. И., Волошин Н. А., Абрамов А. В., Чекман И. С., Горчакова Н. А., Загородний М. И., Мамчур В. И., Довгань Р. С., Георгиевский Г. В.; заявитель и патентообладатель ООО «НПО "Фарматрон"». – № 2008148765/04; заявл. 10.12.2008; опубл. 27.11.2010.
 4. Стефанов А. В. Доклинические исследования лекарственных средств / А. В. Стефанов. – К.: Авиценна, 2002. – 568 с.
 5. Некоторые аспекты кардиопротективного действия потенциального антиангинального препарата «MT» при моделировании острой ишемии миокарда / Чекман И. С., Беленичев И. Ф., Мазур И. А. [и др.] // Запорож. мед. журн. – 2010. – Т. 12, № 3. – С. 198–202.
 6. Влияние нового препарата «Гипертрил» на показатели кардио- и системной гемодинамики у кролей с острой ишемией миокарда / Чекман И. С., Беленичев И. Ф., Мазур И. А. [и др.] // Эксперим. та клін. фізіологія і біохімія. – 2012. – № 2. – С. 7–16.
 7. NO-зависимые механизмы кардиопротекторного действия препарата «MT» при курсовом назначении SHR-крысам / Чекман И. С., Беленичев И. Ф., Мазур И. А. [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2013. – Т. 76, № 8. – С. 24–26.
 8. Effectiveness of beta-blocker therapy after acute myocardial infarction in elderly patients with chronic obstructive pulmonary disease or asthma / Chen J., Radford M. J., Wang Y. [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2010. – V. 37. – P. 1950–1956.
 9. Handbook of Histology Methods for Bone and Cartilage / An, Yuehwei H., Martin, Kylie L. (Eds.). – New Jersey: Humana Press, 2003. – XVIII. – 588 p.
 10. White W. Blood pressure monitoring in cardiovascular medicine and therapeutics / White W. – New Jersey: Humana Press, 2011. – 308 p.

И. Ф. Беленичев, Л. И. Кучеренко, Ю. А. Волчик, А. В. Абрамов, Н. В. Бухтиярова Некоторые аспекты кардиопротекторного действия нового β_1 -адреноблокатора с NO-миметическим эффектом «Гипертрил» на модели инфаркта миокарда

Цель исследования – изучение кардиопротекторного действия нового производного 4-амино-1,2,4-триазола – «Гипертрил», которое оказывает NO-миметическое, β_1 -адреноблокирующее и антигипертензивное действие. Внутрибрюшинное введение Гипертрила в дозе 2,5 мг/кг крысам с изадрин-питуитриновым острым инфарктом миокарда приводит к снижению летальности животных на 53,4 % и улучшению показателей ЭКГ, характерному для кардиоселективных β -адреноблокаторов – снижению ЧСС на 22,1 % ($p < 0,05$), увеличению амплитуды зубца R на 47,6 % ($p < 0,05$) на фоне снижения степени отклонения интервала ST от изолинии в 3,4 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой.

ной группой, что указывало на сохранение более высокой функциональной активности кардиомиоцитов и проявление противоишемического действия исследуемого препарата. Назначение Гипертрила животным с инфарктом миокарда приводит к уменьшению зоны некроза миокарда на 20,8 %, снижению плотности ядер апоптотических кардиомиоцитов на 70 %, повышению плотности ядер неповрежденных кардиомиоцитов на 29 %, повышению в них РНК на 18,7 % по сравнению с группой нелеченых животных, что свидетельствовало о наличии выраженного кардиопротекторного действия у потенциального препарата. По основным показателям кардиопротекторной активности (летальность экспериментальных животных, морфофункциональные показатели кардиомиоцитов, отклонение интервала ST от изолинии на ЭКГ) Гипертрил достоверно ($p < 0,05$) превосходит метопролол (10 мг/кг).

Полученные данные являются экспериментальным обоснованием для дальнейшего углубленного изучения Гипертрила как потенциального антиангинального препарата.

Ключевые слова: инфаркт миокарда, β -адреноблокаторы, 4-амино-1,2,4-триазолы, Гипертрил, кардиопротекторное действие

І. Ф. Беленічев, Л. І. Кучеренко, Ю. А. Волчик, А. В. Абрамов, Н. В. Бухтіярова
Деякі аспекти кардіопротекторної дії нового β -адреноблокатора з
НО-міметичним ефектом «Гіпертрил» на моделі інфаркту міокарда

Мета дослідження – вивчення кардіопротекторної дії нової сполуки похідного 4-аміно-1,2,4-триазолу – «Гіпертрил» з НО-міметичним, β -адреноблокуючим та антигіпертензивним ефектами. Внутрішньоочеревинне введення Гіпертрилу в дозі 2,5 мг/кг щурам з ізадрин-пітутриновим гострим інфарктом міокарда призводить до зниження летальності тварин на 53,4 % і покращання показників ЕКГ, характерного для кардіоселективних β -адреноблокаторів – зниження ЧСС на 22,1 % ($p < 0,05$), збільшення на 47,6 % ($p < 0,05$) амплітуди зубця R на тлі зниження ступеня відхилення інтервалу ST у 3,4 разу ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою, що свідчить про збереження більш високої функціональної активності кардіоміоцитів і протиішемічну дію досліджуваного препарату. Призначення Гіпертрилу тваринам з інфарктом міокарда призводить до зменшення зони некрозу міокарда на 20,8 %, зниження щільності ядер апоптотичних кардіоміоцитів на 70 %, підвищення щільності ядер неушкоджених кардіоміоцитів на 29 %, збільшення вмісту в них РНК на 18,7 % порівняно з групою нелікованих тварин, що свідчить про наявність вираженої кардіопротекторної дії Гіпертрилу.

За основними показниками кардіопротекторної активності (летальність експериментальних тварин, морфофункціональні показники кардіоміоцитів, відхилення інтервалу ST від ізолінії на ЕКГ) Гіпертрил достовірно ($p < 0,05$) перевищує метопролол (10 мг/кг). Отримані дані є експериментальним обґрунтуванням подальшого поглибленого вивчення Гіпертрилу як потенційного антиангінального препарату.

Ключові слова: інфаркт міокарда, β -адреноблокатори, 4-аміно-1,2,4-триазолі, Гіпертрил, кардіопротекторна дія

I. F. Belenichev, L. I. Kucherenko, Yu. A. Volchik, A. V. Abramov, N. V. Bukhtiyarova
Some aspects of cardioprotective activity of new β -adrenoblocker with
NO-mimetic effect «Hypertril» on myocardial infarction model

A new compound – derivative of 4-amino-1,2,4 triazole – «Hypertril» which possesses NO-mimetic, β -adrenoblocking and antihypertensive activity was synthesized and studied its cardioprotective effect. Intraperitoneal administration of Hypertril in dose 2,5 mg/kg to rats with isadrine-pituitrin acute myocardial infarction resulted in 53,4 % decrease of lethality and improvement of ECG parameters that characterized for cardioselective β -adrenoblockers – decrease of heart rate by 22,1% ($p < 0,05$), increase of R wave amplitude by 47,6 % ($p < 0,05$) against the background of 3,4 times decrease of ST interval amplitude as compared to control group. It resulted in the maintenance of higher efficiency of myocardiocytes functional activity and proved antiischemic effect of investigated drug. Hypertril administration to animals with myocardial infarction resulted in decrease of myocardium necrosis zone by 20,8 %, decrease of apoptic cardiomyocytes density by 70 %, increase of intact cardiomyocytes nuclei density by 29 %, increase their RNA contents by 18,7 % as compared with untreated group, indicating the presence of pronounced cardioprotective effect of potential drug. As for the main indices of cardioprotective activity – (lethality of experimental animals, morphofunctional cardiomyocyte parameters, deviation ST interval from isolines on the ECG) Hypertril was significantly ($p < 0,05$) more effective then metoprolol (10 mg/kg).

The data obtained can be experimental ground of further advanced study of Hypertril as potential antianginal drug.

Key words: myocardial infarction, β -adrenoblockers, 4-amino-1,2,4 triazoles, Hypertril, cardioprotective effect

Поступила: 24.09.2014 г.

Контактное лицо: Беленічев Ігорь Федорович, доктор біологічних наук, професор, кафедра фармакології і медичинської рецептури, Запорозький державний медичинський університет, д. 26, просп. Маяковського, г. Запоріжжє, 69035. Тел.: +38 0 61 34 27 41.
Електронна пошта: ifb1914@mail.ru

Н. І. Волощук, І. В. Таран

Гастротоксична дія диклофенаку натрію на тлі дефіциту та надлишку гідроген сульфід у есперименті

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова

Ключові слова: гастротоксичність, диклофенак натрію, гідроген сульфід, пропаргілгліцин, секреторно-моторна функція шлунково-кишкового тракту

Нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) відносять до числа ефективних симптоматичних препаратів для купірування болю, лихоманки та запалення. Вони є основною фармакотерапевтичною групою для тривалого лікування хронічного больового синдрому, а також захворювань опорно-рухового апарату [1–3]. Проте прийом НПЗЗ часто супроводжується розвитком побічних реакцій (ПР), однією з основних є негативний вплив на слизову оболонку шлунка, а саме розвиток НПЗЗ-гастропатій. Цьому сприяє безконтрольне використання безрецептурних препаратів даної групи, що ставить під загрозу здоров'я населення [3–5]. Частий безсимптомний перебіг, великий ризик маніфестації у вигляді шлунково-кишкових кровотеч, тривала непрацездатність хворих, а також великі економічні витрати зумовлюють актуальність проблеми НПЗЗ-гастропатії та її медико-соціальне значення [1, 2]. Існуючі в Україні та світі методи профілактики НПЗЗ-залежного ульцерогенезу не зовсім задовільняють лікарів і пацієнтів та спонукають до подальших досліджень у цьому напрямі. В основі НПЗЗ-залежного ульцерогенезу лежить розбалансування в системі захисту слизової оболонки шлунково-кишкового тракту (ШКТ) та дія агресивних чинників, зокрема, НПЗЗ. Поряд із простагландинами, ліпоксинами, важливу роль у забезпеченні цитопротекції шлунка відіграють інші фізіологічні месенжери, одним із яких є гідроген сульфід (H_2S), що забезпечує захисні властивості слизової оболонки шлунка (СОШ). Він також

бере участь у регуляції судинного тону, скоротливості міокарда, нейротрансмісії, секреції інсуліну, проявляє здатність модулювати активність запального процесу тощо [6–8]. Депримує вплив на рівень гідроген сульфід є одним із механізмів протизапальної дії НПЗЗ [9], а метаболічні зміни, які при цьому виникають, залучені в патогенез НПЗЗ-гастропатій. Нестача H_2S спостерігається при легеневій гіпертензії, хворобі Альцгеймера, порушеннях цілісності слизової оболонки шлунка та цирозі печінки, міокардальній ішемії, атеросклерозі, гіпергомоцистемії. З іншого боку, надмірна продукція H_2S залучена до патогенезу запальних захворювань, септичного шоку, коліту, мозкового інсульту, розумової недорозвиненості в пацієнтів із хворобою Дауна [7, 8]. Усі ці стани, як і значна кількість інших, можуть супроводжуватись одночасним використанням НПЗЗ. Однак питання, як буде змінюватись токсичність цього класу лікарських засобів, зокрема, пошкоджуюча дія на ШКТ за умов дефіциту та надлишку гідроген сульфід, залишається відкритим.

Мета дослідження – оцінити зміни пошкоджуючої дії диклофенаку натрію на шлунково-кишковий тракт у щурів на тлі введення донора гідроген сульфід ($NaHS$) та інгібітора його синтезу (пропаргілгліцину).

Матеріали та методи. Дослідження проведено на самцях білих нелінійних щурів масою 180–210 г. Тварин утримували на стандартному раціоні з доступом до води *ad libitum*, при температурі $22 \pm 5^\circ C$ із 12-годинним освітленням в умовах віварію Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова. Усі експерименти проведені відповідно до «Положення

про використання тварин в біомедичних дослідках». Надлишок та дефіцит гідроген сульфід у тварин створювали внутрішньоочеревинним введенням донору гідроген сульфід – NaHS (Sigma, США) у дозі 1,5 мг/кг на фосфатному буфері (pH 7,4), а також специфічного інгібітора синтезу цього газотрансмітера, пропаргілгліцину (Sigma, США), у дозі 50 мг/кг протягом 5 днів. Уміст гідроген сульфід в сироватці крові визначали спектрофотометричним методом за реакцією між сульфід аніоном та парафенілєндіамін-гідрохлоридом у кислому середовищі в присутності іонів заліза (III) [10].

Для оцінки гастротоксичної дії досліджуваного НПЗЗ піддослідних тварин було розподілено на декілька груп. І група – інтактний контроль (отримували еквівалентну кількість розчинників). Тваринам II групи внутрішньошлунково вводили диклофенак натрію («Вольтарен», Novartis) 8 мг/кг на 1 % крохмальному гелі протягом 5 днів. Щурам III та IV груп цей НПЗЗ вводили на тлі надлишку та дефіциту гідроген сульфід відповідно. Тварини V та VI груп із надлишком та дефіцитом H_2S були додатковими контролями. В окремій частині дослідів диклофенак натрію у вищезазначеному режимі вводили через 0,5 год після інтрагастрального введення натрію гідроген сульфід (4 мг/кг). Досліджувані речовини вводили в умовно терапевтичних дозах (1/20 від LD_{50}), запозичених із літератури, або розрахованих попередньо [11, 12]. Евтаназію тварин здійснювали шляхом цервікальної дислокації згідно із вимогами біоетики. Шлунки вилучали, розрізали за великою кривизною, промивали, проводили візуальне дослідження СОШ, оцінювали кількість виразок, важкість виразкоутворення та виразковий індекс (ВІ), який вираховували за формулою [Яковлева, 2001 р.]. Визначення секреторної функції шлунка проводили за методом [11]. Піддослідних щурів витримували 48 год на голодній дієті без обмеження пиття води. Через 1 год після останнього внутрішньошлункового введення тваринам досліджуваних сполук та їхніх композицій, щурів наркотизували внутрішньоочеревинним

введенням нембуталу (40 мг/кг), розтинали черевну порожнину, накладали лігатуру на пілоричний сфінктер шлунка, а через 4 год накладали лігатуру на кардіальний сфінктер. Тварин виводили з експерименту за умов евтаназії, забирали шлунковий вміст та вимірювали об'єм шлункового соку, а також загальну кислотність шляхом титрування шлункового соку 0,1N розчином гідроксиду натрію в присутності фенолфталейну. Вивчення евакуаторної функції шлунка та моторної функції кишечника визначали за допомогою методу «міток» [11]. Тварин протягом 24 год витримували на голодній дієті без обмеження питної води. Усім тваринам внутрішньошлунково вводили по 0,5 мл контрастної маси (10 % суспензію активованого вугілля в 1 % крохмальному гелі). Через 40 хв тварин виводили з експерименту за умов евтаназії нембуталом. Потім у дослідних та контрольних тварин вимірювали абсолютну довжину кишечника та шлях, пройдений контрастною масою по ньому (у см). Довжину кишечника, пройденого контрастною масою, відносно абсолютної довжини останнього виражали у відсотках.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою методів варіаційного та персентильного аналізу з використанням пакета прикладних програм Statistica 5.5, EXCEL for Windows 03. Кореляційний аналіз проводили з вирахуванням коефіцієнта кореляції (r) Пірсона. Вірогідність отриманих результатів оцінювали, використовуючи t-критерій Стюдента та коефіцієнт Фішера. Для всіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності при рівнях значущості $< 0,05$.

Результати та їх обговорення. Дослідження засвідчили, що в інтактних тварин середній вміст гідроген сульфід у сироватці крові становив $79,75 \pm 2,37$ мкмоль/л (табл.1). 5-разове щоденне внутрішньоочеревинне введення донору гідроген сульфід – натрію гідросульфід (NaHS) в розрахованій нами умовно терапевтичній дозі, яка становила 1/20 від LD_{50} [12], призводило до статистично вірогідного (на 13,8%) зростання рівня цього газотрансмітера в сироватці крові, а введення пропар-

гілгліцину (ППГ), селективного інгібітора синтеза ключового ензима-продукта H_2S – цистатионін-гама-ліази (ЦГЛ), – навпаки, вірогідно (на 23,9%) зменшувало його вміст у крові тварин. Тобто, введення $NaHS$ та ППГ створювало, відповідно, надлишок та дефіцит гідроген сульфід у сироватці крові. Внутрішньошлункове введення диклофенаку натрію (група II) викликало виразні макро- та мікроскопічні зміни СОШ, при цьому в сироватці крові реєструвалося вірогідне зменшення вмісту гідроген сульфід (на 18,4 %). У щурів із низьким рівнем H_2S у сироватці крові (група IV) гастротоксичність диклофенаку натрію проявлялася значно сильніше, ніж у тварин II групи: кількість виразок і важкість виразкоутворення були відповідно на 70,8 та 30,8 % більшими, ніж у групі II, а ВІ перевищував аналогічний показник групи порівняння в 1,6 разу. У групі III, тваринам якої диклофенак натрію вводили на тлі підвищеного рівня H_2S , показники враження СОШ були вірогідно меншими: кількість виразок і важкість ураження на 53,5 і 23,1 % менше, а ВІ у 1,8 разу меншим, ніж у групі II (табл. 1).

Персентильний і кореляційний аналізи також показали наявність чіткого зв'язку між ступенем виразності пошкоджуючої дії диклофенаку на СОШ та

рівнем гідроген сульфід у сироватці крові та підтвердили наявність гастропротекторного ефекту донора H_2S за даних умов експерименту (табл. 2). Необхідно зазначити, що кількість виразок і важкість виразкоутворення, які викликав диклофенак, негативно корелювали з рівнем гідроген сульфід. Уведення цього НПЗЗ щурам групи I, де рівень H_2S був найнижчим, викликало найвиразніше ушкодження СОШ. Тоді як в групі II, де рівень H_2S був на 32,3 % нижчим, кількість виразок і важкість ураження зменшувалися на 42,9 та 37,3 % відповідно, а в групі III, де вміст цього газотрансміттера був найвищим, ці показники були на 85,6 і 55,5 % нижчими, ніж у групі I.

Результати переконливо засвідчили, що рівень гідроген сульфід у організмі суттєво впливає на виразність ульцерогенної дії диклофенаку натрію. Його вміст негативно корелює з ступенем пошкоджень СОШ, спричинених нестероїдним антифлогістиком. При цьому створення надлишку гідроген сульфід шляхом 5-денного внутрішньоочеревинного введення його донору – $NaHS$ – зменшувало, тоді як введення специфічного інгібітора його синтезу – пропаргілгліцину, що призводить до дефіциту H_2S в організмі, навпаки, збільшувало виразність гастротоксичної дії досліджуваного НПЗЗ.

Таблиця 1

Прояви гастротоксичності диклофенаку натрію за умов введення щурам натрію гідроген сульфід та пропаргілгліцину ($M \pm m$, $n = 10$)

Група	Умови досліджу	Уміст H_2S у сироватці крові, мкмоль/л	Показник гастротоксичності		
			Кількість виразок	Важкість ураження, бали	Виразковий індекс
I	Контроль	$79,75 \pm 2,37$	0	0	0
II	Диклофенак натрію	$65,10 \pm 6,66^{\#}$	$12,70 \pm 0,61$	$1,30 \pm 0,09$	$2,80 \pm 0,33^*$
III	Диклофенак натрію + $NaHS$	$86,90 \pm 5,34^*$	$5,90 \pm 0,59^*$	$1,00 \pm 0,12^*$	$1,53 \pm 0,19^*$
IV	Диклофенак натрію + пропаргілгліцин	$48,70 \pm 3,37^{*\#}$	$21,70 \pm 2,33^*$	$1,70 \pm 0,20$	$4,50 \pm 0,17^*$
V	$NaHS$	$90,30 \pm 4,37^{\#}$	0	0	0
VI	Пропаргілгліцин	$60,70 \pm 5,75^{\#}$	0	0	0

Примітка. $^{\#}$ Статистично значущі відмінності відносно контролю ($p \leq 0,05$),

* статистично значущі відмінності відносно диклофенаку ($p \leq 0,05$).

Залежність проявів диклофенак-індукованої гастропатії від вмісту H_2S у сироватці крові щурів ($M \pm m$, $n = 10$)

Показник	Уміст H_2S у сироватці крові, мкмоль/л			Кореляції з рівнем H_2S у сироватці крові
	1	2	3	
	0–25 персентиль, $n = 8$	25–75 персентиль, $n = 14$	75–100 персентиль, $n = 8$	
	43,30 $\pm$ 1,70	57,30 $\pm$ 1,18*	72,00 $\pm$ 2,36**	
Кількість виразок шлунка	23,50 $\pm$ 4,23	13,40 $\pm$ 1,53*	3,38 $\pm$ 1,03**	- 0,64*
Важкість ураження шлунка	2,36 $\pm$ 0,48	1,48 $\pm$ 0,03	1,05 $\pm$ 0,19**	- 0,58*

Примітка. *Статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно 0–25 персентилья;

**статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно 25–75 персентилья.

Отримані результати спонукали нас до перевірки можливої гастропротективної дії H_2S за інших умов, а саме – за інтрагастрального введення донору $NaHS$ разом із диклофенаком натрію. Результати цього експерименту представлено в таблиці 3. Виявилось, що гідроген сульфід при внутрішньошлунковому введенні статистично вірогідно зменшував прояви ушкоджуючого впливу диклофенаку на СОШ. Так, кількість виразок і важкість виразкування зменшувалися на 47,5 та 28,5 % відповідно, а показник виразкового індексу був меншим у 1,5 разу порівняно з НПЗЗ.

При вивченні фармакологічних речовин, які можуть виявляти противиразкову дію, необхідним є вивчення впливу на секреторну та рухову активність травного каналу [11]. Тому на наступному етапі визначили, як будуть змінюватись ці показники під впливом досліджуваних сполук та їхніх комбінацій. Результати дослідження змін кислотоут-

ворюючої функції шлунка показано в таблиці 4. Не було виявлено вірогідних змін загального об'єму шлункового соку в жодній із груп тварин. Аналізуючи зміни загальної кислотності шлункового соку, можна відмітити, що 5-денне інтрагастральне введення донору гідроген сульфід показало тенденцію до зниження загальної кислотності (на 11,1 %), що узгоджується з даними літератури, які свідчать про дозозалежний характер антисекреторної дії H_2S через зниження виділення соляної кислоти, і одночасно, антацидну активність внаслідок збільшення продукції бікарбонатів [13, 14]. Натомість диклофенак натрію незначно підвищував загальну кислотність шлункового соку, вочевидь, внаслідок свого «кислотного» походження ($pH = 4,0$) та парасимпатикоміметичної дії на ШКТ [2]. Комплексне застосування диклофенаку натрію та гідроген сульфід не впливає на кислотність секрету шлунка (досліджуваний показник відрізняється від контролю на 6,9 %).

Таблиця 3

Прояви гастротоксичності за дії диклофенаку натрію, натрію гідроген сульфід та їхнього комплексного внутрішньошлункового застосування ($M \pm m$, $n = 10$)

Група	Умови досліджу	Показник гастротоксичності		
		Кількість виразок	Важкість ураження, бали	Виразковий індекс
I	Контроль	0	0	0
II	Диклофенак натрію (8 мг/кг в/шл)	14,50 $\pm$ 1,38	1,40 $\pm$ 0,08	3,40 $\pm$ 0,31
III	$NaHS$ (4 мг/кг в/шл)	0,10 $\pm$ 0,10*	0,10 $\pm$ 0,10*	0,01 $\pm$ 0,01*
IV	Диклофенак натрію (8 мг/кг в/шл) + $NaHS$ (4 мг/кг в/шл)	7,60 $\pm$ 1,08*	1,00 $\pm$ 0,12*	1,90 $\pm$ 0,25*

Примітка. *Статистично вірогідні відмінності відносно диклофенаку ($p \leq 0,05$).

Дослідження змін моторно-евакуаторної функції травного каналу (табл. 5) показало, що диклофенаку натрію при-таманна здатність статистично вірогідно збільшувати моторику ШКТ (на 14,9 %) порівняно з контролем. Це співставляється з даними літератури та є одним із симптомів НПЗЗ-ентеропатії й клінічно підтвердженим діарейним синдромом при лікуванні НПЗЗ. Вочевидь це відбувається за рахунок стимуляції парасимпатичної нервової системи та активації М-холінорецепторів, що призводить до підвищення моторики та секреції ШКТ [2, 15]. На противагу цьому, натрій гідроген сульфід, який вводили щурам окремо, викликав (на 25,7 %) зниження моторики кишечника піддослідних тварин. У літературі також описана пряма дозозалежна міорелаксуюча дія H_2S на рухову активність кишечника, а саме – інгібування пропульсивної активності та підвищення амплітуди перистальтичних хвиль. Інгібуючий ефект на пропульсивну активність реалізується за рахунок гіперполяризації гладеньком’язових клітин та пригнічення відповіді на холінергічні стимули з ЦНС. Механізми, що залучені до цього

релаксуючого ефекту, до кінця не з’ясовані й можуть включати активацію фосфатази легких ланцюгів міозину, АТФ-чутливих калієвих кальцій-активованих каналів низької провідності, а також активацію натрієвих каналів [16]. У наших дослідженнях було встановлено, що комплексне 5-денне введення щурам натрію гідроген сульфід у та диклофенаку в умовно терапевтичних дозах практично нівелювало зміни моторної функції кишечника тварин, які виникали під впливом монотерапії досліджуваними сполуками: довжина кишечника, пройдена контрастною речовиною, у цій групі тварин практично не відрізнялася від такої групи контролю.

Отже, нами були отримані дані, які доводять виразну гастропротективну дію гідроген сульфід. Захисна дія цього газотрансмітера може реалізовуватися через різні механізми: потужну вазодилатуючу та міорелаксантну дію, антисекреторні властивості, зменшення експресії або вивільнення проінфламаторних цитокінів, підвищення синтезу простагландинів, антиоксидантний та антиапоптичний ефекти, здатність стимулювати репаративні процеси та ін. [8, 14, 17, 18].

Таблиця 4

Секреторна функцію шлунка за дії диклофенаку натрію, натрію гідроген сульфід та їхнього комплексного внутрішньошлункового застосування ($M \pm m$, $n = 10$)

Експериментальна група ($n = 10$)	Секреція шлункового соку, мл/100 г маси тварини	Загальна кислотність, мл 0,1н NaOH/100 мл шлункового соку
Контроль	$2,00 \pm 0,18$	$127,2 \pm 14,7$
Диклофенак натрію (8 мг/кг)	$2,18 \pm 0,15$	$142,4 \pm 15,0$
NaHS (4 мг/кг)	$2,26 \pm 0,14$	$113,10 \pm 6,90$
Диклофенак натрію + NaHS	$2,13 \pm 0,11$	$135,10 \pm 6,74$

Таблиця 5

Моторно-евакуаторна функція шлунково-кишкового тракту за дії диклофенаку натрію, натрію гідроген сульфід та їхнього комплексного внутрішньошлункового застосування ($M \pm m$, $n = 10$)

Експериментальна група ($n=10$)	Загальна довжина кишечника, см	Довжина кишечника, пройдена контрастною речовиною	
		Абсолютне значення, см	%
Контроль	$125,10 \pm 5,34$	$79,80 \pm 3,59$	$64,80 \pm 4,09$
Диклофенак натрію (8 мг/кг)	$123,70 \pm 3,99$	$91,70 \pm 2,19^*$	$74,40 \pm 2,03^*$
NaHS (4 мг/кг)	$126,30 \pm 7,43$	$59,30 \pm 5,24^{*#}$	$47,60 \pm 4,97^{*#}$
Диклофенак натрію + NaHS	$125,60 \pm 2,16$	$75,30 \pm 3,40^{\#}$	$60,10 \pm 2,70^{\#}$

Примітка.*Статистично вірогідні відмінності відносно контролю ($p \leq 0,05$),

[#]статистично вірогідні відмінності відносно диклофенаку ($p \leq 0,05$).

Висновок

Рівень насиченості організму гідроген сульфідом суттєво модулює ступінь гастротоксичності диклофенаку натрію: дефіцит H_2S – збільшує, тоді як його надлишок, навпаки, зменшує пошкоджуючий вплив досліджуваного НПЗЗ на шлунок. Внутрішньошлункове введення донору гідроген сульфід у протязі 5 днів разом із диклофенаком натрію в умовно терапевтичних дозах (4 мг/кг та 8 мг/кг відповідно) практично не впливало на секреторну й моторну функції травного тракту щурів

та викликало вірогідно менші макроскопічні зміни в СОШ порівняно з ефектом нестероїдного антифлогістика.

Подальші поглиблені дослідження впливу різного рівня насиченості організму гідроген сульфідом на виразність фармакологічних ефектів та токсичність нестероїдних протизапальних засобів є пріоритетним напрямом для покращання персоналізованої фармакотерапії НПЗЗ, а також стануть підґрунтям для створення нових комбінованих засобів цього фармакологічного класу.

1. Свінціцький А. С. Гастропатії, зумовлені нестероїдними протизапальними препаратами: сучасний погляд на проблему / А. С. Свінціцький // «Новости медицины и фармации». Гастроэнтерология. – (239) 2008. – [Електронний ресурс <http://www.mif-ua.com/archive/article/4842>].
2. Викторов А. П. Контроль за безопасностью нестероидных противовоспалительных препаратов при медицинском применении / А. П. Викторов / Therpia. Український медичний вісник. – 2009. – № 3 (35). [Електронний ресурс <http://therpia.ua/>].
3. Кетова Г. Г. НПВП-ассоциированная патология верхних отделов ЖКТ: факторы риска, тактика ведения пациентов. Взгляд клинического фармаколога / Г. Г. Кетова, Ю. В. Астапенкова // РМЖ. – 2014, № 18. – С. 1326–1330.
4. Исаков В. А. Гастропатия, связанная с приемом нестероидных противовоспалительных препаратов: патогенез, лечение и профилактика / В. А. Исаков // Клиническая фармакология и терапия. – 2005. – № 14. – С. 85–91.
5. Ткач С. М. Современные подходы к профилактике и лечению НПВП-гастропатий / С. М. Ткач // Гастроэнтерология. – 2013. – № 4 (50). – С. 95–102.
6. Li L. Hydrogen sulphide-a novel mediator of inflammation? / Li L., Bhatia M., Moore P.K. // Curr. Opin. Pharmacol. – 2006. – V. 6, – № 2. – P. 125–129.
7. Łowicka E. Hydrogen sulfide (H_2S) – the third gas of interest for pharmacologists / Łowicka E., Bełtowski J. // Pharmacological reports. – 2007. – V. 59. – P. 4–24.
8. Synthesis and Biological 'Effects of Hydrogen Sulfide (H_2S): Development of H_2S -Releasing Drugs as Pharmaceuticals / G. Caliendo, G. Cirino, V. Santagada [et al.] // Journal of Medicinal Chemistry. – 2010. – V. 53, № 17. – P. 6275–6286.
9. Волошук Н. І. Гендерні відмінності в утворенні гідроген сульфід та реалізації його вазорелаксуючого ефекту за умов введення диклофенаку натрію та геністеїну у щурів / Н. І. Волошук // Журнал Академії медичних наук України. – 2010. – Т. 16, № 1. – С. 138–48.
10. Заїчко Н. В., Пентюк Н. О., Мельник А. В. [Пат. України на корисну модель №52136 У МПК (2009) G01N 33/68. Спосіб визначення вмісту гідроген сульфід в плазмі крові / заявник та патентовласник НДІ реабілітації інвалідів ВНМУ ім. М. І. Пирогова. – № у 201003158; заявл. 19.03.2010; опубл. 10.08.2010; Бюл. № 15. – 2 с.].
11. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації / За ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – К. : ВД «Авіцена», 2001. – С. 292–301.
12. Волошук Н. І. Гостра токсичність гідроген сульфід та його вплив на протизапальний ефект диклофенаку в експерименті / Н. І. Волошук, І. В. Таран // Медична хімія. – 2011. – Т. 13, № 4 (49). – С. 88–91.
13. Stimulation of duodenal HCO_3^- secretion by hydrogen sulphide in rats: Relation to prostaglandins, nitric oxide and sensory neurons / F. Ise, H. Takasuka, S. Hayashi [et al.] // Acta Physiologica. – 2011. – V. 201 (1). – P. 117–126.
14. Antisecretory effect of hydrogen sulfide on gastric acid secretion and the involvement of nitric oxide / S. A. Mard, H. Askari, N. Niloofar [et al.] // Biomed. Res. Int. [Published online. – 2014. doi: 10.1155/2014/480921].
15. Абдулганиева Д. И. Влияние нестероидных противовоспалительных препаратов на слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта: взгляд клинициста / Д. И. Абдулганиева, Л. И. Мясоутова // Практическая медицина. Ревматология. – 2008, № 1 [Електронний ресурс <http://pmarchive.ru/>].
16. Effects of hydrogen sulphide on motility patterns in the rat colon / V. Gill, S. P. Parsons, D. Gallego [et al.] // British Journal of Pharmacology. – 2013. – V. 169. – P. 34–50.
17. Kimura Y. Hydrogen sulfide increases glutathione production and suppresses oxidative stress in mitochondria / Kimura Y., Goto Y., Kimura H. // Antioxid. Redox Signal. – 2010. – V. 12, № 1. – P. 1–13.
18. Reactivity of hydrogen sulfide with peroxynitrite and other oxidants of biological interest / Carballal S., Trujillo M., Cuevasanta E. [et al.] // Free Radical Biology & Medicine. – 2011. – V. 50. – P. 196–205.

Гастротоксична дія диклофенаку натрію на тлі дефіциту та надлишку гідроген сульфід у есперименті

Нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) – ефективні симптоматичні препарати для купірування болю, лихоманки та запалення, тривалий прийом яких часто супроводжується розвитком побічних реакцій, у тому числі гастропатій. Важливу роль у забезпеченні цитопротекції шлунка відіграють фізіологічні месенджери, одним з яких є гідроген сульфід (H_2S), який забезпечує захисні властивості СОШ. Депримиючий вплив на рівень гідроген сульфід є одним із механізмів протизапальної дії НПЗЗ, а метаболічні зміни, які при цьому виникають, залучені до патогенезу НПЗЗ-гастропатій.

Мета дослідження – оцінити зміни пошкоджуючої дії диклофенаку натрію на ШКТ у щурів на тлі введення донору гідроген сульфід ($NaHS$) та інгібітора його синтезу (пропаргилгліцину).

Дослідження проведені на самцях білих нелінійних щурів масою 180–210 г. Надлишок і дефіцит H_2S у тварин створювали внутрішньоочеревинним введенням $NaHS$ (1,5 мг/кг) та пропаргилгліцину (50 мг/кг) відповідно протягом 5 днів. Уміст H_2S у сироватці крові визначали спектрофотометричним методом. У частині дослідів диклофенак натрію у вищезазначеному режимі вводили через 0,5 год після внутрішньошлункового введення $NaHS$ (4 мг/кг). Досліджувані речовини вводили в умовно терапевтичних дозах (1/20 від LD_{50}). Було оцінено стан слизової оболонки шлунка, кислото-утворюючу функцію шлунка та моторну функцію кишечника. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою стандартних методів біометрії з використанням пакета прикладних програм Statistica 5.5.

Створення дефіциту H_2S у щурів підвищувало гастротоксичність диклофенаку натрію: кількість виразок, важкість виразкоутворення в щурів цієї групи були на 70,8 та 30,8 % більшими, ніж у тварин з диклофенаком, а у тварин, які отримували донор гідроген сульфід внутрішньоочеревинно на 53,5 та 23,1 % меншими. Персентильний та кореляційний аналіз показав наявність чіткого зв'язку між ступенем виразності пошкоджуючої дії диклофенаку на СОШ та рівнем гідроген сульфід у сироватці крові та підтвердив наявність гастропротекторного ефекту донора H_2S за даних умов експерименту.

H_2S при внутрішньошлунковому введенні також статистично вірогідно зменшував ушкоджуючий вплив диклофенаку на СОШ: кількість виразок і важкість виразкування зменшувалися на 47,5 та 28,5 % відповідно, а виразковий індекс ставав меншим у 1,5 разу порівняно з монотерапією НПЗЗ. Водночас 5-денне внутрішньошлункове введення донору H_2S та диклофенаку практично не змінювали кислотність секрету шлунка та моторну функцію кишечника тварин.

Отже, рівень насиченості організму H_2S суттєво модулює ступінь гастротоксичності диклофенаку натрію: дефіцит H_2S збільшує пошкоджуючий вплив досліджуваного НПЗЗ на шлунок, тоді як надлишок його, навпаки, зменшує. Внутрішньошлункове введення донору гідроген сульфід протягом 5 днів разом із диклофенаком натрію в умовно терапевтичних дозах (4 мг/кг та 8 мг/кг відповідно) практично не впливало на секреторну та моторну функції травного тракту щурів та викликало вірогідно менші макроскопічні зміни в СОШ порівняно з ефектом нестероїдного антифлогістика.

Ключові слова: гастротоксичність, диклофенак натрію, гідроген сульфід, пропаргилгліцин, секреторно-моторна функція ШКТ

Гастротоксическое действие диклофенака натрия на фоне дефицита и избытка гидроген сульфида в эксперименте

Нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) – эффективные симптоматические препараты для купирования боли, лихорадки и воспаления, длительный прием которых часто сопровождается развитием побочных реакций, в том числе гастропатией. Важную роль в обеспечении цитопротекции желудка играют физиологические мессенжеры, одним из которых является гидроген сульфид (сероводород, H_2S), обеспечивающий защитные свойства СОЖ. Депримирующее влияние на уровень гидроген сульфида является одним из механизмов противовоспалительного действия НПВП, а метаболические изменения, которые при этом возникают, вовлечены в патогенез НПВС-гастропатии.

Цель исследования – оценить изменения повреждающего действия диклофенака натрия на ЖКТ у крыс на фоне введения донора гидроген сульфида ($NaHS$) и ингибитора его синтеза (пропаргилглицина).

Исследования проведены на самцах белых нелинейных крыс массой 180–210 г. Избыток и дефицит H_2S у животных создавали внутрибрюшинным введением $NaHS$ (1,5 мг / кг) и пропаргилглицина (50 мг/кг) соответственно в течение 5 дней. Содержание H_2S в сыворотке крови определяли спектрофотометрическим методом. В части опытов диклофенак натрия в вышеупомянутом режиме вводили через 0,5 ч после внутрижелудочного введения $NaHS$ (4 мг/кг). Исследуемые вещества вводили в условно терапевтических дозах (1/20 от LD_{50}). Были оценены состояние слизистой оболочки желудка, кислотно-образующая функция желудка и моторика кишечника. Статистическую обработку результатов проводили с помощью стандартных методов биометрии с использованием пакета прикладных программ Statistica 5.5.

Создание дефицита H_2S у крыс повышало гастротоксичность диклофенака натрия: количество язв, тяжесть язвообразования у крыс этой группы были на 70,8 и 30,8 % больше, чем у животных с

диклофенаком, а у животных с избытком H_2S – на 53,5 и 23,1 % меньше. Персентильный и корреляционный анализы показали наличие четкой связи между степенью выраженности повреждающего действия диклофенака на СОШ и уровнем гидроген сульфида в сыворотке крови и подтвердили наличие гастропротекторного эффекта донора H_2S в данных условиях эксперимента.

H_2S при внутрижелудочном введении также статистически достоверно уменьшал повреждающее влияние диклофенака на СОШ: численность и тяжесть изъязвлений уменьшались на 47,5 и 28,5 % соответственно, а язвенный индекс стал в 1,5 раза меньше по сравнению с монотерапией НПВС. 5-дневное внутрижелудочное введение донора H_2S и диклофенака практически не меняли кислотность желудочного сока и моторику кишечника животных.

Таким образом, уровень насыщенности организма H_2S существенно модулирует степень гастротоксичности диклофенака натрия: дефицит H_2S увеличивает повреждающее влияние исследуемого НПВС на желудок, тогда как избыток его, наоборот, уменьшает. Внутрижелудочное введение донора гидроген сульфида в течение 5 дней вместе с диклофенаком натрия в условно терапевтических дозах (4 мг/кг и 8 мг/кг соответственно) практически не влияло на секреторную и моторно-эвакуаторную функции пищеварительного тракта крыс и вызвало достоверно меньше макроскопических изменений в СОШ по сравнению с монотерапией нестероидным антифлогистиком.

Ключевые слова: гастротоксичность, диклофенак натрия, гидроген сульфид, пропаргилглицин, секреторно-моторная функция ЖКТ

N. I. Voloshchuk, I. V. Taran

Gastrotoxic effect of diclofenac sodium under deficiency and excess of hydrogen sulfide in experiment

Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are effective symptomatic drugs to relieve pain, fever and inflammation. Their prolonged using is often accompanied by the development of adverse reactions, including gastropathy. Physiological messengers play important role in gastric cytoprotection. One of them is hydrogen sulfide (H_2S), which provides protective properties of the gastric mucosa. Decreasing of hydrogen sulfide level is one of the mechanisms of anti-inflammatory action of NSAIDs. Metabolic changes that occur at the same time involved in the pathogenesis of NSAID-gastropathy.

The aim of the study was to evaluate changes in the damaging effect of diclofenac sodium on the gastrointestinal tract in rats against the background of the introduction of donor hydrogen sulfide (NaHS) and its synthesis inhibitor (propargylglycine).

The study was carried out on male white nonlinear rats weighing 180–210 g. Excess and deficiency of H_2S in animals were created by intraperitoneal introduction of NaHS (1,5 mg/kg) and propargylglycine (50 mg/kg), respectively, for 5 days. H_2S content in the serum was determined by spectrophotometric method. Animals of group I served as control group, the rats in group II were administered diclofenac sodium (8 mg/kg) for 5 days into stomach. The NSAIDs were administered to the rats of III and IV groups on a background of excess and deficiency of hydrogen sulfide, respectively. Animals of the V and VI groups with excess and deficiency of H_2S served as an additional control. In separate experiments diclofenac sodium in the abovementioned mode was injected in 0.5 hours after intragastric administration of sodium H_2S (4 mg/kg). Test substances were administered in conventional therapeutic doses (1/20 of LD_{50}). The state of the gastric mucosa, changes in acid-forming function of the stomach and intestinal motor function were assessed. Statistical analysis of the results was performed by standard methods using biometrics application package Statistica 5.5.

H_2S deficiency in rats increased the gastrotoxicity of diclofenac sodium: plurality and severity of ulceration in rats of IV and V group were 70,8 and 30,8 % higher than in group II and III animals (53,5 and 23,1 %, respectively). Percentile and correlation analysis showed a clear connection between the degree of severity of the damaging effect of diclofenac on the gastric mucosa and the level of hydrogen sulfide in the serum and confirmed the presence of H_2S donor gastroprotective effect under these experimental conditions.

H_2S at intragastric administration also reduced the damaging effect of diclofenac on the gastric mucosa statistically significantly: multiplicity and severity of ulceration decreased in 47,5 and 28,5 %, respectively, and ulcer index became smaller in 1.5 times in comparison with NSAID monotherapy. However, 5-day intragastric administration of H_2S donor and diclofenac practically did not change the acidity of gastric secretion and intestine motor function of animals.

The level of saturation of the organism with H_2S significantly modulates the degree of gastrotoxicity of diclofenac sodium: deficiency of H_2S increases, while the excess of it, on the contrary, reduces the damaging effect of the studied NSAID on the stomach. Intragastric administration of hydrogen sulfide donor for 5 days with diclofenac sodium in conventionally therapeutic doses (4 mg/kg and 8 mg/kg, respectively) practically had no effect on the secretory and motor functions of the rat's digestive tract and caused significantly less macroscopic changes in the gastric mucosa compared to monotherapy with non-steroidal antiphlogistic.

Key words: gastrotoxicity, diclofenac sodium, hydrogen sulfide, propargylglycine, secretion and motorfunction of the gastrointestinal tract

Надійшла: 12.09.2014 р.

Контактна особа: Волощук Наталія Іванівна, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, буд. 56, вул. Пирогова, м. Вінниця, 21018. Тел. +38 0 67 307 71 34. Електронна пошта: natkafarm@yandex.ru

О. В. Должикова, Л. М. Малоштан

Гістоморфологічні дослідження впливу нових супозиторіїв вагінальних «Меланізол» на стан піхви щурів на тлі експериментального вагініту

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: супозиторії вагінальні, метронідазол, олія чайного дерева, експериментальний вагініт

Останніми роками відмічено підвищення частоти захворювань статевих органів у жінок на 13 % у загальній популяції жінок репродуктивного періоду. У структурі гінекологічних захворювань запальні захворювання статевих органів у жінок займають перше місце в усьому світі [1–4] і складають 70 % від числа всіх захворювань [5].

Актуальність проблеми лікування запальних захворювань статевих органів у жінок визначається їхньою високою частотою, схильністю до тривалого перебігу та розвитком полісистемних розладів. Відзначається збільшення частоти малосимптомних та безсимптомних запальних захворювань піхви, спричинених асоціаціями різних мікроорганізмів [1]. Несвочасне та неадекватне лікування захворювань статевих органів у жінок призводить до хронізації процесу, спричиняє безпліддя, позаматкову вагітність, тазовий біль [6].

Незважаючи на вдосконалення методів лікування запальних захворювань жіночих статевих органів, позитивний ефект досягається лише в половини пацієнтів і носить тимчасовий характер, частота рецидивів запального процесу становить 20–40 % [7]. Таким чином, актуальним є пошук нових лікарських засобів, які будуть поєднувати високу ефективність та низький рівень негативних проявів. На кафедрі ТЛ НФаУ під керівництвом професора Т. Г. Ярних [8] створено нові супозиторії вагінальні «Меланізол» (основні діючі речовини: метронідазол та олія чайного дерева) для лікування вагінітів.

Мета дослідження – вивчення фармакологічної активності (протизапальної та репаративної) нових супозиторіїв вагінальних «Меланізол».

Матеріали та методи. Експериментальні дослідження проводили на білих нелінійних щурах-самцях вагою 180–220 г, яких відбирали до експерименту в одній фазі естрального циклу. Вивчення фармакологічної активності супозиторіїв проводили на моделі експериментального вагініту, який викликали шляхом введення в піхву дослідних тварин тампона з 10 % розчином азотнокислого срібла та його експозицією протягом 5 хв [9]. З наступного дня після моделювання патології розпочинали лікування уведеним досліджуваним супозиторіїв «Меланізол», препаратів порівняння – супозиторіїв «Гравагін» («Сперко Україна», Україна) та «Супозиторіїв з олією обліпихи» («Монфарм», Україна), а також плацебо (основа супозиторіїв – суміш ПЕО 1500:400) 1 раз на добу.

Тварин попередньо розподіляли на шість експериментальних груп по 7 тварин у кожній: 1 група – інтактний контроль; 2 – контрольна патологія (позитивний контроль), 3 група – тварини, яким вводили досліджувані супозиторії вагінальні «Меланізол» у дозі 21 мг/кг, 4 група – тварини, яким вводили препарат порівняння супозиторії «Гравагін» у дозі 30 мг/кг, 5 група – тварини, яким вводили препарат порівняння «Супозиторії з олією обліпихи» у дозі 17,64 мг/кг; 6 група – тварини, яким вводили лише основу досліджуваних супозиторіїв – суміш ПЕО 1500:400 (плацебо: негативний контроль), з метою виключення можливого додаткового її впливу. Дози досліджуваних супозиторіїв та препарату порівняння розраховували за

загальноновживаними в експериментальній фармакології коефіцієнтами видової стійкості Ю. Р. Риболовлева [10].

Лікування досліджуваними препаратами та препаратами порівняння тривало 6 діб. Після закінчення лікування тварин виводили з експерименту в умовах евтаназії згідно із вимогами біоетики та оцінювали вплив супозиторіїв «Меланізол» на перебіг експериментального вагініту в порівнянні з референс-препаратами супозиторіями «Гравагін» та «Супозиторії з олією обліпіхи».

Для гістологічного дослідження брали дистальний відділ піхви – ділянку, на яку безпосередньо (як і на присінок піхви, який у щурів має глибоке розташування та відноситься до внутрішніх статевих органів самки [11]) чинив вплив розчин азотнокислого срібла. Епітелій, що вистеляє дистальний відділ піхви, має структуру багатошарового плеского зроговілого епітелію, у якому не відбуваються зміни, пов'язані з фазами естрального циклу, але виразність рогового шару варіює залежно від фази циклу [12]. Оскільки в піддослідних самиць макроскопічні зміни були обмежені саме цими ділянками, для дослідження брали дистальний відділ піхви. Підготовку зразків для гістологічного дослідження проводили загальноприйнятими методами [13]. Матеріал фіксували в 10 % розчині формаліну. Зразки зневоднювали в спиртах зростаючої міцності, занурювали в целоїдин-парафін. Мікротомовані зрізи фарбували гематоксиліном та еозином. Мікроскопічне вивчення препаратів проводили під мікроскопом Mikros 400. Мікрофотографування здійснювали цифровим фотоапаратом Nikon Col Pix4500. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 4GH за допомогою програми Nikon View 5. Морфологічні дослідження проведені на базі ЦНДЛ НФаУ за допомогою старшого наукового співробітника Ю. Б. Лар'яновської.

Результати та їх обговорення. Після розтину проводили макроскопічні дослідження піхв піддослідних тварин. У тварин інтактного контролю стінка піхви була тонкою, слизова оболонка – блідо-сірувато-рожевого кольору з характерними повздовжніми складками. У тварин групи контрольної патоло-

гії на ділянці піхви в місці безпосереднього контакту з тампоном, просякненим розчином азотнокислого срібла, було наявне потовщення стінки, на поверхні слизової спостерігали нашарування темного кольору, тісно спаяне з підлеглою тканиною. У тварин, лікованих досліджуваними супозиторіями, зміни стану піхви носили обмежений характер. У групі тварин, яким застосовували супозиторії «Меланізол», тільки в однієї самиці зміни стінки піхви були на рівні позитивного контролю.

Як показала оглядова мікроскопія, у інтактних щурів структурна організація слизової піхви відповідала нормі. Епітелій, що вистеляє її, був багатошаровим, плеским. У ньому розрізняли базальний, проміжний та роговий шари. Клітини базального та проміжного шару щільно прилягали одна до одної. Зроговілий шар на поверхні епітеліального пласта місцями помірно відшаровувався. Власна пластинка слизової (строма) мала ознаки доволі щільної сполучної тканини. Межа її з епітелієм нерівна, у вигляді сосочків, вона вдавилася в епітелій. Ближче до м'язового шару вона переходила в підслизову оболонку, яка мала вигляд пухкої волокнистої тканини, містила лімфоцити, фібробласти, нечисленні кровоносні судини. Підслизова оболонка безпосередньо переходила в м'язову оболонку.

На 6 день після інтравагінального введення 10 % розчину азотнокислого срібла в піхві всіх щурів цієї групи виявлено патологічні зміни. Стінка піхви значно потовщена, некротизована, на поверхні її видна темна плівка. У більшості тварин некроз зачіпав слизову, підслизову та м'язову оболонки, іноді обмежувався слизовою. При цьому підслизова оболонка була значно розширена, з виразною гострою запальною реакцією, паралітичним розширенням кровоносних судин, тромбозом, припиненням току крові в них. По краях полів некрозу, а доволі часто й на відстані від нього, епітелій розростався, потовщувався, у ньому в проміжному шарі видно збільшення кількості рядів шипуватих клітин, епідермальні вирости подовжені, гли-

боко проникали в строму (акантоз). Клітини базального та проміжного шару часто втрачали тісний зв'язок між собою, внаслідок чого між ними з'являлися щілини (акантоліз), у поверхневих відділах епітелію видно ознаки дискератозу – частина клітин приймала шароподібну форму, втрачаючи зв'язок між собою, перетворювалася в так звані круглі тіла (рис. 1). Колагенова строма – набрякла, часто з ознаками запалення.

Плацебо вагінальних супозиторіїв практично не чинив лікувальний ефект на стан слизової піхви після опіку. У 85,7 % тварин виявлено поширений як

за глибиною, так і за довжиною некроз, спостерігалася виразна щільна темна плівка на поверхні.

Після лікування вагінальними супозиторіями «Меланізол» у 43 % самок структурна організація слизової повністю збережена по всій дослідженій довжині піхви. Епітеліальний покрив слизової подекуди розширений, іноді з акантозними розростаннями, явищами дискератозу. У стромі видно ознаки запальної реакції (рис. 2).

Ще в 43 % тварин знайдені ділянки пошкодження слизової, але, на відміну від контрольної патології, вони значно менші за розміром. Некроз розповсю-

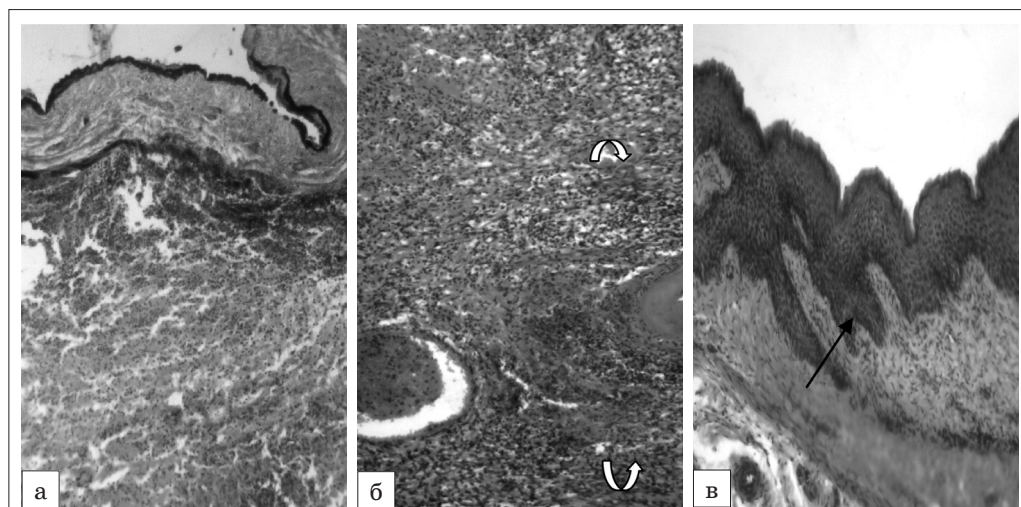


Рис. 1. Піхва щура після введення азотнокислого срібла: а – некроз усіх шарів стінки, на поверхні плівка з пігментом; б – підслизова (між скобками) з запальною реакцією, тромбозом кровоносних судин; в – акантоз епітелію (стрілка). Гематоксилін-еозин. $\times 100$.

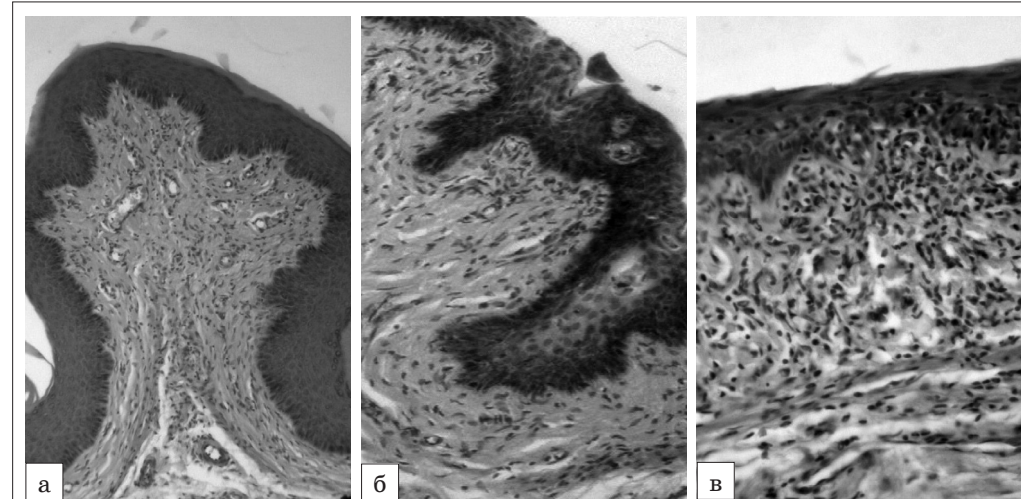


Рис. 2. Піхва щура після лікування супозиторіями «Меланізол»: а – слизова не ушкоджена ($\times 100$); б – помірний акантоз, дискератоз у епітелії ($\times 100$); в – помірна запальна реакція в стромі ($\times 200$). Гематоксилін-еозин.

джувався тільки на епітелій та безпосередньо прилеглі до нього ділянки строми слизової, змін у м'язовому шарі піхви не спостерігалось. Внутрішні шари слизової та підслизова оболонка заміщені незрілою грануляційною тканиною. Епітелій поза ділянками пошкодження місцями розширений, з ознаками дискератозу, у стромі – ознаки вогнищевої запальної реакції (рис. 3). У однієї самки цієї групи стан слизової піхви був на рівні контрольної патології.

Лікування експериментального вагініту препаратом «Супозиторії з олією обліпихи» (препарат порівняння) запобігало некрозу слизової в 66,6 % самок. Стан епітеліального покриву та строми слизової оболонки піхви одної з них відповідав нормі. У решти спостерігали різні за виразністю акантозні розрос-

тання покривного епітелію, ознаки акантолізу та дискератозу, запальну реакцію в слизовій, набухання колагенової строми (рис. 4), зміни в м'язовому шарі піхви не спостерігали.

На досліджуваних зразках було видно різні за розміром ділянки некрозу слизової, які розповсюджувалися на різну її глибину. Зверху ці ділянки були прикриті аналогічно контрольній патології темною плівкою. Спостерігали ріст епітелію під некротизованим та відшарованим шаром (рис. 5). Поза місцями пошкодження слизова мала ознаки запалення, епітелій потовщено, іноді з явищами акантозу, дискератозу.

Після аналогічного за схемою лікування вагініту, спричиненого азотно-кислим сріблом, препаратом порівняння вагінальними супозиторіями «Граватін»

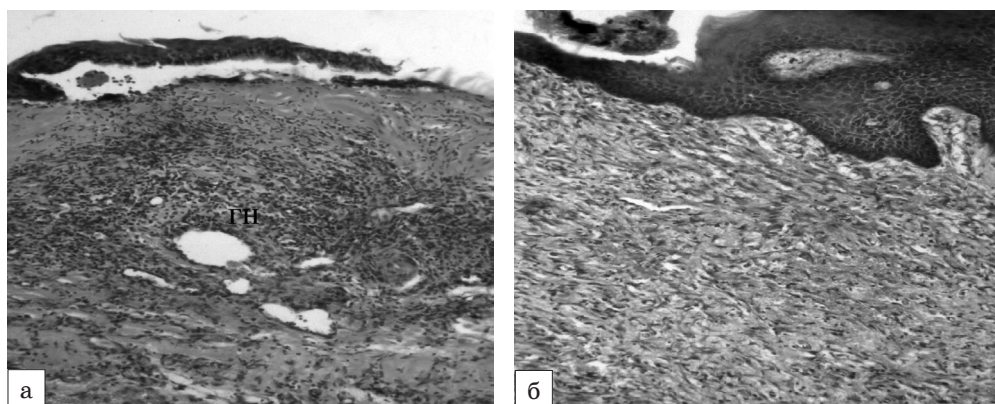


Рис. 3. Піхва щура після лікування вагінальними супозиторіями «Меланізол»: а – невелика ділянка пошкодження поверхневих відділів слизової, незріла грануляція (гн) у внутрішніх відділах слизової; б – розростання епітелію, помірна запальна реакція в стромі поза ділянкою пошкодження. Гематоксилін-еозин. $\times 100$.

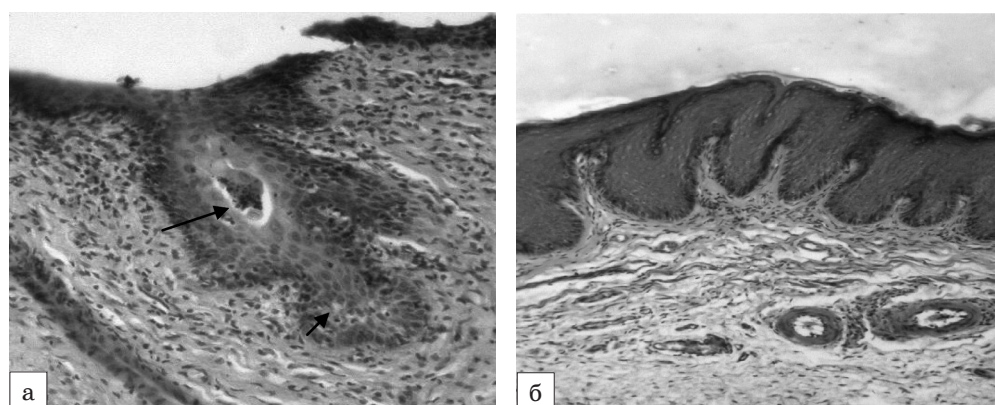


Рис. 4. Піхва щура після лікування препаратом «Супозиторії з олією обліпихи». Зміни в епітеліальному покриві слизової: дискератоз, акантоліз (а, стрілки), виразний акантоз (б). Гематоксилін-еозин. $\times 100$.

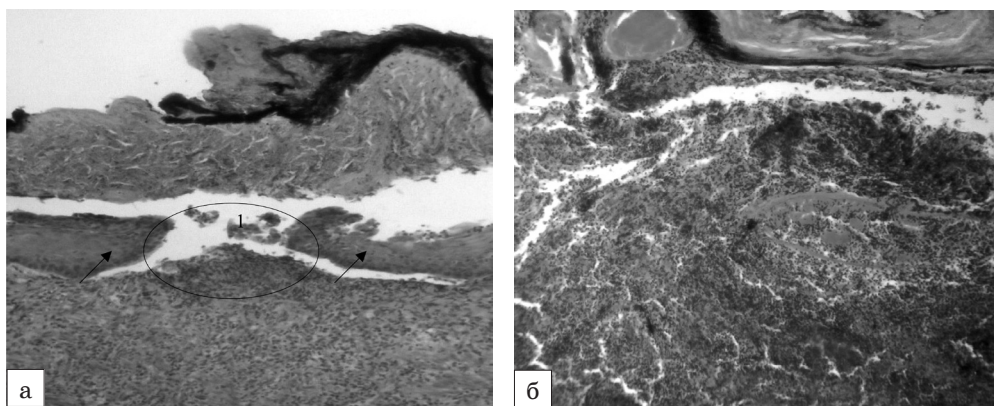


Рис. 5. Піхва щура після лікування препаратом «Супозиторії з олією обліпихи». Різні за розміром ділянки пошкодження слизової: а – мікротравма (овал), ріст епітелію (стрілки) під некротизованим шаром (1); б – поширене пошкодження під темною плівкою. Гематоксилін-еозин. $\times 100$.

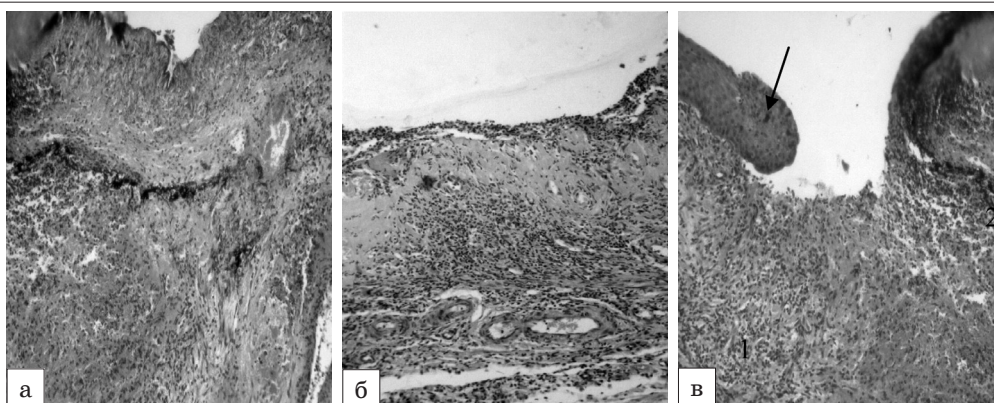


Рис. 6. Піхва щура після лікування вагінальними супозиторіями «Гравагін»: а – обширний дефект стінки; б – ерозивне пошкодження слизової; в – незріла грануляційна тканина (1) під потовщеним епітелієм (стрілка) з краю дефекту. Гематоксилін-еозин. $\times 100$.

пошкодження знайдені в усіх самок, хоча порівняно з контрольною патологією, виразність некротичного ураження слизової піхви щурів зменшилася. Крім того, було видно ознаки репарації. У поодиноких випадках пошкоджені ділянки мали вигляд ерозій, не вкритих плівкою (рис. 6). Епітелій по краях некрозу та іноді поза зонами його був потовщений, мав ознаки дискератозу.

Таким чином, отримані результати свідчать про доцільність подальшого поглибленого вивчення супозиторіїв «Меланізол» як перспективного лікарського засобу для лікування некротично-запальних пошкоджень піхви.

Висновки

1. Інтравагінальне введення 10 % розчину азотнокислого срібла викликало в піхві щурів на 6 день досліду

масивне некротичне ураження, яке розповсюджувалося не тільки на слизову, а й на підслизову та м'язову оболонки, набряк та запалення строми слизової, розростання, акантоз, акантоліз та дискератоз у піхвовому епітелії.

2. За умов експериментального вагініту супозиторії «Меланізол» чинили лікувальний ефект, перешкоджаючи некротично-запальному пошкодженню слизової та підслизової оболонок піхви щурів, підсилюючи репаративні прояви. За лікувальною ефективністю вагінальні супозиторії «Меланізол» перевершували препарат порівняння – супозиторії «Гравагін».

3. Препарат порівняння «Супозиторії з олією обліпихи» випереджав за репаративною дією досліджуваний препарат – вагінальні супозиторії «Меланізол», але дещо поступався йому за протизапальною дією.

1. Ботоева Е. А. Экспериментальная фармакотерапия повреждений матки и ее придатков растительными средствами [Текст]: дисс. доктора медицинских наук / Е. А. Ботоева. – Улан-Удэ, 2014. – 271 с.
2. Жуковская И. Г. Клиническая и социальная эффективность комплексной терапии пациенток с хроническими цервицитами [Текст] / И. Г. Жуковская, Л. Ф. Молчанова // Заместитель главного врача. – 2010. – № 4 (47). – С. 28–35.
3. Сухих Т. Г. Механизмы иммунной защиты при острых и хронических заболеваниях репродуктивной системы [Текст] / Т. Г. Сухих, Л. В. Ванько // Акушерство и гинекология. – 2006. – № 1 (прил.). – С. 17–24.
4. First indication of a possible impact on cervical abnormalities following a national HPV vaccination program, in Victoria, Australia / J. M. L. Brotherton, M. Fridman, M. Saville, D. Gertig // Conference «HPV 2010», Montreal, July 2-8 2010: Conference abstract 508. – Canada, Montreal. – Available at: http://hvp2010.org/main/index.php?option=com_conference&view=presentation&id=1746&conference=1&Itemid=103.
5. Современные представления и основные принципы лечения неспецифического вагинита [Текст] / Тютюнник В. Л., Михайлова О. И., Карапетян Т. Э., Меджидова М. К. // РМЖ: Акушерство и гинекология. – 2012. – № 1. – С. 24–27.
6. Bevan C. D. Efficacy and safety of azithromycin as monotherapy or combined with metronidazole compared with two standard multidrug regimens for the treatment of acute pelvic inflammatory disease / C. D. Bevan, G. L. Ridway, C. D. Rothermel // J. Int. Med. Res. – 2003. – P. 45–54.
7. Буданов П. В. Смешанные вульвовагинальные инфекции – проблемы терапии и экстренной профилактики [Текст] / П. В. Буданов // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2006. – Т. 5, № 2. – [Электрон. ресурс]. – Режим доступа: <http://medi.ru/doc/g240812.htm>.
8. Патент 96646 України на винахід, МПК А 61 К 9/02, А 61 К 31/4164, А 61 К 36/61, А 61 Р 15/00. Протизапальний засіб у формі песаріїв з метронідазолом і олією чайного дерева / Ярних Т. Г., Левачкова Ю. В., Малоштан Л. М., Степанова К. О.; заявник та патентовласник Національний фармацевтичний університет. – № а 2010 01134; заявл. 04.02.2010; опубл. 25.11.2011, Бюл. № 22.
9. Патент 62115 України на корисну модель, МПК G 09 В 23/28, А 61 К 33/38. Спосіб моделювання асептичного запалення слизової оболонки піхви / Степанова К. О., Должикова О. В., Малоштан Л. М., Малоштан А. В.; заявник та патентовласник Національний фармацевтичний університет. – № у 2011 01356; заявл. 07.02.2011; опубл. 10.08.2011, Бюл. № 15.
10. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности [Текст] / Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев // Доклады АН СССР, 1979. – Т. 247, № 6. – С. 1513–1516.
11. Ноздрачев А. Д. Анатомия крысы / А. Д. Ноздрачев, Е. Л. Поляков // Под ред. акад. Ноздрачева А. Д. – С.-П. : Изд-во «Лань», 2001. – 464 с.
12. Попова Е. А. Изменчивость влагалищного и маточного эпителия крыс в нормальных условиях и под влиянием тестостерона [Текст] / Е. А. Попова // Архив патологии. – 1963. – № 8. – С. 48–57.
13. Меркулов Г. А. Курс патологогистологической техники / Г. А. Меркулов. – М. : Медицина, Ленингр. отд-ние, 1969. – 424 с.

О. В. Должикова, Л. М. Малоштан

Гістоморфологічні дослідження впливу нових супозиторіїв вагінальних «Меланізол» на стан піхви щурів на тлі експериментального вагініту

У статті представлені гістоморфологічні дослідження впливу супозиторіїв «Меланізол» у дозі 21 мг/кг на перебіг експериментального вагініту, викликаного азотнокислим сріблом у щурів.

Вагінальні супозиторії «Меланізол» на тлі патології чинили лікувальний ефект, перешкоджаючи некротично-запальному пошкодженню слизової та підслизової оболонок піхви щурів у більше ніж 40 % тварин. При цьому, під впливом вагінальних супозиторіїв «Меланізол» у пошкоджених ділянках слизової та в підслизовій оболонках посилювалися репаративні прояви, а стан слизової був наближений до норми. Препарат порівняння супозиторії «Гравагін» значно поступався вагінальним супозиторіям «Меланізол» за лікувальним ефектом. Препарат порівняння «Супозиторії з олією обліпихи» випереджав за антинекротичною дією супозиторії «Меланізол», але поступався йому за протизапальною дією.

Таким чином, отримані результати свідчать про доцільність подальшого поглибленого вивчення супозиторіїв «Меланізол» як перспективного лікарського засобу для лікування вагінітів.

Ключові слова: супозиторії вагінальні, метронідазол, олія чайного дерева, експериментальний вагініт

Е. В. Должикова, Л. Н. Малоштан

Гистоморфологические исследования влияния новых суппозиториев вагинальных «Меланизол» на состояние влагалища крыс на фоне экспериментального вагинита

В статье представлены гистоморфологические исследования влияния суппозиториев «Меланизол» в дозе 21 мг/кг на течение экспериментального вагинита, вызванного азотнокислым серебром у крыс.

Вагинальные суппозитории «Меланизол» на фоне патологии оказывали лечебный эффект, препятствуя некротически-воспалительным повреждениям слизистой и подслизистой оболочек влагалища крыс у более чем 40 % животных. При этом под влиянием вагинальных суппозиториев «Меланизол» в поврежденных участках слизистой и в подслизистой оболочках усиливались репаративные процессы, а состояние слизистой приближалось к норме. Препарат сравнения суппозитории «Гравлагин» значительно уступал суппозиториям «Меланизол» по лечебному эффекту. Препарат сравнения «Свечи с маслом облепихи» опережал по репаративному действию суппозитории «Меланизол», но уступал им по противовоспалительному эффекту.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о целесообразности дальнейшего углубленного изучения суппозиториев «Меланизол» в качестве перспективного лекарственного средства для лечения вагинитов.

Ключевые слова: суппозитории вагинальные, метронидазол, масло чайного дерева, экспериментальный вагинит

O. V. Dolzhykova, L. M. Maloshtan

Histomorphological study of effect of new vaginal suppositories «Melanizol» on the rat's vagina under experimental vaginitis

The article presents the histomorphological study of the effect of suppositories «Melanizol» at a dose of 21 mg/kg on experimental vaginitis caused by silver nitrate in rats.

Vaginal suppositories «Melanizol» cause a therapeutic effect by inhibiting necrotic-inflammatory lesions of the mucosa and submucosa of the rats vagina in more than 40 % of the animals. Under the influence of vaginal suppositories «Melanizol» in the damaged areas of the mucosa and submucosa reparative manifestations increase and mucosa approximates to the norm. Reference suppositories «Gravagin» significantly were worse than suppositories «Melanizol» in therapeutic effect. Reference «Suppositories with Oleum Hippophaeae» were better than suppositories «Melanizol» in reparative action but were worse to them in the anti-inflammatory effect. Thus, the reference drug «Suppositories with Oleum Hippophaeae» was at the level of the vaginal suppositories «Melanizol» in therapeutic effects on the condition of the vaginal mucosa.

Thus, the results of experiments indicate reasonability of the further study of suppositories «Melanizol» as a perspective drug for the treatment of vaginitis.

Key words: vaginal suppositories, metronidazole, tea tree oil, experimental vaginitis

Надійшла: 24.09.2014 р.

Контактна особа: Должикова О. В., канд. фарм. наук, кафедра фізіології та анатомії людини, Національний фармацевтичний університет, буд. 12, вул. Мельникова, м. Харків, 61002.
Тел.: +38 0 57 706 30 73.

С. Н. Дронов

Детоксицирующие свойства и острая токсичность фиксированной комбинации низкоконцентрированного раствора гипохлорита натрия и таурина, предназначенной для парентерального применения

ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины»

Ключевые слова: гипохлорит натрия, таурин, безопасность, детоксикация

Серьезной проблемой современной клиники остается хронический эндотоксикоз (ЭТ), проявления которого как типичного патологического процесса определяются органными и системными реакциями в организме пациента. При этом механизмы цитотоксического повреждения как вследствие воздействия токсических продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), так и вследствие дисбаланса звеньев иммунологической реактивности тесно связаны между собой, что обуславливает каскадность возникающих клеточных реакций, формирующих патологический процесс [1].

Стремление к повышению эффективности детоксикационного лечения привело к разработке и применению новых перспективных методов, способных моделировать детоксицирующие функции печени, к числу которых относится непрямая детоксикация гипохлоритом натрия (ГХН) [2].

Существующие методы экстракорпоральной детоксикации, в частности, гемодиализ и гемосорбция, обладают недостаточной эффективностью по удалению гидрофобных токсинов. Применение же гипохлорита натрия сопровождается одновременным снижением обеих составляющих токсемии, причем выраженность эффекта нарастает по мере прогрессирования синдрома эндогенной интоксикации [3].

Теоретические основы метода не прямой электрохимической детоксикации

разработаны в Институте физико-химической медицины и Институте электрохимии имени А. Н. Фрумкина (авторское свидетельство от 01.08.85 г. № 1194425). В 1991 году электрохимически получаемый гипохлорит натрия разрешен для внутривенного применения [4].

Применение гипохлорита натрия значительно снижает уровень мочевины, ацетона, активность аминотрансфераз печени [5], гликозилированного гемоглобина [6]. Работами группы авторов [7, 8] показано гипосенсибилизирующее и иммуномодулирующее действие гипохлорита натрия на функции иммунокомпетентных клеток, а также выраженная антимикробная активность [9].

Однако электрохимически получаемый раствор ГХН является недостаточно стабильным при комнатной температуре; кроме того, гипохлорит, являясь агрессивным окислителем, может повреждать эндотелий [10], что ограничивает возможность парентерального введения препарата только в центральные вены по специальной методике [3, 4]. Оптимизация детоксикационной терапии низкоконцентрированным раствором ГХН обеспечивается его фиксированной комбинацией с таурином (ООО «Миллифарм», Украина) – препаратом «Неореодез», содержащим ГХН (0,066 г/100 мл активного хлора) и таурин (0,09 г/100 мл) [11].

Цель исследования – изучение детоксицирующих свойств и острой токсичности фиксированной комбинации низкоконцентрированного раствора гипохлорита натрия и таурина, предназначенной для парентерального применения.

Материалы и методы. В экспериментальных исследованиях использованы 80 белых половозрелых нелинейных крыс обоего пола массой 180–220 г. До начала выполнения работ комиссия по вопросам биоэтики утвердила протокол предстоящих исследований. Согласно требованиям GLP и Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для опытных и других целей, согласованы все процедуры, связанные с содержанием животных, гуманным обращением с ними и их использованием в эксперименте.

Острые токсикодинамические характеристики фиксированной комбинации гипохлорита натрия и таурина (ГХН + Т) в условиях внутривенного введения изучали на 36 нелинейных белых крысах обоего пола. Грызунов предварительно фиксировали в камерах Когана. Изучаемый препарат вводили внутривенно капельно со скоростью 1 мл/мин в возрастающих дозах, начиная с объема, соответствующего максимально допустимому количеству комбинации, вводимой за один сеанс – 1/10 объема циркулирующей крови (ОЦК) [12]. Животным контрольной группы вводили эквивалентное количество 0,9 % раствора NaCl.

Оценку детоксицирующих свойств фиксированной комбинации гипохлорита натрия и таурина проводили в условиях хронического экспериментального эндотоксикоза (ХЭТ), индуцированного введением тетрахлорметана (ТХМ) и бактериального липополисахарида LPS *E. coli* (серотип 0111: B4, Sigma, США). Грызунам внутрижелудочно каждые 24 ч вводили 10 % масляный раствор ТХМ из расчета 5 мл/кг; на шестой день эту процедуру дополняли внутрибрюшинным введением бактериального липополисахарида в дозе 0,2 мл/кг [13]. Группой пассивного контроля были интактные животные, которых содержали в стандартных условиях вивария. Опытная группа животных, наряду с моделированием ХЭТ, в течение месяца каждые 7 суток внутривенно капельно в объеме 1/10 ОЦК дополнительно получала исследуемый раствор тест-образца (2 сеанса с интервалом 8 ч), а группа

сравнения – 0,06 % раствор натрия гипохлорита, приготовленный *ex tempore*. Животным группы активного контроля в том же режиме в вену вводили изотонический раствор NaCl. Подопытных животных выводили из эксперимента через 30 сут после начала моделирования патологического процесса, не ранее, чем через 12 ч после последней манипуляции.

Оценку выраженности терапевтического эффекта исследуемого тест-образца проводили по показателям активности маркеров синдрома цитолиза (АлАТ и АсАТ) в сыворотке крови, а также липопероксидации (МДА и ДК) и антиоксидантной защиты (СОД) в гомогенате ткани печени.

Активность АлАТ и АсАТ определяли с помощью наборов реагентов для клинической биохимии производства High Technology Inc. (США). Регистрацию показателей производили на биохимическом анализаторе HTI BioChem SA (Chemistry Analyzer). В гомогенате печени проводили определение: а) активности СОД по методу, описанному В. С. Гуревич и др. [14]; б) содержания ДК (рассчитывали в ммоль/г ткани) [15]; в) уровня ТБК-активных продуктов (МДА) (выражали в мкмоль/г ткани) [16].

Для исследования влияния препарата на систему гемокоагуляции и кислотно-щелочной баланс венозную кровь 12 животных, которым в течение 4 недель внутривенно капельно в 2- и 5-кратном терапевтическом объеме (1/5 и 1/2 ОЦК) вводили тест-образец, стабилизировали 3,8 % раствором цитрата натрия (соотношение 9 : 1), центрифугировали на малой скорости (15 мин при 100 g). При этом отделялась плазма, богатая тромбоцитами (platelet rich plasma – PRP), которую использовали для изучения их функциональной активности.

Исследование агрегационной способности тромбоцитов проводили по методике G. V. Born [17] на анализаторе агрегации тромбоцитов «SOLAR AP 2110» (Беларусь), определяя максимальную степень и скорость агрегации.

Парциальное напряжение кислорода (pO_2), насыщение крови кислородом

(SO₂), парциальное напряжение углекислого газа (pCO₂), pH определяли в смешанной венозной крови (полученной из правого предсердия) при температуре 37 °C с помощью газоанализатора «Synthesis 15» (Instrumentation Laboratory, США). Кислотно-основное состояние крови оценивали по номограммам Siggaard-Andersen: реальный и стандартный избыток буферных оснований (ABE/SBE), концентрацию гидрокарбоната (HCO₃⁻), общую углекислоту (TCO₂), стандартный бикарбонат (SBC) [18].

Цифровые экспериментальные данные обрабатывали методом вариационной статистики с помощью персональной компьютерной техники – AMD Athlon XP и программы статистического анализа AnalystSoft, StatPlus. Версия 2006 [19]. Математическая обработка полученных данных включала расчет средних арифметических значений (M), их ошибок ($\pm m$). В условиях ненормального распределения рядов достоверность различий средних арифметических (p) определялась с помощью непараметрического U- критерия Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что в условиях однократового внутривенного введения фиксированной комбинации ГХН + Т в дозовом диапазоне от 1/10 до 2 ОЦК, гибели животных экспериментальных групп в

течение всего периода наблюдений (14 сут) не отмечено. При этом, ввиду невозможности достичь необходимой концентрации субстанций в данной лекарственной форме, определить среднесмертельную дозу (LD₅₀) изучаемого тест-образца не представлялось возможным.

Показано, что однократовое использование исследуемого тест-образца даже в 20-кратной дозировке не приводило к изменению показателей относительной массы внутренних органов животных опытных групп. При этом в течение 14 суток эксперимента отличий общего состояния, внешнего вида, а также поведения крыс опытных и контрольной группы не отмечали: животные на протяжении всего периода наблюдения были активными, сохраняли хороший аппетит. Случаев патологических изменений кожи, волосяного покрова, видимых слизистых, физиологических отравлений в ходе 2-недельного эксперимента во всех группах не наблюдали.

Результаты исследований детоксицирующей активности исследуемых тест-образцов представлены на рисунках 1 и 2.

В условиях моделированного хронического эндотоксикоза летальность животных в группе активного контроля к 30 сут составила 10 %. Показано, что в данных условиях эксперимента в гомогенате печени регистрировали

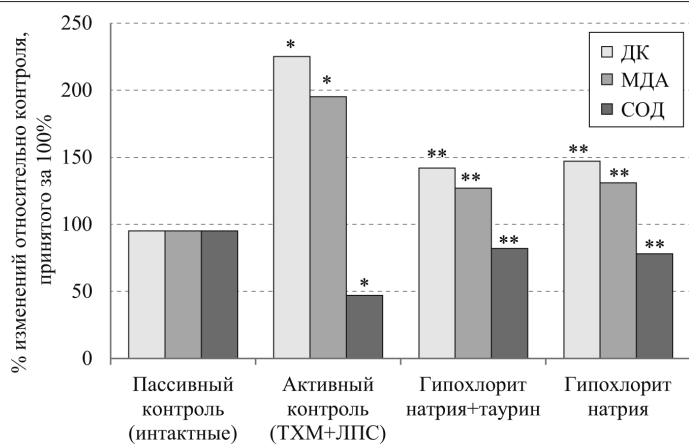


Рис. 1. Характеристика процессов липопероксидации и системы антиоксидантной защиты в условиях хронического экспериментального эндотоксикоза и его фармакологической коррекции
Примечания. Здесь и на рис.2: * $p < 0,05$ по отношению к показателям интактных животных, ** $p < 0,05$ по отношению к показателям активного контроля.

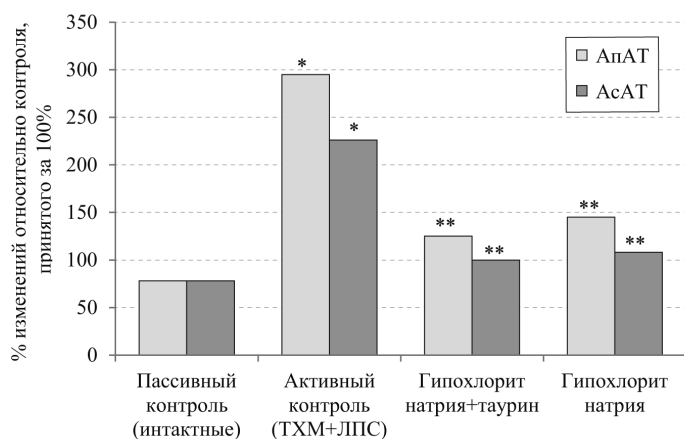


Рис. 2. Активность ферментов цитолиза в условиях хронического эндотоксикоза и его фармакологической коррекции

достоверно значимое возрастание концентраций МДА и ДК на 102 % ($p < 0,05$) и 133 % ($p < 0,05$) соответственно, что свидетельствовало о выраженной активизации процессов липопероксидации.

Развитие ХЭТ сопровождалось также существенным снижением активности СОД в ткани печени на 44 % ($p < 0,05$). Кроме того, исследованием уровня трансаминаз сыворотки крови установлено достоверное возрастание активности АлАТ и АсАТ в сыворотке крови относительно показателей группы пассивного контроля на 212 % ($p < 0,05$) и 147 % ($p < 0,05$) соответственно.

Снижение СОД свидетельствовало о недостаточной активности системы антиоксидантной защиты (АОЗ), что закономерно приводило к накоплению в крови и тканях большого количества токсичных катаболитов [20].

Применение фиксированной комбинации таурина и гипохлорита натрия в данных условиях эксперимента оказывало положительное влияние на процессы липопероксидации и функционирование АОЗ. Так, введение ГХН + Т достоверно значимо снижало концентрации МДА и ДК в ткани печени на 34 % ($p < 0,05$) и 36 % ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с группой активного контроля (рис. 1). При этом уменьшение количества продуктов ПОЛ сопровождалось повышением активности СОД в ткани печени на 64 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

Кроме того, наблюдалось снижение активности трансаминаз – АлАТ и АсАТ на 53 % ($p < 0,05$) и 51 % ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с активным контролем (рис. 2).

Очевидно, в фиксированной комбинации таурин, захватывая хлор, способствовал образованию тауринхлорамина, ингибирующего воспалительные сигналы через нуклеарный фактор (NF κ b). Этот механизм и лежит в основе протективного действия препарата при развитии нефро-, гепато- и кардиопатии [21]. В целом, полученные результаты сопоставимы с данными анализа клинического применения инфузий гипохлорита натрия для лечения больных хроническими диффузными заболеваниями печени [22].

Результаты влияния изучаемой комбинации на показатели сосудисто-тромбоцитарного звена системы гемостаза, а также газотранспортную функцию и кислотно-основное состояние крови представлены в таблицах 1 и 2.

Показано, что под влиянием всех изученных активаторов (АДФ 5 и 20 мкМ, коллаген 2 мг/мл) наблюдалось достоверное снижение как максимальной степени, так и скорости индуцированной агрегации по сравнению с показателями контроля. По-видимому, в основе механизма данного эффекта лежит окисление поверхностных сульфгидрильных групп тромбоцитов, а также повышение продукции простагличина сосудистой стенкой [23].

Таблица 1

Максимальная степень агрегации и скорость агрегации тромбоцитов после курсового внутривенного введения фиксированной комбинации ГХН + Т животным с хроническим эндотоксикозом (М + т, n = 6)

Препарат/ исследуемый показатель		Индуктор агрегации		
		АДФ 5 мкМ	АДФ 20 мкМ	Коллаген 2 мг/мл
ГХН + Т 1/5 ОЦК	МСА, %	33,50 ± 3,90*	35,40 ± 4,54*	45,00 ± 4,24*
	СА, %/мин	39,70 ± 4,59*	29,00 ± 3,38*	30,10 ± 3,14*
ГХН + Т 1/2 ОЦК	МСА, %	27,80 ± 2,80*	33,10 ± 3,46*	44,60 ± 4,99*
	СА, %/мин	28,80 ± 3,26*	25,00 ± 4,54*	21,90 ± 1,34*
Контроль	МСА, %	44,20 ± 2,40	63,50 ± 1,12	68,90 ± 1,95
	СА, %/мин	59,20 ± 3,51	55,40 ± 2,96	58,10 ± 2,66

Примечание. * $p < 0,05$ по отношению к показателям контроля.

Таблица 2

Изменения показателей газотранспортной функции и кислотно-основного состояния крови на 28 сутки после повторных внутривенных введений фиксированной комбинации ГХН + Т животным с хроническим эндотоксикозом (М + т)

Показатель	Группа животных (n = 6)		
	Гипохлорит натрия + таурин		Контроль
	1/5 ОЦК	1/2 ОЦК	
pH, ед.	7,350 ± 0,021	7,360 ± 0,019	7,330 ± 0,012
pO ₂ , мм рт. ст.	27,27 ± 0,69	28,03 ± 0,84	27,55 ± 0,75
pCO ₂ , мм рт. ст.	54,87 ± 0,77	54,70 ± 0,58	53,93 ± 0,69
SO ₂ , %	27,48 ± 0,44	27,53 ± 0,50	27,71 ± 0,55
ABE, ммоль/л	0,67 ± 0,30	0,25 ± 0,28	1,15 ± 0,39
SBE, ммоль/л	1,01 ± 0,45	0,44 ± 0,32	1,74 ± 0,51
HCO ₃ ⁻ , ммоль/л	25,45 ± 0,44	24,78 ± 0,31	25,12 ± 0,38
TCO ₂ , ммоль/л	29,40 ± 0,36	28,98 ± 0,47	30,83 ± 0,41
SBC, ммоль/л	26,02 ± 1,27	25,83 ± 1,70	26,87 ± 1,53

При этом колебания показателей газотранспортной функции и кислотно-основного состояния крови, отмеченные между исследуемыми группами и контролем (табл. 2), не выходили за рамки физиологической нормы для данного вида животных [24].

Результаты проведенных исследований свидетельствуют об отсутствии статистически достоверных отличий между тест-образцом и препаратом сравнения. Однако реферес-препарат (электрохимически получаемый раствор ГХН) является недостаточно стабильным при комнатной температуре (срок годности – до 2 недель), а применение фиксированной комбинации ГХН + Т обеспечивает поддержание

концентрации активного хлора в течение периода, достаточного для использования раствора в клинической практике (срок хранения – 1 год) [11].

Кроме того, электрохимически получаемый гипохлорит может повреждать эндотелий [10], что ограничивает возможность его парентерального введения только в центральные вены по специальной методике [3]. При этом в растворе фиксированной комбинации таурин, действуя как ловушка для хлора, образует тауринхлорамин, не повреждающий эндотелий [21], что позволяет вводить ее в периферические вены. И, наконец, препятствуя активации ядерного фактора и продукции воспалительных цитокинов, тауринхлор-

амин оказывает противовоспалительное действие [25], изучение которого может служить объектом экспериментальных исследований в дальнейшем.

Выводы

1. Одноразовое внутривенное введение фиксированной комбинации гипохлорита натрия и таурина в диапазоне доз от 1/10 до 2 ОЦК не вызывает гибели грызунов, не влияет на потребление корма и воды, а также динамику массы тела экспериментальных животных.

2. Курсовое парентеральное применение фиксированной комбинации гипохлорита натрия и таурина в условиях экспериментального ХЭТ способствует уменьшению активности ферментов цитолиза, содержания продуктов ПОЛ, приводит к увеличению активности фермента антирадикальной защиты.

3. Внутривенное 4-недельное введение исследуемого тест-образца оказывает выраженное антиагрегантное действие и не вызывает изменений показателей газотранспортной функции и кислотно-основного состояния крови.

1. Дубовая А. В. Экзогенная и эндогенная интоксикация. Функциональная система детоксикации. Методы активной детоксикации / А. В. Дубовая // Здоровье ребенка. – 2011. – № 5 (32). – С. 93–96.
2. Сосин И. К. Применение метода непрямой электрохимической детоксикации в наркологии: Метод. рекомендации / И. К. Сосин, А. С. Волков, Ю. Ф. Чуев. – Х., 1994. – 7 с.
3. Федоровский Н. М. Методика непрямой внутривенной электрохимической детоксикации в комплексном лечении синдрома эндогенной интоксикации / Н. М. Федоровский, В. К. Гостищев, О. А. Долина // Вестник интенсивной терапии. – 1993. – № 1. – С. 31–33.
4. Бояринов Г. А. Свойства и сферы применения натрия гипохлорита / Г. А. Бояринов, Н. Ю. Векслер // Эфферентная терапия. – 1997. – Т. 3, № 2. – С. 5–14.
5. Ушакова Т. А. Электрохимическое окисление крови у тяжелообожженных пациентов / Т. А. Ушакова, Ю. М. Азизов, А. В. Матвеев // Эндогенные интоксикации: материалы симпозиума. – СПб., 1994. – С. 201–202.
6. Шилова Н. А. Измерение кислотно-основного состояния крови и гликозилированного гемоглобина под влиянием гипохлорита натрия при диабетической кетоацидотической коме / Н. А. Шилова, Н. С. Бицунов // Вестник интенсивной терапии. – 1996. – Т. 2. – С. 122.
7. Гостищев В. К. Непрямая электрохимическая детоксикация в комплексном лечении гнойных заболеваний в хирургии / В. К. Гостищев, Н. М. Федоровский // Хирургия. – 1994. – № 4. – С. 48–50.
8. Стимуляция гипохлоритом натрия фагоцитарной активности лейкоцитов / М. Д. Зверева, М. А. Мурина, Н. Н. Трунилина [и др.] // Эндогенные интоксикации: мат. симпозиума. – СПб., 1994. – С. 178.
9. Толкач А. Б. Плазмаферез в сочетании с гипохлоритом натрия при гнойно-септических заболеваниях / А. Б. Толкач, Н. Н. Уткин, Б. А. Рейс // Вестн. интенсивной тер. – 1996. – Т. 2. – С. 107.
10. Pennathur S. Oxidative stress and endothelial dysfunction in vascular disease / S. Pennathur, J. W. Heinecke // Curr Diab Rep. – 2007. – № 7. – Р. 257–264.
11. Патент № 2488382, RU, МПК А61К. Дезинтоксикационный инфузионный раствор «неореодез» / Иванов В. К., Беленький Г. З., Снежко З. И.; – патентообладатель Иванов В. К., Беленький Г. З., Снежко З. И. – заявл. 07.02.12; опубл. 27.07.13.
12. Влияние внутрибрюшного введения гипохлорита натрия на выраженность послеоперационного спаечного процесса брюшной полости / В. А. Липатов, Ю. Ю. Блинков, С. А. Ештокин [и др.] // Совр. вопросы мед. науки и практики: мат. регион. конф., посв. 100-летию со дня рождения засл. деятеля науки РСФСР, чл.-корр. АМН СССР, профессора Г. Е. Островерхова. – Курск : КГМУ, 2004. – С. 98–99.
13. Новочадов В. В. Эндотоксикоз: моделирование и органопатология / В. В. Новочадов, В. Б. Писарев. – Волгоград : Изд-во ВолГМУ, 2005. – 240 с.
14. Гуревич В. С. Сравнительный анализ двух методов определения активности супероксиддисмутазы / В. С. Гуревич, К. Н. Контрощикова, Л. В. Шатилина // Лаб. дело. – 1990. – № 4. – С. 44–47.
15. Костюк В. А. Спектрофотометрическое определение диеновых конъюгатов / В. А. Костюк, А. И. Потапович, Е. Ф. Лунец // Вопросы мед. химии. – 1984. – № 4. – С. 125–127.
16. Asakawa T. Coloring conditions of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides / T. Asakawa, S. Matsushita // Lipids. – 1980. – V. 15. – P. 137–140.
17. Born G. V. R. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal / G.V.R. Born // Nature. – 1962. – V. 194. – P. 927–929.
18. Горн М. М. Водно-электролитный и кислотно-основной баланс. Краткое руководство / М. М. Горн, У. М. Хейц, П. Л. Сверниген. – СПб, 2000. – 32 с.
19. Программа статистического анализа [Электронный ресурс] : Режим доступа – www.analyst-soft.com/ru/

20. Казимирко В. К. Антиоксидантная система и ее функционирование в организме человека / В. К. Казимирко, В. И. Мальцев // Здоров'я України. – 2007. – № 5. – С. 15–24.
21. Das J. Taurine exerts hypoglycemic effect in alloxan-induced diabetic rats, improves insulin-mediated glucose transport signaling pathway in heart and ameliorates cardiac oxidative stress and apoptosis / J. Das, V. Vasan, P. C. Sil // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2012. – № 258 (2). – P. 296 – 308.
22. Мязин Р. Г. Применение гипохлорита натрия для лечения больных хроническими диффузными заболеваниями печени / Р. Г. Мязин. – Волгоград, 2010. – 118 с.
23. Савельева Е. Л. Механизм угнетения начальной агрегации тромбоцитов гипохлоритом натрия и N,N-дихлортаурином: автореф. дис. на соискание науч. степени канд. биол. наук : спец. 03.01.02 «Биофизика» / Е. Л. Савельева. – М., 2011. – 20 с.
24. Sharp P. E. The Laboratory Rat / P. E. Sharp, M. C. La Regina. – CRC Press, 1998. – 240 p.
25. Marcinkiewicz J. Taurine and inflammatory diseases / J. Marcinkiewicz, E. Kontryn // Amino Acids. – 2014. – V. 46, № 1. – P. 7–20.

С. Н. Дронов

Детоксирующие свойства и острая токсичность фиксированной комбинации низкоконцентрированного раствора гипохлорита натрия и таурина, предназначенной для парентерального применения

В экспериментальных исследованиях на 80 белых половозрелых нелинейных крысах проведен анализ безопасности и фармакологической активности фиксированной комбинации гипохлорита натрия и таурина в условиях внутривенного введения.

Токсикодинамические характеристики тест-образца изучали в условиях однократного внутривенного введения комбинации в дозовом диапазоне 1/10 – 2 объема циркулирующей крови. Детоксикационные свойства оценивали по показателям маркеров синдрома цитолиза, липопероксидации и антиоксидантной защиты в условиях сочетанного введения тетрахлорметана и липополисахарида LPS E. coli 0111B4. Влияние препарата на систему гемокоагуляции и кислотно-щелочной баланс определяли по методике G. V. Born и по номограммам Siggaard-Andersen соответственно.

Показано, что однократное внутривенное введение комбинации в диапазоне доз от 1/10 до 2 объема циркулирующей крови не вызывает гибели грызунов. Установлено, что парентеральное применение тест-образца в условиях экспериментального эндотоксикоза снижает активность трансаминаз (АлАТ и АсАТ) на 53 % ($p < 0,05$) и 51 % ($p < 0,05$) соответственно, уменьшает концентрацию МДА (- 34 %, $p < 0,05$) и ДК (- 36 %, $p < 0,05$) и повышает активность СОД на 64 % ($p < 0,05$) по сравнению с группой контроля. При этом препарат проявляет антиагрегантное действие, не влияя на газотранспортную функцию и кислотно-основное состояние крови.

Полученные результаты свидетельствуют, что применение изучаемой комбинации способствует снижению токсической нагрузки на органы экскреции и детоксикации, что позволит уменьшить степень тяжести эндотоксикоза и избежать его хронизации и сопутствующих осложнений.

Ключевые слова: гипохлорит натрия, таурин, безопасность, детоксикация

С. М. Дронов

Детоксикаційні властивості та гостра токсичність фіксованої комбінації низькоконцентрованого розчину гіпохлориту натрію та таурину, призначеної для парентерального застосування

В експериментальних дослідженнях на 80 білих статевозрілих нелінійних щурах проведено дослідження гострої токсичності та фармакологічної активності фіксованої комбінації гіпохлориту натрію та таурину за умов внутрішньовенного введення.

Токсикодинамічні характеристики тест-зразка вивчали за умов одноразового внутрішньовенного введення комбінації в дозовому діапазоні 1/10 – 2 об'єму циркулюючої крові. Детоксикаційні властивості оцінювали за показниками маркерів синдрому цитолізу, ліпเปอร์оксидації та антиоксидантного захисту на моделі ендотоксикозу, викликаного поєднаним введенням тетрахлорметану та ліпополисахариду LPS E. coli 0111B4. Вплив препарату на систему гемокоагуляції і кислотно-лужний баланс визначали за методикою G. V. Born і номограмами Siggaard-Andersen відповідно.

Показано, що одноразове внутрішньовенне введення фіксованої комбінації в діапазоні доз від 1/10 до 2 об'єму циркулюючої крові не викликає загибелі гризунів. Встановлено, що парентеральне застосування тест-зразка за умов експериментального ендотоксикозу знижує активність трансамініаз (АлАТ і АсАТ) на 53 % ($p < 0,05$) і 51 % ($p < 0,05$) відповідно, зменшує концентрацію МДА (- 34 %, $p < 0,05$) і ДК (- 36 %, $p < 0,05$) і підвищує активність СОД на 64 % ($p < 0,05$) порівняно з групою контролю. При цьому препарат проявляє антиагрегантну дію, не впливаючи на газотранспортну функцію і кислотно-основний стан крові.

Отримані результати свідчать, що застосування досліджуваної комбінації сприяє зниженню токсичного навантаження на органи екскреції і детоксикації, що дозволить зменшити ступінь тяжкості ендотоксикозу і уникнути його хронізації та супутніх ускладнень.

Ключові слова: гіпохлорит натрію, таурин, безпека, детоксикація

S. N. Dronov

The detoxifying properties and acute toxicity of a fixed combination of low-concentration solution of sodium hypochlorite and taurine intended for parenteral administration

The aim of this study was to evaluate the detoxifying properties and acute toxicity of a fixed combination of low-concentration solution of sodium hypochlorite and taurine for intravenous administration. There were used 80 mature white nonlinear rats for analysis of safety and pharmacological activity.

Acute toxicity was studied after single intravenous injection of the fixed combination in a dosage range from 1/10 to 2 volumes of circulating blood (VCB). Detoxification properties were evaluated by analyzing the changes of the markers of cytotoxicity syndrome, lipid peroxidation and antioxidant protection under endotoxemia induced by combined administration of carbon tetrachloride and lipopolysaccharide LPS E. coli 0111B4. The drug's effects on blood coagulation system and acid-base balance were studied according to G.V. Born procedure and Siggaard-Andersen nomogram, respectively.

It was shown that a single intravenous administration of the fixed combination in a dosage range from 1/10 to 2 VCB did not cause the death of the rodent. Intravenous injections of the test sample to rats with experimental endotoxemia led to reduce transaminase activity (ALT and AST) by 53 % ($p < 0,05$) and 51 % ($p < 0,05$), respectively, the concentrations of malondialdehyde (- 34 %, $p < 0,05$) and diene conjugate (- 36 %, $p < 0,05$) and increase the superoxide dismutase activity by 64 % ($p < 0,05$) compared with the control group. It was found antiplatelet effect of the fixed combination in this experiment without affecting the gas-transport function of blood.

The results obtained indicate that intravenous injections of fixed-dose combination of low-concentration solution of sodium hypochlorite and taurine helps to reduce the severity of endotoxemia and to avoid chronization and associated complications.

Key words: sodium hypochlorite, taurine, safety, detoxification

Поступила: 15.09.2014 г.

Контактное лицо: Дронов Сергей Николаевич, кандидат медицинских наук, кафедра фармакологии и клинической фармакологии, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», д. 9, ул. Дзержинского, г. Днепропетровск, 49044. Тел.: +38 0 95 425 75 97.
Электронная почта: tatyana_sergiivna@i.ua

В. І. Жилюк, В. Й. Мамчур

Дозозалежні ефекти метформіну та піоглітазону щодо процесів навчання та збереження умовної навички в щурів з алоксановим діабетом

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

Ключові слова: метформін, піоглітазон, антиамнестична активність, алоксановий діабет

Відомо, що основними заходами, спрямованими на попередження та лікування ускладнень, які виникають за цукрового діабету (ЦД), є контроль рівнів гіперглікемії та глікозилюваного гемоглобіну, а некоректна цукрово-знижуюча терапія є значущим фактором, який сприяє розвитку цих ускладнень [1].

У процесі підбору адекватної цукро-вознижуючої терапії та досягнення бажаного ступеня компенсації захворювання у хворих на ЦД виникають певні труднощі, й ідеальна, протягом тривалого часу, компенсація вуглеводного обміну має місце лише в невеликій кількості пацієнтів [2, 3]. Першочергово це пов'язано з гетерогенністю цього захворювання, що утруднює пошук патогенетичного лікування в кожному конкретному випадку [4]. Водночас досягнення необхідного глікемічного контролю за діабету не завжди дозволяє знизити подальше прогресування ускладнень, зокрема з боку нервової системи, а його якість більш ефективна як захід попередження, а не лікування, що пов'язано з феноменом «метаболічної пам'яті» [5].

Серед нейропатій особливо виділяється діабетична енцефалопатія, яка спостерігається в близько 78 % хворих на ЦД. Причому, серед когнітивних функцій найчастіше страждають пам'ять та увага [6–8].

Сьогодні достеменно не відомо, яким чином гіпоглікемічна терапія може впливати на розвиток та перебіг когнітивних порушень за ЦД.

Мета дослідження – визначення дозозалежного впливу пероральних цукро-

вознижуючих препаратів на мнестичні функції за умов скополамін-індукованої амнезії в щурів з алоксановим діабетом.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на 80 білих щурах лінії Вістар чоловічої статі масою 250–300 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію (температура повітря: 22 ± 2 °C, світлий/темний цикл: 12/12 год) та розподіляли на 8 груп ($n = 10$): I – інтактні тварини + скополамін (пасивний контроль); II – тварини з експериментальним діабетом + скополамін (активний контроль); III – діабет + метформін у дозі 250 мг/кг, $n = 10$; IV – діабет + метформін у дозі 500 мг/кг; V – діабет + метформін у дозі 750 мг/кг; VI – діабет + піоглітазон у дозі 5 мг/кг; VII – діабет + піоглітазон у дозі 10 мг/кг; VIII – діабет + піоглітазон у дозі 15 мг/кг. Ініціацію діабету проводили шляхом одноразового підшкірного введення алоксану моногідрату (Sigma, США) у дозі 150 мг/кг у вигляді 5 % розчину в ацетатному буфері, рН 4,5 після попередньої 24-годинної депривації їжі (при збереженому доступі до води) [9, 10].

З метою формування повного та стабільного діабету тварин утримували протягом 11 днів на стандартній дієті. Ознаками розвитку патології були: полідипсія (спрага), поліурія, втрата маси тіла та астенія.

Рівень глюкози крові визначали на 11 добу після введення алоксану за допомогою глюкометра Optium Omega (Abbot Diabetes Care Inc., США). Для подальших досліджень залучали тільки тварин з підвищеним рівнем глюкози (> 11 ммоль/л) [9].

Оцінку впливу досліджуваних засобів на процеси навчання та збереження пам'ятного сліду проводили за допомогою умовної реакції пасивного

уникнення (УРПУ) [11]. На 5 день від початку введення досліджуваних препаратів виробляли УРПУ. За 30 хв до навчання всім тваринам з метою формування амнезії навички внутрішньочеревинно вводили 0,05 % розчин скополаміну гідроброміду (Sigma, США) у дозі 0,8 мг/кг [12]. Реєстрували латентний період заходу в темний відсік (ЛП₁). Оцінку впливу препаратів на процеси вводу та збереження інформації проводили на 6 (ЛП₂) та 20 (ЛП₃) добу відповідно, а також враховували кількість тварин з амнезією навички.

Для оцінки ефективності відтворення навички УРПУ також розраховували коефіцієнт антиамнестичної активності препаратів (K_{Аа}) за наступною формулою [13]:

$$K_{Аа} = \frac{\Delta \text{ЛП}_{\text{препарат}} - \Delta \text{ЛП}_{\text{діабет}}}{\Delta \text{ЛП}_{\text{інтактні}} - \Delta \text{ЛП}_{\text{діабет}}} \cdot 100 \%,$$

де $\Delta \text{ЛП} = \text{ЛП}_{\text{тестування}} - \text{ЛП}_{\text{вироблення рефлексу}}$.

Досліджувані препарати вводили в зазначених дозах 1 раз на добу внутрішньощунково протягом 20 діб, починаючи з 11 дня після введення алоксану та встановлення рівня гіперглікемії. Тваринам груп пасивного та активного контролю протягом дослідження у відповідному об'ємі внутрішньощунково вводили дистильовану воду.

Усі дослідження проводили за кімнатного освітлення в часовому інтервалі від 12 до 17 год.

Отриманий цифровий матеріал обробляли методом варіаційної статистики за допомогою програми статистичного аналізу StatPlus, AnalystSoft. Версія 2006. (<http://www.analystsoft.com/ru/>) на персональному комп'ютері «Intel Pentium-IV». Математична обробка включала розрахунки середніх арифметичних значень (М), їхніх похибок ($\pm m$), вірогідності різниці середніх арифметичних (р) за допомогою непараметричного – U-критерію Манна-Уїтні. Для дослідження рівня амнезії навички було використано точний критерій Фішера.

Усі експериментальні процедури здійснювали згідно із «Положенням про використання тварин у біомедичних дослідках» [14].

Результати та їх обговорення. Результати досліджень показали, що внутрішньоочеревинне введення амнезуючого чинника скополаміну гідроброміду тваринам з діабетом, попередньо до навчання характеризувалося більш низькими значеннями показника ЛП. Встановлено, що як на 6, так і на 20 добу дослідження, показники ЛП₂ і ЛП₃ у цій групі були на 56,2 (р = 0,06) і 61,5 % (р < 0,05) відповідно нижчими, ніж у групі пасивного контролю за співставних умов (таблиця). При цьому відсоток тварин з амнезією навички у відповідні періоди складав 100 % (р < 0,05) (рис. 1).

Водночас курсове застосування пероральних гіпоглікемічних засобів – метформіну та піоглітазону в різних дозах

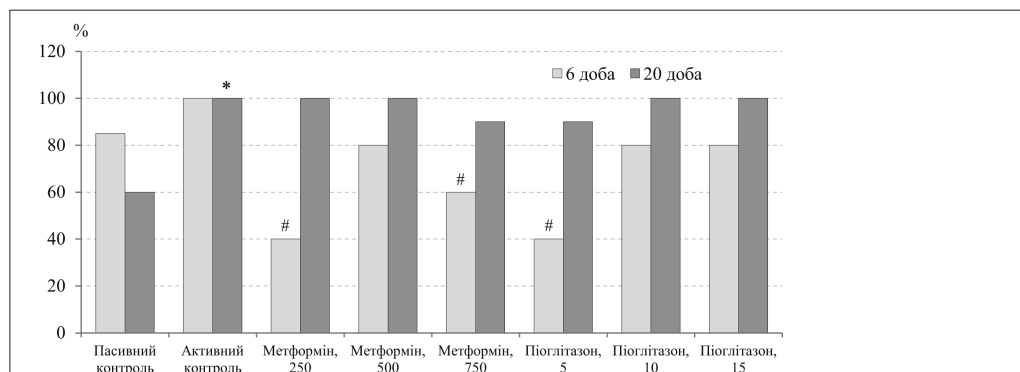


Рис. 1. Відсоток тварин зі скополамін-індукованою амнезією навички в тесті умовної реакції пасивного уникнення за умов алоксанового діабету та введення гіпоглікемічних засобів

Примітка: *р < 0,05 відносно показників, зафіксованих у групі інтактних щурів (пасивний контроль) у відповідний термін дослідження, #р < 0,05 відносно показників тварин з діабетом (активний контроль) у відповідний термін дослідження.

у щурів з алоксановим діабетом характеризувалося певними особливостями як щодо використаних доз, так і до змін показників у динаміці (таблиця, рис. 1).

Установлено, що стосовно процесів навчання досліджені засоби в усіх використаних дозах певним чином переважали показники активного контролю. Однак слід зазначити, що статистично значимі результати отримані лише в групі тварин, яким протягом 5 діб вводили піоглітазон у дозі 5 мг/кг. Використання цієї дози вказаного засобу сприяло зростанню в 2,8 разу ($p < 0,05$) ЛП₂ на 6 добу дослідження. Виразну тенденцію у вигляді збільшення ЛП₂ у 2,78 разу ($p = 0,05$) спостерігали також при використанні метформіну в дозі 250 мг/кг (таблиця). При цьому найбільший рівень коефіцієнта

антиамнестичної активності на даному етапі спостерігали при використанні найменших доз цих дослідних засобів (рис. 2).

Причому, наявність сформованого умовного рефлексу в цей термін дослідження спостерігали в 60 ($p < 0,05$) і 40 % ($p < 0,05$) тварин, яким вводили метформін у дозах 250 мг/кг та 750 мг/кг відповідно та в 60 % ($p < 0,05$) після введення піоглітазону в дозі 5 мг/кг (рис. 1).

Тестування збереженості пам'ятного сліду на 20 добу від початку введення лікарських засобів показало суттєве зниження показників ЛП₃ у всіх групах відносно попереднього етапу дослідження (таблиця). При цьому рівень амнезії умовної навички при використанні досліджених доз препаратів був

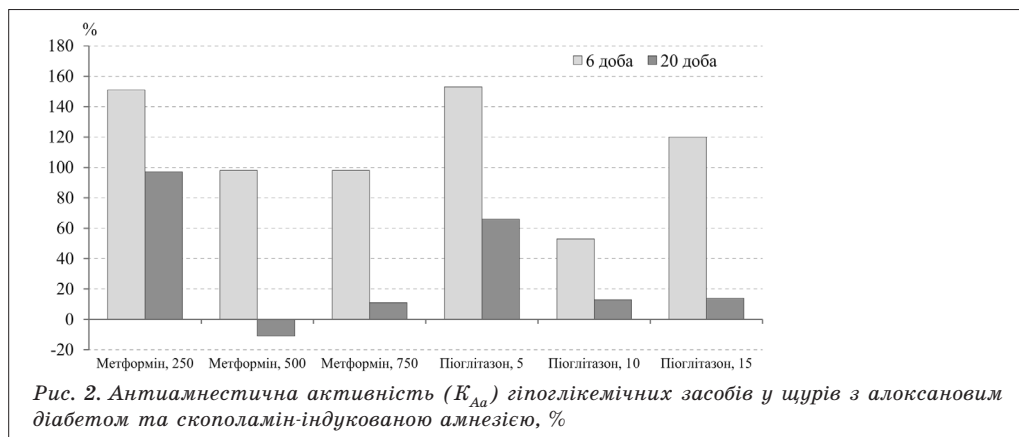
Таблиця

Латентний період умовної реакції пасивного уникнення в щурів за умов алоксанового діабету та введення гіпоглікемічних засобів, $M \pm t$

Умови експерименту	Латентний період, с	
	6 доба	20 доба
Пасивний контроль (Інтактні, $n = 10$)	$97,10 \pm 18,36$	$86,50 \pm 22,96$
Активний контроль (Діабет, $n = 10$)	$42,70 \pm 10,75$ ($p = 0,06$)	$33,30 \pm 9,39^*$
Діабет + Метформін (250 мг/кг) ($n = 10$)	$118,80 \pm 25,13$ ($p = 0,05$)	$48,90 \pm 9,63$
Діабет + Метформін (500 мг/кг) ($n = 10$)	$94,10 \pm 21,62$	$40,10 \pm 8,28$
Діабет + Метформін (750 мг/кг) ($n = 10$)	$92,60 \pm 24,76$	$47,80 \pm 17,13$
Діабет + Піоглітазон (5 мг/кг) ($n = 10$)	$119,40 \pm 24,97^{\#}$	$74,50 \pm 21,06$
Діабет + Піоглітазон (10 мг/кг) ($n = 10$)	$65,80 \pm 20,02$	$45,30 \pm 16,08$
Діабет + Піоглітазон (15 мг/кг) ($n = 10$)	$103,20 \pm 18,08$	$48,70 \pm 10,74$

Примітка. * $p < 0,05$ відносно групи тварин пасивного контролю,

$^{\#}p < 0,05$ відносно показників групи активного контролю.



наближений до показників групи активного контролю (таблиця). Відповідно було зафіксовано й суттєве зниження значень K_{Aa} (рис. 2).

Установлено, що до проведення експериментальної терапії рівень глікемії між усіма групами тварин, які одночасно отримали алоксану моногідрат, статистично не відрізнявся. Курсове, протягом 20 діб, внутрішньошлункове введення метформіну в дозі 250 мг/кг призводило до зниження рівня глюкози на 14,8 % ($p < 0,05$) порівняно з 1 добою експерименту, однак він статистично значимо не відрізнявся від показників групи активного контролю (рис. 3). У свою чергу, використання більш високих доз препарату сприяло подальшому зменшенню значень показників глікемії в щурів з алоксановим діабетом. Зокрема, при використанні метформіну в дозі 500 мг/кг рівень глюкози наприкінці експерименту був нижчим на 18,9 % ($p < 0,05$) відносно початкових значень та на 21,9 % ($p < 0,01$) відносно показника групи активного контролю (рис. 3). При введенні препарату в дозі 750 мг/кг ці показники були меншими на 28,7 ($p < 0,05$) та 25,7 % ($p < 0,01$) відповідно (рис. 3).

Подібні зміни рівня глікемії зафіксовані й при тривалому використанні різних доз піоглітазону (рис. 3). Так, порівняно з 1 днем дослідження, вказаний гіпоглікемічний засіб у дозах 5 мг/кг, 10 мг/кг та 15 мг/кг дозозалежно знижував рівень глюкози крові на 14,8

($p < 0,01$), 18,9 ($p < 0,01$) та 40,5 % ($p < 0,01$) відповідно. Причому, відносно значень групи активного контролю ці показники були нижчими на 9,3 ($p > 0,05$), 21 ($p < 0,01$) та 39% ($p < 0,01$) відповідно (рис. 3).

Таким чином, пероральні цукронознижуючі лікарські засоби метформін і піоглітазон чинять дозозалежну гіпоглікемічну дію, однак у досліджених дозах не призводять до відновлення фізіологічних рівнів глюкози в крові щурів з алоксановим діабетом (рис. 3).

Отже, використані гіпоглікемічні засоби за умов експериментального діабету та скополамін-індукованої амнезії виявляють певну антиамнестичну активність лише в низьких дозах і при короткостроковому використанні (на етапі введення інформації), однак вони не спроможні забезпечити збереження набутої інформації при тривалому введенні. Водночас їхнє використання сприяє дозозалежному зниженню рівня глюкози.

Проведені дослідження додатково підтверджують ранній та прогресуючий розвиток порушень когнітивних функцій при цукровому діабеті та узгоджуються з результатами інших науковців [7, 15]. Характерно, що поступовий та прихований характер розвитку енцефалопатії не відразу привертає увагу лікарів, що в подальшому може призводити до деменції. Причому, когнітивний дефіцит у хворих на діабет може призводити до труднощів у розу-

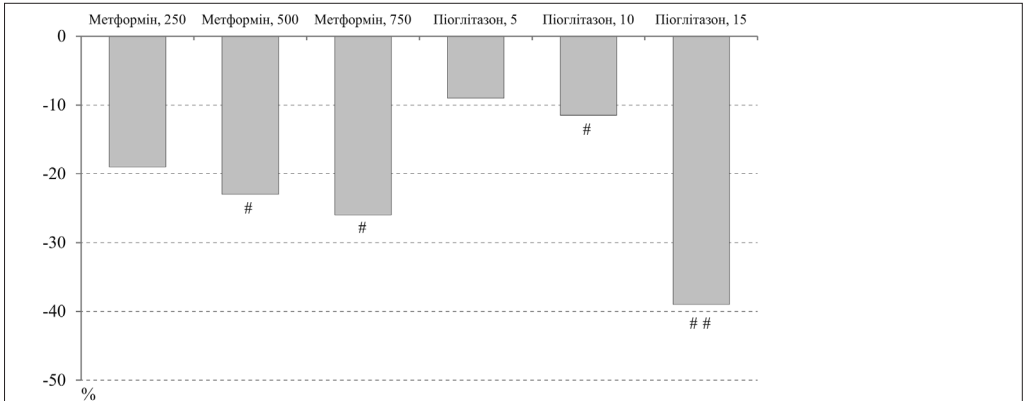


Рис. 3. Зміни рівня глюкози в капілярній крові щурів з алоксановим діабетом на 20 добу від початку введення гіпоглікемічних засобів, % до показників тварин з алоксановим діабетом
Примітка. # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$ відносно показників тварин з алоксановим діабетом (активний контроль).

мінні інформації та інструкцій, що погіршує перебіг та прогноз, а також вносить суттєвий вклад у зниження якості життя та лікування [16]. Водночас гіпоглікемічна терапія не спроможна повною мірою компенсувати або ж попереджати такі розлади, а згідно із деякими дослідженнями здатна чинити негативний вплив на когнітивні функції, зокрема, при тривалому використанні метформіну [17, 18].

Виходячи з цього, актуальним є пошук нових стратегій терапії та профілактики неврологічних ускладнень діабету [16, 18]. Оптимізація специфічної фармакотерапії з метою попередження порушень когнітивної сфери може бути досягнута шляхом включення в лікування цієї патології ноотропних та нейропротекторних засобів уже на ранніх її етапах [19].

Загалом отримані дані дозволяють зробити висновок, що порушення мнестичних функцій за цукрового діабету мають прогресуючий характер і прояв-

ляються уже на ранніх етапах захворювання, а фармакологічна корекція рівня глікемії не здатна попередити або ж забезпечити їхнє відновлення.

Виявлені закономірності вказують на доцільність використання ноотропних та нейропротективних засобів за цукрового діабету.

Висновки

1. Гіпоглікемічні засоби за умов алоксанового діабету в щурів характеризуються незначною ноотропною та антиамнестичною активністю при короткостроковому використанні в низьких дозах, водночас не виявляють цих властивостей при тривалому введенні.

2. Метформін і піоглітазон виявляють дозозалежну гіпоглікемічну активність, однак не впливають на амнестичні властивості скополаміну за умов експериментально відтвореної форми цукрового діабету.

1. Мироненко Т. В. Диабетическая энцефалопатия: клинико-диагностическая характеристика, лечебные подходы / Т. В. Мироненко, М. О. Мироненко, В. В. Евтушенко // Український неврологічний журнал. – 2011. – № 3. – С. 101–108.
2. Abnormal function of C-fibers in patients with diabetic neuropathy / K. Ørstavik, B. Namer, R. Schmidt [et al.] // J. Neurosci. – 2006. – V. 26, № 44. – P. 11287–11294.
3. Epidermal nerve innervation in impaired glucose tolerance and diabetes-associated neuropathy / A. G. Smith, P. Ramachandran, S. Tripp, J. R. Singleton // Neurology. – 2001. – V. 57. – P. 1701–1704.
4. Impact of metabolic syndrome criteria on cardiovascular disease risk in people with newly diagnosed type 2 diabetes / R. N. Guzder, W. Gatling, M. A. Mullee, C. D. Byrne // Diabetologia. – 2006. – V. 49. – P. 49–55.
5. Said G. Diabetic Neuropathy / G. Said / Nat. Clin. Pract. Neurol. – 2007. – V. 3, № 6. – P. 331–340.
6. Маркин С. П. Неврологические проявления сахарного диабета [Електронний ресурс] / С. П. Маркин // Неврология и ревматология. – 2011. – № 1. – Режим доступу до журн.: <http://www.con-med.ru/magazines/neurology/2915/2911/>.
7. Мироненко Т. В. Диабетическая энцефалопатия: клинико-диагностическая характеристика, лечебные подходы / Т. В. Мироненко, М. О. Мироненко, В. В. Евтушенко // Український неврологічний журнал. – 2011. – № 3. – С. 101–108.
8. Сахарный диабет 2 типа и когнитивные нарушения / Л. А. Чугунова, И. В. Семенова, Ю. Ю. Орлов, М. В. Шестакова // Сахарный диабет. – 2008. – № 1. – С. 61–66.
9. Dave K. R. Effect of alloxan-induced diabetes on serum and cardiac butyrylcholinesterases in the rat / K. R. Dave, S. S. Katyare // Journal of Endocrinology. – 2002. – V. 175, № 1. – P. 241–250.
10. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes / S. Lenzen // Diabetologia. – 2008. – № 51. – С. 216–226.
11. Воронина Т. А. Методические указания по изучению ноотропной активности фармакологических веществ / Воронина Т. А., Островская Р. У. // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Р. У. Хабриева. – [2-е изд.] – М. : ОАО Изд-во «Медицина», 2005. – С. 308–320.
12. Elrod K. An evaluation of the mechanism of scopolamine-induced impairment in two passive avoidance protocols / K. Elrod, J. J. Buccafusco // Pharmacol. Biochem. Behav. – 1988. – V. 29, № 1. – P. 15–21.
13. Радионова К. С. Оригинальный ноотропный препарат «Ноопепт» устраняет дефицит памяти, вызванный блокадой М- и Н-холинорецепторов у крыс / К. С. Радионова, А. П. Бельник, Р. У. Островская // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2008. – Т. 146, № 1. – С. 65–68.
14. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідках // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2003. – № 2 (22). – С. 108–109.

15. Морозова О. Г. Метаболические аспекты патогенетической терапии церебральных осложнений сахарного диабета / О. Г. Морозова // Ліки України. – 2011. – № 2 (148). – С. 50–57.
16. Umegaki H. Neurocognitive dysfunction in old diabetes: management and treatment / H. Umegaki // Adv. Exp. Med. Biol. – 2012. – V. 771. – P. 465–470.
17. Increased risk of cognitive impairment in patients with diabetes is associated with metformin / E. M. Moore, A. G. Mander, D. Ames [et al.] // Diabetes Care. – 2013. – V. 36. – № 10. – P. 2981–2987.
18. Luteolin attenuates diabetes-associated cognitive decline in rats / Y. Liu, X. Tian, L. Gou [et al.] // Brain. Res. Bull. – 2013. – V. 94. – P. 23–29.
19. Маньковский Н. Б. Современный подход к терапии когнитивных нарушений. Нейрометаболическая терапия / Н. Б. Маньковский, Н. Ю. Бочинская. – К. : Библиотечка практикующего врача, 2005. – 47 с.

В. І. Жилук, В. Й. Мамчур

Дозозалежні ефекти метформіну та піоглітазону щодо процесів навчання та збереження умовної навички в щурів з алоксановим діабетом

Мета дослідження – визначення дозозалежного впливу пероральних цукровознижуючих препаратів на мнестичні функції за умов скополамін-індукованої амнезії в щурів з алоксановим діабетом.

Установлено, що метформін та піоглітазон при внутрішньошлунковому введенні виявляють помірну антиамнестичну активність при короткостроковому використанні (на етапі введення інформації) у низьких дозах. Так, наявність умовного рефлексу через 24 год після формування навички відмічалася на рівні 60 % ($p < 0,05$) у тварин, яким протягом 5 діб попередньо вводили метформін у дозі 250 мг/кг та піоглітазон – 5 мг/кг. Водночас указані засоби в усіх використаних дозах не забезпечували збереження набутої інформації при тривалому введенні. Установлено, що на 20 добу спостерігалось суттєве зниження показників латентного періоду умовної реакції пасивного уникнення в усіх групах відносно попереднього етапу дослідження, водночас рівень амнезії навички був наближений до показників активного контролю. При цьому використання гіпоглікемічних препаратів сприяло дозозалежному зниженню рівнів глікемії. Так, введення метформіну в дозах 250, 500 та 750 мг/кг призводило до зменшення значень цього показника на 14,8 ($p > 0,05$), 18,9 ($p < 0,05$) та 28,7 % ($p < 0,05$) відповідно. У свою чергу, під впливом піоглітазону в дозах 5, 10 та 15 мг/кг значення рівнів глюкози знижувалися на 14,8 ($p < 0,01$), 18,9 ($p < 0,01$) та 40,5% ($p < 0,01$) відповідно.

Таким чином, гіпоглікемічна терапія не чинить суттєвого впливу на амнестичні властивості скополаміну за умов експериментального діабету. Виявлені закономірності вказують на доцільність використання ноотропних та нейропротективних засобів при даній патології.

Ключові слова: метформін, піоглітазон, антиамнестична активність, алоксановий діабет

В. И. Жилук, В. И. Мамчур

Дозозависимые эффекты метформина и пиоглиитазона по отношению к процессам обучения и хранения условного навыка у крыс с аллоксановым диабетом

Цель исследования – определение дозозависимого влияния пероральных сахароснижающих средств на мнестические функции в условиях скополамин-индуцированной амнезии у крыс с аллоксановым диабетом.

Установлено, что метформин и пиоглитазон при внутрижелудочном введении проявляют умеренную антиамнестическую активность при кратковременном использовании (на этапе введения информации) в низких дозах. Так, наличие условного рефлекса через 24 ч после обучения зафиксировано на уровне 60 % ($p < 0,05$) у животных, которым на протяжении 5 дней предварительно вводили метформин в дозе 250 мг/кг и пиоглитазон – 5 мг/кг. При этом, указанные средства во всех исследуемых дозах не обеспечивали хранение информации при длительном введении. Установлено, что на 20 сут наблюдалось существенное снижение показателей латентного периода условной реакции пассивного избегания, при этом уровень амнезии приобретенного навыка приближался к показателям активного контроля. В тоже время, использование гипогликемических препаратов способствовало дозозависимому снижению уровней гликемии. Так, введение метформина в дозах 250, 500 и 750 мг/кг приводило к уменьшению этого показателя на 14,8 ($p > 0,05$), 18,9 ($p < 0,05$) и 28,7 % ($p < 0,05$) соответственно. В свою очередь, под влиянием пиоглитазона в дозах 5, 10 и 15 мг/кг уровень глюкозы снижался на 14,8 ($p < 0,01$), 18,9 ($p < 0,01$) и 40,5 % ($p < 0,01$) соответственно.

Таким образом, гипогликемическая терапия не оказывает существенного влияния на амнестические свойства скополамина в условиях экспериментального диабета. Выявленные закономерности указывают на целесообразность использования ноотропных и нейропротекторных средств при этой патологии.

Ключевые слова: метформин, пиоглитазон, антиамнестическая активность, аллоксановый диабет

V. I. Zhylyuk, V. I. Mamchur

Dose-dependent effects of metformin and pioglitazone in relation to process of training and conditional skill preservation in rats with alloxan diabetes

The aim of the study was to determine the dose-dependent effect of oral hypoglycemic drugs on the cognitive function in rats with alloxan diabetes and scopolamine-induced amnesia.

It has been established that metformin and pioglitazone in low doses during intragastric administration exhibit moderate anti-amnesic activity in short-term use (at information input stage). Thus, the presence of a conditioned reflex in 24 hours after the formation of a skill was recorded at the level 60 % ($p < 0,05$) in animals that previously were administered metformin 250 mg/kg and pioglitazone 5 mg/kg during 5 days. However, these drugs in all used doses did not ensure retention of acquired information of prolonged administration. It has been found that on the 20th day there was a significant decline in latency in all groups as compared to the previous phase of the study. The level of skill amnesia was close to indicators of active control. The use of hypoglycemic drugs promoted a dose-dependent decrease in blood glucose levels. Thus, the introduction of metformin 250 mg/kg, 500 mg/kg and 750 mg/kg resulted in a decrease of this index by 14,8 % ($p > 0,05$) and 18,9 % ($p < 0,05$) and 28,7 % ($p < 0,05$) respectively. In turn, under the influence of pioglitazone 5 mg/kg, 10 mg/kg and 15 mg/kg the glucose levels were decreased by 14,8 % ($p < 0,01$) and 18,9 % ($p < 0,01$) and 40,5 % ($p < 0,01$) respectively.

Thus, hypoglycemic therapy has no significant effect on amnesic properties of scopolamine in experimental diabetes. The data obtained indicate the expediency of nootropic and neuroprotective drugs in this pathology.

Key words: metformin, pioglitazone, anti-amnesic activity, alloxan diabetes

Надійшла: 16.09.2014 р.

Контактна особа: Жиліук Володимир Іванович, кандидат медичних наук, доцент, кафедра фармакології і клінічної фармакології, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», б. 9, вул. Дзержинського, м. Дніпропетровськ, 49044. Тел.: +38 056 713 55 53.
Електронна пошта: zhylyuk@ua.fm

Т. А. Кабанова, В. І. Павловський, О. І. Халімова, І. Ю. Ушаков,
Т. Л. Карасьова, С. А. Андронаті

Аналгетичні та протизапальні властивості 1-метоксикарбонілметил-3- ариламінобенздіазепін-2-онів

Фізико-хімічний інститут імені О. В. Богатського НАН України, м. Одеса

Ключові слова: 1-метоксикарбонілметил-3-ариламінобенздіазепін-2-они, аналгезія, карагінановий набряк, формаліновий тест

До числа найпоширеніших аналгетиків, що використовуються в клінічній практиці, відносяться нестероїдні протизапальні лікарські засоби (НПЛЗ) і опіоїдні аналгетики (похідні морфіну). На жаль, сучасні НПЛЗ мають низку виражених небажаних побічних ефектів (ульцерогенну дію, гепатотоксичність, нефротоксичність, гематотоксичність та ін.). Наркотичні (опіоїдні) аналгетики застосовують обмежено через їхню здатність викликати фізичну та психічну залежність.

Із 60-х років ХХ століття, коли бенздіазепіни були відкриті як анксиолітики, численні дослідження дозволили виявити нові біологічні мішені, з якими можуть взаємодіяти бенздіазепіни, та, відповідно, нові їхні впливи на фізіологічні й патологічні процеси в організмі, включаючи й нові ефекти, такі як аналгетичні, протизапальні й антигіпералгезивні (купірування надчутливості до болю). Експериментальні дані демонструють здатність деяких похідних бенздіазепінового ряду, а саме бенздіазепінів, селективних за підтипами ГАМК_A рецепторів, проявляти чітку антигіпералгезивну дію щодо запального та нейропатичного болю в моделях на тваринах [1]. З іншого боку, дослідниками компаній Merk і Elan Pharmaceuticals запатентовано серію 3-заміщених бенздіазепінів – антагоністів брадикінінових рецепторів, які виявляють високу аналгетичну і протизапальну активність *in vivo* [2, 3].

Мета дослідження – пошук сполук з аналгетичними властивостями серед нових 3-заміщених бенздіазепінонів і дослідження їхніх аналгетичних та протизапальних властивостей.

Матеріали та методи. Експерименти проводили на нелінійних білих щурах масою 240–260 г та нелінійних білих мишах масою 20–25 г. Тварин утримували в звичайних умовах віварію (їжа та вода *ad libitum*) на стандартному харчовому раціоні за природного світлового циклу.

Усі експериментальні дослідження здійснювали відповідно до методик, рекомендованих Комітетом з біоетики Державного фармакологічного центру МОЗ України та вимог «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та іншою науковою метою» (1986).

Статистична обробка експериментальних даних включала розрахунки середніх арифметичних значень (M), їхніх похибок ($\pm m$). Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами використовували критерій Стюдента (t). Показники ED_{50} розраховували за методом В. Б. Прозоровського [4].

Вивчення аналгетичної дії. Метод «оцтовокислих корчів». «Корчі» у мишей викликали 0,75 % водним розчином оцтової кислоти з розрахунку 0,1 мл на 10 г маси тіла тварини, який вводили внутрішньоочеревинно через 40 хв після внутрішньоочеревинного введення досліджуваних сполук. Внутрішньоочеревинне введення оцтової кислоти викликало синдром «корчення, судомні скорочення черевних м'язів, які супроводжувалися витяган-

ням задніх кінцівок і вигинанням спини (корчі) [5].

За реакцією мишей на введення оцтової кислоти спостерігали протягом 20 хв після введення подразника. Кожну мишу було розміщено в окрему прозору ємність. Під час спостереження підраховували загальне число нападів екстензорних судом (корчів).

Аналгетичну активність досліджуваних сполук оцінювали за їхньою здатністю зменшувати кількість корчів за обраний відрізок часу (20 хв) у дослідній групі тварин порівняно з групою контрольних тварин і виражали у відсотках. Розрахунок проводили за нижченаведеною формулою:

$$AA = (C_k \cdot C_d / C_k) \cdot 100 \%,$$

де AA – аналгетична активність, %;

C_k – середня кількість корчів у контрольній групі;

C_d – середня кількість корчів у дослідній групі.

Формаліновий тест. Формаліновий тест проводили на мишах. Досліджені сполуки та препарат порівняння диклофенак-натрію вводили внутрішньоочеревинно за 40 хв перед індукцією запалення. Контрольна група мишей одержувала еквівалентну кількість фізіологічного розчину в емульсії з Твін-80.

Утворення набряку провокували субплантарною ін'єкцією 3 % водного розчину формаліну об'ємом 0,01 мл за допомогою мікрошприца (20 мкл) з голкою 0,3 g у праву задню кінцівку тварин дослідних та контрольних груп. Одразу після ін'єкції розчину формаліну кожну тварину розміщували в прозорий бокс розміром 8 × 8 × 8 см із дзеркалом, орієнтованим під кутом 45°, щоб реєструвати положення лапок.

За підслідною твариною спостерігали протягом 40 хв, фіксуючи час, витрачений твариною на лизання набряклої кінцівки. Інтенсивність больової відповіді в першу й другу фази тесту оцінювали за кількістю та тривалістю патернів облизування (у с) набряклої лапи. Час облизування підсумовували для кожної тварини. Здатність досліджуваних сполук впливати на больову поведінку підслідних тварин у першій (больовій) фазі (перші 5 хв) і другій

(запальній) фазі (з 15 до 40 хв) визначали за зменшенням часу облизування набряклої кінцівки [9].

Вивчення протизапальних властивостей. Модель карагінанового набряку лапи щурів. Протизапальні властивості досліджуваних сполук вивчали на моделі карагінанового набряку стопи щурів. У дослідках використовували самців білих щурів масою 150–180 г. Перед введенням експериментальних речовин проводили вимірювання об'єму лапи щура, у яку в подальшому робили ін'єкції флогогену. Досліджувані сполуки та препарат порівняння диклофенак-натрію вводили внутрішньоочеревинно за 40 хв перед індукцією запалення. Контрольна група щурів одержувала еквівалентну кількість фізіологічного розчину в емульсії з Твін-80. Гостре асептичне запалення викликали введенням 1 % водного розчину λ -карагінану об'ємом 0,1 мл під плантарний апоневроз задньої кінцівки тварин дослідних та контрольних груп [6, 7]. Виразність запальної реакції оцінювали через 2 та 4 год після введення флогогену. Реєстрацію величини набряку здійснювали за допомогою механічного вимірювання об'єму стоп за А. С. Захаревським та виражали в умовних одиницях [8]. Про ступінь набряку судили за різницею об'ємів набряклої стопи та стопи перед індукцією запалення.

Результати та їх обговорення. Зважаючи на наявність у науковій літературі даних про те, що 3-заміщені 1,2-дигідро-3H-1,4-бенздіазепіни проявляють значну аналгетичну активність [1–3, 10–12], з метою пошуку нових аналгетиків у відділі медичної хімії Фізико-хімічного інституту імені О. В. Богатського НАН України здійснено синтез 1-метоксикарбонілметил-7-бром-5-феніл-3-ариламіно-1,2-дигідро-3H-1,4-бенздіазепін-2-онів – сполуки 1-10 (табл. 1) [13, 14].

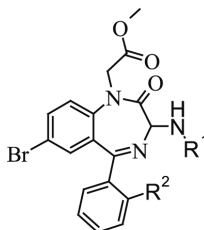
Знайдені показники ED_{50} 3-ариламіно похідних за аналгетичною активністю знаходилися в діапазоні від 0,007 до 0,670 мг/кг, при цьому всі тестовані сполуки перевищували за аналгетичною активністю диклофенак-натрію в дозі ED_{50} (експериментально знайдене значення ED_{50} дорівнює $10,0 \pm 1,8$ мг/кг).

Вихідна сполука **1**, яка містить у третьому положенні залишок аніліну, виявила помірну аналгетичну активність (0,670 мг/кг, табл. 1). При введенні замісників до анілінового фраг-

мента (сполуки **2–10**) аналгетична активність підвищилась, і показники ЕД₅₀ знизилися тою чи іншою мірою, залежно від природи та положення замісника в аніліновому фрагменті.

Таблиця 1

Аналгетична активність 1-метоксикарбонілметил-7-бром-5-феніл-3-ариламіно-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-онів за методом «корців», викликаних введенням оцтової кислоти, у дослідях in vivo на мишах



№	R ¹	R ²	ЕД ₅₀ , мг/кг
1		H	0,670 ± 0,120
2		H	0,100 ± 0,030
3		H	0,250 ± 0,120
4		H	0,540 ± 0,080
5		Cl	0,060 ± 0,030
6		Cl	0,090 ± 0,050
7		Cl	0,070 ± 0,030
8		H	0,220 ± 0,070
9		H	0,007 ± 0,018
10		H	0,030 ± 0,008
Диклофенак натрію			10,000 ± 1,800

Таким чином, наявність замісників в аніліновому фрагменті досліджених сполук поза всякими сумнівами робить позитивний внесок в аналгетичну активність, яку ці сполуки проявили на моделі «корчів», викликаних введенням оцтової кислоти, у мишей.

Слід зазначити вплив на аналгетичну активність того, у якому положенні (*орто*-, *мета*- або *пара*-) знаходиться замісник в ариламінному фрагменті.

Якщо розглянути сполуки 2–4 з нітрогрупою в положенні *орто*-, *мета*- або *пара*- відповідно та фенільний замісник у п'ятому положенні бенздіазепінового ядра, можна відмітити, що показники аналгетичної активності розташовуються в порядку *пара*-< *мета*-< *орто*-NO₂ (табл. 1), причому аналог з нітрогрупою в *орто*-положенні є в два рази активнішим, ніж аналог з нітрогрупою в *мета*-положенні, при переміщенні нітрогрупи в *пара*- положення активність знижується ще в два рази.

Що стосується сполук 5–7, котрі відрізняються від сполук попередньої групи наявністю *орто*-хлорфенільного замісника в п'ятому положенні бенздіазепінового ядра, різниця у величинах показників ЕД₅₀ за аналгетичною активністю цих аналогів є незначною, хоча загалом активність представників

цієї групи є вищою порівняно з представниками попередньої групи сполук.

Що стосується сполук 8–10, то найкращий результат щодо аналгетичної активності дає *мета*-положення метоксикарбонільної групи в аніліновому фрагменті (сполука 9). Ця сполука має найвищий показник аналгетичної активності (ЕД₅₀ дорівнює 0,007 мг/кг) серед усіх досліджених представників 1-метоксикарбонілметил-7-бром-5-феніл-3-ариламіно-1,2-дигідро-3*H*-1,4-бенздіазепін-2-онів.

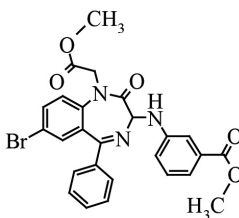
У результаті аналізу даних вищеписаного тестування виявлено найактивнішу сполуку, для якої проведено додаткові дослідження в тестах карагінанового набряку лапи щурів на протизапальну активність, а також формалінового набряку лапи мишей для виявлення дії на першу (больову) і другу (запальну) фази больової поведінки тварин.

Проведені нами дослідження показали, що 1-метоксикарбонілметил-7-бром-5-феніл-3-(3-метоксикарбонілфеніл)аміно-1,2-дигідро-3*H*-1,4-бенздіазепін-2-он (9) помірно знижував розмір набряку, викликаного введенням карагінану в лапу щура (табл. 2).

У дозі 10 мг/кг сполука 9 знижувала більше ніж на 40 % утворення набряку через 2 год після введення карагінану в

Таблиця 2

Протизапальні властивості сполуки-лідера 1-метоксикарбонілметил-7-бром-5-феніл-3-(3-метоксикарбонілфеніл)аміно-1,2-дигідро-3*H*-1,4-бенздіазепін-2-ону (9), ($M \pm m$)



Найменування	Карагінановий набряк			Формаліновий тест		
	Об'єм лапи, у. о.			Час лизання лапи, с		
	Доза, мг/кг	2 год	4 год	Доза, мг/кг	I фаза	II фаза
Контроль	–	2,20 ± 0,30	2,50 ± 0,30	–	59,2 ± 5,3	142,5 ± 11,4
Сполука 9	10,0	1,27 ± 0,15*	2,10 ± 0,25	0,1	19,6 ± 2,9*	101,6 ± 1,4*
Диклофенак натрію	10,0	0,94 ± 0,13*	1,07 ± 0,17*	10,0	29,0 ± 3,2*	66,1 ± 7,9*

Примітка. $P < 0,05$ – вірогідна різниця параметрів відносно контролю.

лапу щура, через 4 год показник знижувався до 16 %.

З використанням формалінового тесту в дослідях *in vivo* на мишах досліджено вплив сполуки-лідера **9** на больову поведінку тварин (табл. 2).

Сполука **9** у дозі 0,1 мг/кг мала більшу активність, ніж диклофенак-натрію, узятий у дозі 10 мг/кг, у першій больовій фазі формалінового тесту, у другій запальній фазі вона поступалася референтному препарату за здатністю впливати на больову поведінку тварин за умов патології.

Висновки

1. Уперше вивчено анальгетичну активність у 10 нових похідних 3-ариламіно-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-онів (сполуки 1–10) *in vivo* за методом «корчів», викликаних введенням оцтової кислоти мишам.

Для всіх досліджених сполук встановлено показники ЕД₅₀, які знаходяться в діапазоні 0,007–0,670 мг/кг. Виявлено сполуки, які мають показники анальгетичної активності вищі за показники диклофенак-натрію.

2. Виявлено залежність показників анальгетичної активності представників даного ряду від природи та положення (*орто*-, *мета*-, *пара*-) замісників у фрагменті, що знаходиться в третьому положенні бенздіазепінового гетероциклу.

3. Визначено протизапальну активність сполуки-лідера (**9**) у дозі 10 мг/кг на моделі карагінанового набряку в щурів, порівняну з активністю диклофенак-натрію в дозі 10 мг/кг.

4. Встановлено здатність сполуки **9** у дозі 0,1 мг/кг виразно пригнічувати больову поведінку мишей у першій (больовій) і в другій (запальній) фазах «формалінового набряку».

1. Zeilhofer H. U. Chronic pain states: pharmacological strategies to restore diminished inhibitory spinal pain control / Zeilhofer H. U., Benke D., Yevenes G. E. // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. – 2012. – V. 52. – P. 111–133.
2. WO 2006/071775 US, A2 C07D 403/14, Novel compounds useful for bradykinin B1 receptor antagonism, Elan Pharmaceuticals, INC., Publ. 06.07.2006.
3. WO 02/099388 US, A2 G01N, Benzodiazepine bradykinin antagonists, Merck & CO., Publ. 12.12.2002.
4. Прозоровский В. Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований / Прозоровский В. Б. // Психофармакология и биологическая наркология. – 2007. – Т. 7. – № 3–4. – С. 2090–2120.
5. Гацура В. В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ / Гацура В. В. – М.: Медицина, 1974. – С. 130.
6. Тринус Ф. П. Нестероидные противовоспалительные средства / Тринус Ф. П., Мохорт Н. А., Клебанов Б. М. – Киев, 1975. – С. 204–231.
7. Winter C. A. Carrageenan induced oedema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs / Winter C. A., Risley E. A., Nuss G. V. // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. – 1962. – V. 111. – P. 544–547.
8. Захаревский А. С. Влияние некоторых производных индола на нервную систему / Дисс. канд. мед. наук.; Захаревский А. С. – Минск, 1969. – С. 78–80.
9. The formalin test: an evaluation of the method / Tjolsen A., Berge O.-G., Hunskaar S. [et al] / Pain. – 1992. – V. 51. – P. 5–17.
10. *In vivo* evaluation of substituted 3-amino-1,4-benzodiazepines as anti-depressant, anxiolytic and anti-nociceptive agents / Lattmann E., Lattmann P., Boonprakob Y. [et al.] // Arzneimittelforschung. – 2009. – V. 59, № 2. – P. 61–71.
11. Синтез, анальгетическая и противовоспалительная активность новых производных бензодиазепина / Наджафа Н., Пирали М., Даулатбади Р., [и др.] // Хим.-фарм. журн. – 2005. – V. 30, № 12. – С. 21–23.
12. Analgesic effects of 3-substituted derivatives of 1,4-benzodiazepines and their possible mechanisms / Pavlovsky V. I., Tsybalyuk O. V., Martynyuk V. S. [et al.] // Neurophysiology. – 2013. – V. 45, № 5/6. – P. 427–432.
13. Павловський В. І., Кабанова Т. А., Халімова О. І., Ушаков І. Ю., Андронаті С. А. Застосування 1-метоксикарбонілметил-7-бром-5-феніл-3-ариламіно-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-онів як анальгетичних засобів // Пат. 103803, МПК (2013) C07D 243/14, 243/26, 243/24, 209/00 – заявник та власник патенту Фізико-хімічний інститут імені О. В. Богатського НАН України. – № а 201114668; заявл. 12.12.2011; опубл. 25.01.2013. Бюл. № 22.
14. Павловський В. І., Ушаков І. Ю., Андронаті С. А., Кабанова Т. А., Халімова О. І. 7-бром-5-феніл-3-ариламіно-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-они як анальгетичні агенти // Пат. 105703, МПК (2014) C07D 243/14, 243/06, 243/16, 209/00. – заявник та власник патенту Фізико-хімічний інститут імені О. В. Богатського НАН України. – № а 2012 13432; заявл. 26.11.2012; опубл. 10.06.2014, Бюл. № 11.

**Т. А. Кабанова, В. І. Павловський, О. І. Халімова, І. Ю. Ушаков,
Т. Л. Карасьова, С. А. Андронаті**

Аналгетичні та протизапальні властивості 1-метоксикарбонілметил-3-ариламінобенздіазепін-2-онів

Мета дослідження – вивчення аналгетичних властивостей раніше синтезованих 1-метоксикарбонілметил-3-ариламінобенздіазепін-2-онів.

Аналгетичну активність вивчали в дослідях на мишах за методами «корчів», викликаних внутрішньоочеревинним введенням оцтової кислоти, і в формаліновому тесті. Протизапальну активність вивчали в дослідях на щурах на моделі карагінанового набряку. Як препарат порівняння використовували диклофенак-натрій. Усі сполуки вводили внутрішньоочеревинно.

Знайдено високу аналгетичну активність нових сполук ряду 3-ариламіно-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-онів, показники ED_{50} за аналгетичною активністю були в діапазоні від 0,007 до 0,670 мг/кг, при цьому всі тестовані сполуки перевищували за аналгетичною активністю препарат порівняння диклофенак-натрій.

Слід відмітити деякі закономірності залежності аналгетичної активності 3-ариламіно похідних від їхньої структури, а саме позитивний вплив на аналгетичну активність положення (о-, м- або п-) і природи замісника в ариламінінному фрагменті.

Виявлено найактивнішу сполуку 9 з показником ED_{50} $0,007 \pm 0,018$ мг/кг за аналгетичною активністю в тесті «оцтовокислих корчів» на мишах.

На моделі карагінанового набряку лапи щура (протизапальна активність) сполука 9 у дозі 10 мг/кг знижувала більш ніж на 40 % утворення набряку через 2 год після введення карагінану, через 4 год показник знижувався до 16 %. У формаліновому тесті сполука 9 у дозі 0,1 мг/кг знижувала показник больової поведінки мишей у першій та другій фазах тесту на 66,9 % та 28,7% відповідно.

Отримані дані свідчать про перспективність сполук вивченого ряду для пошуку і створення нових ефективних аналгетичних і протизапальних засобів.

Ключові слова: 1-метоксикарбонілметил-3-ариламінобенздіазепін-2-они, аналгезія, карагінановий набряк, формаліновий тест

**Т. А. Кабанова, В. И. Павловский, Е. И. Халимова, И. Ю. Ушаков,
Т. Л. Карасева, С. А. Андронати**

Анальгетические и противовоспалительные свойства 1-метоксикарбонилметил-3-ариламинобенздиазепин-2-онов

Цель исследования – изучение анальгетических свойств ранее синтезированных 1-метоксикарбонилметил-3-ариламинобенздиазепин-2-онов.

Анальгетическую активность изучали в опытах на мышах по методам «корчей», вызванных внутрибрюшинным введением уксусной кислоты, и в формалиновом тесте. Противовоспалительную активность изучали в опытах на крысах по методу каррагинанового отека. В качестве препарата сравнения использовали диклофенак-натрий. Все соединения вводили внутрибрюшинно.

Обнаружена высокая анальгетическая активность новых соединений ряда 3-ариламино-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов, показатели ED_{50} по анальгетической активности находятся в диапазоне доз от 0,007 до 0,670 мг/кг, при этом все тестируемые соединения превышали по анальгетической активности препарат сравнения диклофенак-натрий.

Можно отметить некоторые закономерности зависимости анальгетической активности 3-ариламино производных от их структуры, а именно влияние на анальгетическую активность положения (о-, м- или п-) и природы заместителя в ариламинном фрагменте.

Виявлено найбільш активне соединение 9 с показателем ED_{50} , равным $0,007 \pm 0,018$ мг/кг, по анальгетической активности в тесте «уксуснокислых корчей» на мышах.

На модели каррагинанового отека лапы крысы (противовоспалительная активность) соединение 9 в дозе 10 мг/кг уменьшает более чем на 40 % образование отека через 2 ч после введения каррагинана, через 4 ч показатель снижался до 16 %. В формалиновом тесте соединение 9 в дозе 0,1 мг/кг снижало показатель болевого поведения мышей в первой и второй фазах теста на 66,9 % и 28,7 %, соответственно.

Полученные данные свидетельствуют о перспективности соединений изученного ряда для поиска и создания новых эффективных анальгетических и противовоспалительных средств.

Ключевые слова: 1-метоксикарбонилметил-3-ариламинобенздиазепин-2-оны, аналгезия, каррагинановый отек, формалиновый тест

**T. A. Kabanova, V. I. Pavlovsky, E. I. Khalimova, I. Yu. Ushakov,
T. L. Karaseva, S. A. Andronati**

Analgesic and anti-inflammatory properties of 1-methoxycarbonylmethyl-3-arylaminobenzodiazepine-2-ones

The aim of work is to study the analgesic properties of previously synthesized 1-methoxycarbonylmethyl-3-arylaminobenzodiazepine-2-ones.

Analgesic activity was studied on mice on the model of «writhing» caused by intraperitoneal injection of acetic acid solution and in formalin test. Anti-inflammatory activity was studied on the model of carrageenan-induced paw edema on rats. The diclofenac-sodium was used as the standard preparation. All compounds were administrated intraperitoneally.

There was found a high analgesic activity for the novel compounds of 3-arylmino-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepine-2-ones series, ED₅₀ indices for analgesic activity were in the dose range from 0,007 to 0,670 mg/kg, all tested compounds by analgesic activity values exceeded reference preparation, diclofenac-sodium.

It may be noted some regularities of the dependance of analgesic activity values for 3-arylmino derivatives from their structure, namely the influences on analgesic activity of position (*o*-, *m*- or *p*-), and the substituent nature in the arylamine moiety.

The most active compound 9 with a ED₅₀ value of 0,007 ± 0,018 mg/kg for analgesic activity in the «acetic writhings» test on mice was revealed.

At the carrageenan paw edema model in rats (anti-inflammatory activity) compound 9 in a dose of 10 mg/kg reduced edema formation by more than 40 % within 2 hours after carrageenan administration in the rat paw, after 4 hours the value of edema decrease falls to 16 %. In the formalin test, compound 9 at a dose of 0,1 mg/kg decreased the ratio of the nociceptive behavior of mice in the first and second phases of the test of 66,9 % and 28,7 %, respectively.

The data obtained indicate that 1-methoxycarbonylmethyl-3-arylaminobenzodiazepin-2-ones are perspective for search and creation of new effective analgesic and anti-inflammatory agents.

Key words: 1-methoxycarbonylmethyl-3-arylaminobenzodiazepin-2-ones, analgesia, carrageenan edema, formalin test

Надійшла: 03.10.2014 р.

Контактна особа: Павловський Віктор Іванович, кандидат хімічних наук, відділ медичної хімії, Фізико-хімічний інститут імені А. В. Богатського Національної академії наук України, буд. 86, Любдорфська дорога, Одеса, 65080. Тел.: +38 0 48 765 92 30.
Електронна пошта: medchem_department@ukr.net

Р. О. Кальчук

Профілактичне та лікувальне застосування тіоцетаму для корекції гострого запалення слизової оболонки порожнини рота за умов іммобілізації в експерименті

Харківський національний медичний університет

Ключові слова: слизова оболонка порожнини рота, запалення, іммобілізаційний стрес, тіоцетам, профілактика, лікування

Одним з поширених патологічних станів є запалення слизової оболонки порожнини рота (СОПР), а захворювання пародонта залишаються найрозповсюдженішими в стоматологічній практиці [1, 2]. Серед відомих етіологічних факторів хронічного генералізованого пародонтиту вказують на соціальні чинники, які за умов сучасного життя зумовлюють патологічний стресовий стан. З огляду на те, що запалення за всією своєрідністю являє собою один із видів стресу [3], викликане ним емоційне напруження завжди створює в організмі несприятливий фон, що підтримує або підсилює патологічний процес. Виходячи з цього, у комплексній фармакотерапії стоматологічних захворювань запального генезу може бути доцільним застосування стрепсепротекторів загальної дії [4, 5].

Із антистресових засобів нині привертають увагу нейрометаболічні препарати комбінованого складу [6], а саме – тіоцетам, захисна роль якого проявляється й при запаленні СОПР стресового генезу [7].

Мета дослідження – оцінити ефективність профілактичного та лікувального застосування тіоцетаму для корекції гострого запалення СОПР за умов стресу в експерименті.

Матеріали та методи. Роботу виконано на 24 безпорідних білих щурах-самцях масою 155–220 г віком 3 місяці, розподілених на 4 групи по 6 особин у кожній: 1 – інтактний контроль, 2 – модельна патологія, 3 і 4 – застосуван-

ня тіоцетаму в профілактичному та лікувальному режимах щодо патології.

Моделювання запально-стресової патології відтворювали поєднанням 5-хв втирання під тіопенталовим наркозом (60 мг/кг внутрішньоочеревинно) 4 % розчину їдкого натрію в щелепно-альвеолярну ділянку СОПР на рівні різців та іммобілізації тварин у клітках-пеналах протягом 20 год. Показниками профілактичної та лікувальної дії тіоцетаму були місцеві та загальні прояви запалення: стан СОПР у балах (1–3), які відображають ступінь візуальних ознак запалення, дані термометрії, кількість лейкоцитів крові, активність ЛДГ крові, яка свідчить про ступінь цитолізу, та вагу тварин. Функціональний стан СОПР оцінювали за даними, визначеними в її гомогенатах, які одержували відповідно до методики [8] за біохімічними показниками окиснювальної рівноваги між продуктами ПОЛ – дієновими кон'югатами (ДК), малоновим діальдегідом (МДА) й активністю антиоксидантних ферментів – супероксиддисмутази (СОД), каталази (КЛ), а також за вмістом сумарного метаболіту NO, SH-груп і глікогену. Такі самі показники визначали в крові, за винятком глікогену, замість якого визначали рівень глюкози. Про нейрогормональну регуляцію судили за типовими показниками гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи (ГГНС): вагові коефіцієнти (ВК) тимуса, селезінки та наднирників, уміст у них аскорбінової кислоти (АК), рівень кортикостерону та кількості еозинофілів у крові, стан слизової оболонки шлунка (СОШ) [9]. Тіоцетам (Галичфарм, Україна) у дозі 250 мг/кг [10] вводили внутрішньошлунково за допомогою мета-

левого зонда щодобово 4 рази до (профілактична дія – ПД) або 4 рази після моделювання (лікувальна дія – ЛД) поєднаної патології. Усі маніпуляції на тваринах проводили з дотриманням сучасних національних та міжнародних вимог з біоетики (Страсбург, 1986 р.; Київ, 2003 р.).

Одержаний цифровий матеріал оцінювали статистично порівняно із інтактним контролем і модельною патологією методом варіаційного ряду за тестом t-Стюдента з поправкою Бонфероні [11].

Результати та їх обговорення. Тіоцетам, незалежно від режиму застосування, зменшує прояви запалення СОПР, які на фоні модельної патології проявлялися гіперемією, набряком, крововиливами та утворенням поодиноких виразок, що відповідає 3 балам. Аналіз кожної серії дослідів показав, що при попередньому введенні препарат відновлює стан СОПР у 4 із 6 тварин у групі (у середньому до 0,3 бала), а при наступному – у 2 із 6 (0,67 бала). У інших тварин вираженість запалення через 1 добу зменшується до 1 бала і проявляється меншим ступенем гіперемії та набряку, відсутністю виразок. Крововиливи при ПД – теж відсутні, а при ЛД набувають характеру поодиноких і крапчастих.

Із загальних ознак запалення (табл. 1) ПД супроводжується меншою втратою ваги, відсутністю гіпертермії, лейкоцитозу та зменшенням активності ЛДГ, що свідчить про послаблення цитолізу, можливо, за рахунок проти-запального ефекту. Дані цієї самої таблиці свідчать про те, що за умов ЛД тіоцетаму вивчені показники запалення СОПР змінюються в тому самому напрямі, але порівняно із інтактним контролем залишаються ще статистично достовірними.

Така сама закономірність спостерігається й щодо біохімічних показників у СОПР (табл. 2), які при ПД відновлюються всі, за винятком умісту сумарного метаболіту NO, а при ЛД уміст ДК, активність СОД, рівні сумарного метаболіту NO та SH-груп у крові, – не досягають контролю. За умов лікувального застосування фармакологічна активність тіоцетаму менша, ніж за профілактичного.

Дані, представлені в таблиці 3, свідчать про те, що тіоцетам, застосований з метою профілактики, попереджає емоціональну напругу щурів за всіма дослідженими показниками ГГНС та оксидативного стресу. За умов лікувальної дії тіоцетам тільки частково відновлює показники нейрогормональної регуляції.

Таблиця 1

Місцеві та загальні ознаки запалення у щурів за умов патології та застосування тіоцетаму ($M \pm m$)

Досліджений показник	Умови дослідів, n = 6			
	Інтактний контроль	Запалення + іммобілізація	Профілактика тіоцетамом	Лікування тіоцетамом
Стан СОПР, бал	0	2,50 $\pm$ 0,22 [§]	0,30 $\pm$ 0,21 [#]	0,67 $\pm$ 0,21 [#]
Маса тіла, г				
– вихідна	189,20 $\pm$ 6,51	191,70 $\pm$ 6,15	220,00 $\pm$ 4,28 ^{§ #}	234,20 $\pm$ 5,98 ^{§ #}
– кінцева	189,20 $\pm$ 6,51	164,20 $\pm$ 7,46 ^{* §}	192,50 $\pm$ 2,14 ^{* #}	199,30 $\pm$ 2,14 ^{* #}
– різниця, г (%)	0 (0)	-27,5* (14,3)	-27,5* (12,5)	-35,0* (14,9)
Температура, °C				
– місцева	36,70 $\pm$ 0,10	37,80 $\pm$ 0,08 [§]	37,10 $\pm$ 0,10 ^{§ #}	37,30 $\pm$ 0,08 ^{§ #}
– загальна	36,60 $\pm$ 0,08	37,50 $\pm$ 0,06 [§]	36,60 $\pm$ 0,09 [#]	37,70 $\pm$ 0,15 [§]
Лейкоцити, $\cdot 10^9$ /л	3,90 $\pm$ 0,21	5,68 $\pm$ 0,20 [§]	3,87 $\pm$ 0,21 [#]	5,10 $\pm$ 0,17 [§]
ЛДГ, Од/л	308,9 $\pm$ 17,2	694,00 $\pm$ 20,6 [§]	317,8 $\pm$ 17,8 [#]	426,3 $\pm$ 12,7 ^{§ #}

Примітка. *p < 0,05 відносно вихідного фону, §p < 0,05 відносно інтактного контролю,

#p < 0,05 відносно поєднаної патології.

Показники функціонального стану слизової оболонки порожнини рота в щурів за умов патології та застосування тіоцетаму ($M \pm m$)

Досліджений показник	Умови досліджу, n = 6			
	Інтактний контроль	Запалення + іммобілізація	Профілактика тіоцетамом	Лікування тіоцетамом
ДК, ммоль/г	13,50 ± 0,70	31,40 ± 2,53*	13,70 ± 0,95 [§]	19,60 ± 1,50* [§]
МДА, мкмоль/г	7,58 ± 0,18	14,40 ± 1,17*	8,60 ± 0,30 [§]	8,70 ± 0,54 [§]
СОД, у. о.	5,06 ± 0,15	3,43 ± 0,11*	5,00 ± 0,07 [§]	4,40 ± 0,11* [§]
Каталаза, у. о.	3,65 ± 0,18	1,89 ± 0,20*	3,60 ± 0,17 [§]	3,30 ± 0,14 [§]
NO, мкмоль/г	20,60 ± 1,39	61,30 ± 1,77*	31,10 ± 1,64* [§]	39,10 ± 3,12* [§]
SH-гр., мкмоль/г	5,68 ± 0,22	3,17 ± 0,19*	5,10 ± 0,09 [§]	4,70 ± 0,19* [§]
Глікоген, мг/г	29,90 ± 2,20	14,10 ± 0,60*	26,60 ± 1,95 [§]	25,40 ± 1,87 [§]

Примітка. *p < 0,05 відносно інтактного контролю, §p < 0,05 відносно поєднаної патології.

Співставлення ефектів тіоцетаму за вивчених режимів застосування показало його перевагу як засобу профілактики (він відновив 24 показники проти 15 за умов лікування, включаючи й прояви запалення).

Таким чином, тіоцетам за обох режимів застосування виявляє антистресову

активність, яка суттєво відбивається на перебігу запалення СОПР у щурів, прискорюючи його загоювання. Аналіз впливу тіоцетаму на регуляторні механізми емоційного напруження щурів, за даними обох проведених серій дослідів, свідчить про те, що його стреспротекторна дія зумовлена фармакодина-

Показники нейрогормональних та метаболічних процесів у крові щурів із поєднаною патологією за умов профілактичної та лікувальної дії тіоцетаму ($M \pm m$)

Досліджений показник	Умови досліджу, n = 6			
	Інтактний контроль	Запалення + іммобілізація	Профілактика тіоцетамом	Лікування тіоцетамом
ГГНС				
ВК тимуса	0,146 ± 0,009	0,106 ± 0,010*	0,146 ± 0,006 [§]	0,131 ± 0,005* [§]
ВК пр. надн.	0,019 ± 0,001	0,035 ± 0,002*	0,021 ± 0,002 [§]	0,025 ± 0,002 [§]
ВК лів. надн.	0,020 ± 0,001	0,037 ± 0,003*	0,020 ± 0,001 [§]	0,021 ± 0,001 [§]
ВК селезінки	0,539 ± 0,015	0,245 ± 0,016*	0,505 ± 0,007 [§]	0,482 ± 0,006* [§]
АК у надн., ммоль/г	23,30 ± 0,75	16,40 ± 0,37*	22,70 ± 0,49 [§]	21,10 ± 0,73* [§]
Кортикостерон у крові, нмоль/л	44,50 ± 0,76	94,10 ± 1,27*	47,00 ± 1,38 [§]	51,40 ± 2,46 [§]
Еозинофіли, ·10 ⁶ /л	218,20 ± 6,82	53,20 ± 2,64*	199,2 ± 4,0 [§]	176,80 ± 5,24* [§]
Стан СОШ, бал	0	2,50 ± 0,22*	0,30 ± 0,22 [§]	0,50 ± 0,22* [§]
Метаболічні процеси				
ДК, ммоль/л	12,60 ± 0,25	30,90 ± 2,52*	12,10 ± 0,83 [§]	17,30 ± 1,33* [§]
МДА, кмоль/л	7,00 ± 0,21	17,00 ± 1,16*	7,60 ± 0,26 [§]	7,60 ± 0,47 [§]
СОД, у. о.	4,60 ± 0,11	3,25 ± 0,11*	5,60 ± 0,08* [§]	4,90 ± 0,13 [§]
Каталаза, у. о.	3,50 ± 0,13	1,80 ± 0,18*	4,10 ± 0,19 [§]	3,70 ± 0,16 [§]
NO, мкмоль/л	29,00 ± 1,71	61,90 ± 1,78*	28,30 ± 1,50 [§]	35,60 ± 2,84* [§]
SH-гр., мкмоль/л	5,60 ± 0,23	3,01 ± 0,18*	5,60 ± 0,10 [§]	5,10 ± 0,21 [§]
Глюкоза, ммоль/л	4,10 ± 0,25	6,55 ± 0,29*	4,10 ± 0,06 [§]	4,22 ± 0,08 [§]

Примітка. *p < 0,05 відносно інтактного контролю,

§p < 0,05 відносно поєднаної патології (запалення СОПР + іммобілізація).

мічними властивостями препаратів, які входять до його складу. Ноотропний компонент – пірацетам, завдяки своїм центральним судинно-метаболічним ефектам та тропності до ЦНС, впливає переважно на нейрогормональні показники, а метаболічна складова – тіотриазолін за рахунок антиоксидантних властивостей нормалізує локальну й загальну окиснювальну рівновагу.

Висновки

1. Тіоцетам (250 мг/кг) – новий комбінований стреспротектор нейрометаболічної дії покращує перебіг запалення слизової оболонки порожнини рота та стан нейрогуморальної регуляції в щурів за умов іммобілізаційного стресу.

2. Профілактичне застосування тіоцетаму за протизапальною та антистрессовою дією переважає його лікувальну ефективність.

1. Мхитарян А. К. Вопросы организации профилактики стоматологических заболеваний и взаимосвязь между состоянием тканей пародонта и уровнем индивидуальной гигиены полости рта / А. К. Мхитарян, Н. В. Агранович // Российский стоматологический журнал. – 2014. – № 2. – С. 51–53.
2. Parwani R. Does stress predispose to periodontal disease? / R. Parwani, S. R. Parwani // Dent. Update. – 2014. – V. 41, Issue 3. – P. 260–272.
3. Барабой В. А. Фізіологія, біохімія і психологія стресу / В. А. Барабой, О. Г. Резніков. – К. : Інтерсервіс, 2013. – 314 с.
4. Цепов Л. М. Заболевания пародонта: взгляд на проблему / Л. М. Цепов. – М. : МЕДпресс-информ, 2006. – 192 с.
5. Psychological distress and social support are determinants of changing oral health status among an immigrant population from Ethiopia / Y. Vered, V. Soskolne, A. Zini [et al.] // Community Dent. Oral. Epidemiol. – 2011. – V. 2. – P. 145–153.
6. Метаболитотропные препараты / И. А. Мазур, И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев [и др.]. – Запорожье, 2007. – 309 с.
7. Кальчук Р. О. Сравнительная антистрессовая активность комбинированного средства тиоцетама и его составляющих в условиях сочетанного действия воспаления и иммобилизации в эксперименте / Р. О. Кальчук, Л. Т. Киричек // Экспериментальна і клінічна медицина. – 2013. – № 2 (59). – С. 42–45.
8. Лабораторные методики для изучения состояния антиоксидантной системы и уровня перекисного окисления липидов / Н. Г. Щербань, Т. В. Горбач, Н. Р. Гусева [и др.]. – Харьков : ХГМУ, 2004. – 36 с.
9. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації; за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – С. 257–471.
10. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности / Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев // Ж. АМН СССР. – 1979. – Т. 247, № 6. – С. 1513–1516.
11. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц : пер. с англ. – М. : Практика, 1998. – 459 с.

Р. О. Кальчук

Профілактичне та лікувальне застосування тіоцетаму для корекції гострого запалення слизової оболонки порожнини рота за умов іммобілізації в експерименті

Мета дослідження – оцінка ефективності профілактичного та лікувального застосування тіоцетаму (комбінованого препарату, що містить пірацетам та тіотриазолін у пропорції 4:1 відповідно) для корекції гострого запалення слизової оболонки порожнини рота (СОПР) за умов іммобілізації в експерименті.

Досліди проводили на 24 безпородних білих щурах-самцях масою 155–220 г, яких було розподілено на 4 групи: 1 – інтактний контроль, 2 – модельна патологія (іммобілізаційний стрес, поєднаний з запаленням СОПР), 3 та 4 – тварини з модельною патологією та щоденним (1 раз на добу протягом 4 діб) застосуванням тіоцетаму до моделювання патології (профілактичний режим) та після моделювання патології (лікувальний режим). Реєстрували місцеві та загальні прояви запалення, функціональний стан СОПР, показники нейрогормональної регуляції та стану окисно-антиоксидантного гомеостазу. Тіоцетам (Галичфарм, Україна) у дозі 250 мг/кг вводили внутрішньощлунково металевим зондом 4 рази (1 раз на добу протягом 4 діб) до (профілактика) або після (лікування) моделювання поєднаної патології.

Встановлено, що тіоцетам за обох режимів застосування виявляє антистрессову активність, яка суттєво відбивається на перебігу запалення СОПР у щурів, зменшуюючи його прояви, особливо за

умов профілактики. Аналіз впливу тіоцетаму на регуляторні механізми емоційного напруження в щурів за даними обох проведених серій дослідів свідчить про те, що його коригуюча дія зумовлена фармакодинамічними властивостями препаратів, які входять до його складу. Ноотропний компонент — пірацетам, завдяки своїм центральним судинно-метаболічним ефектам, впливає переважно на показники нейрогормонального статусу, а тіотріазолін за рахунок антиоксидантних властивостей нормалізує окиснювальну рівновагу.

Таким чином, новий комбінований стреспротектор нейрометаболічної дії тіоцетам (250 мг/кг) покращує перебіг запалення слизової оболонки порожнини рота та стан нейрогуморальної регуляції в щурів за умов іммобілізаційного стресу. Профілактичне застосування тіоцетаму за протизапальною та антистресовою дією переважає його лікувальну ефективність, що може бути використано в медичній практиці.

Ключові слова: слизова оболонка порожнини рота, запалення, іммобілізаційний стрес, тіоцетам, профілактика, лікування

Р. О. Кальчук

Профилактическое и лечебное применение тиоцетама для коррекции острого воспаления слизистой оболочки полости рта при иммобилизации в эксперименте

Цель исследования – оценка эффективности профилактического и лечебного применения тиоцетама (комбинированного препарата, содержащего пирacetam и титотриазолин в пропорции 4:1 соответственно) для коррекции острого воспаления слизистой оболочки полости рта (СОПР) в условиях иммобилизации в эксперименте.

Опыты проводили на 24 беспородных белых крысах-самцах массой 155–220 г, которые были распределены на 4 группы: 1 – интактный контроль, 2 – модельная патология (воспаление СОПР на фоне иммобилизационного стресса), 3 и 4 – животные с модельной патологией и ежедневным (1 раз в сутки в течение 4 суток) применением тиоцетама до моделирования патологии (профилактический режим) и после моделирования патологии (лечебный режим). Регистрировали местные и общие признаки воспаления, функциональное состояние СОПР, показатели нейрогормональной регуляции и состояния окислительно-антиоксидантного гомеостаза. Тиоцетам (Галичфарм, Украина) в дозе 250 мг/кг вводили внутривентрикулярно металлическим зондом 4 раза (1 раз в сутки в течение 4 суток) до (профилактика) или после (лечение) моделирования сочетанной патологии.

Установлено, что тиоцетам при обоих режимах применения обнаруживает антистрессовую активность, оказывает позитивное влияние на воспаление СОПР у крыс, уменьшая его проявления, особенно в условиях профилактики. Анализ влияния тиоцетама на регуляторные механизмы эмоционального напряжения у крыс по данным обеих проведенных серий опытов свидетельствует о том, что его корригирующее действие обусловлено фармакодинамическими свойствами препаратов, входящих в его состав. Ноотропный компонент – пирacetam, благодаря центральному сосудисто-метаболическим эффектам, влияет преимущественно на показатели нейрогормонального статуса, а титотриазолин за счет антиоксидантных свойств нормализует окислительное равновесие.

Таким образом, новый комбинированный стресспротектор нейрометаболического действия тиоцетам (250 мг/кг) улучшает течение воспалительного процесса слизистой оболочки полости рта и состояние нейрогуморальной регуляции у крыс в условиях иммобилизационного стресса. Профилактическое применение тиоцетама по противовоспалительному и антистрессовому действию превышает его лечебную эффективность, что может быть использовано в медицинской практике.

Ключевые слова: слизистая оболочка полости рта, воспаление, иммобилизационный стресс, тиоцетам, профилактика, лечение

Р. О. Kalchuk

Prophylactic and treatment application of thiocetam for correction of acute oral mucosa inflammation in experimental immobilization

The aim of the research – estimation of effectivity of prophylactic and treatment application of thiocetam (combined preparation containing piracetam and thiotriazoline in 4:1 proportion accordingly) for correction of acute oral mucosa inflammation under immobilization in experiment.

Experiments were spent on 24 inbred white male rats 155–220 g of weight that divided into 4 groups: intact control, modelled pathology (acute oral mucosa inflammation and immobilization stress), 4-times application of thiocetam before pathology modeling (prophylaxis) and after pathology modeling (treatment). There were registered local and general inflammatory changes, oral mucosa functional state, indicators of neurohormonal regulation and oxidative processes. Thiocetam (Galychpharm, Ukraine) in 250 mg/kg dosage has been used intragastrically by daily administration one time a day for 4 days before (prophylaxis) or after (treatment) pathology modeling. All manipulations on animals were carried

out following modern national and international bioethical requirements (Strasburg, 1986; Kyiv, 2003). Statistical analysis was performed with parametric methods.

It was established that thiocetam in both regimens characterized by anti-stress activity significantly reflecting on the course of oral mucosa inflammation in rats, namely reduces its signs (hyperemia, edema, hemorrhages and ulcer formation) especially in prophylactic application. Analysis of thiocetam action on regulatory mechanisms of emotional stress in rats, by results of both conducted series of experiments, proves that its effect is due to pharmacodynamic properties of medications it contains. Nootropic component – piracetam, due to its central vascular-metabolic effects acts mostly on neurohormonal parameters, and metabolic component – thiotriazolin because of anti-oxidant properties normalizes local and general oxidation balance.

Thus, new combined drug thiocetam (250 mg/kg) improves the course of oral mucosa inflammation and neurohormonal regulation state in rats under immobilization stress. Prophylactic use of thiocetam by anti-inflammatory and anti-stress action prevail above treatment effectiveness, this may be used in practical work.

Key words: oral mucosa, inflammation, immobilization stress, thiocetam, prophylaxis, treatment

Надійшла: 09. 09. 2014 р.

Контактна особа: Кальчук Роман Олегович, здобувач, кафедра фармакології та медичної рецептури, Харківський національний медичний університет. Тел.: + 38 0 68 602 11 20. Електронна пошта: med.roman@mail.ru

О. О. Нагорна¹, Л. І. Кучеренко², І. А. Мазур², А. В. Волуй³,
О. В. Кузнєцова³, О. К. Ярош³

Фармакокінетичні параметри ін'єкційної форми нового метаболітотропного препарату «Ангіолін»

¹Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ

²НВО «Фарматрон», м. Запоріжжя

³ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

Ключові слова: Ангіолін, фармакокінетика, ВЕРХ, щури

Препарат «Ангіолін» – 2,5 % розчин для ін'єкцій в ампулах позиціонується розробником НВО «Фарматрон» як засіб швидкого відновлення метаболізму міокарда та головного мозку при різноманітних катастрофах у серцево-судинній і центральній нервовій системі [1, 2]. Подібні препарати з метаболітотропною активністю мають давню історію, починаючи з препаратів кофеїну, камфори, кордіаміну і до більш сучасних – триметазидину (предукталу), тіотріазоліну та ін., що мають широкий спектр впливу на енергетику клітин і функцію їхніх мембран у різних тканинах організму [3–6].

Основні параметри фармакокінетичного профілю субстанції й таблеток препарату «Ангіолін» нами вивчалися в попередніх роботах [7–9], однак особливості лікарського засобу в готовій лікарській формі (ГЛФ) – розчині для ін'єкцій в ампулах, призначеного для швидкої допомоги, не були досліджені. Для високої ефективності препарату й кінцевої результативності проведених реанімаційних і лікувальних заходів лікарі мають мати чіткі уявлення про основні фармакодинамічні та фармакокінетичні характеристики препарату, оскільки від цього залежить стратегія й тактика лікування. Лікувальну стратегію необхідно планувати, спираючись на знання особливостей фармакокінетичних параметрів препарату, що застосовується, тому метою цього дослідження було значення основних показників фармакокінетики (ФК) розчину «Ангіолін».

Мета дослідження – вивчення основних параметрів фармакокінетики 2,5 % розчину для ін'єкцій «Ангіолін» в ампулах після його внутрішньом'язового введення піддослідним тваринам.

Матеріали та методи. Експерименти проведені на 40 білих статевозрілих щурах обох статей масою 150–230 г, вирощених у віварії ПП «Біомодельсервіс» за стандартних умов утримання. Усі дослідження на тваринах проводили згідно з вимогами GLP (Належної Лабораторної Практики). Піддослідним щурам вводили внутрішньом'язово (в/м) 2,5 % розчин для ін'єкцій «Ангіолін» у дозі 50 мг/кг маси тіла в перерахунок на вміст активного фармацевтичного інгредієнта (АФІ) препарату. Для хроматографічного кількісного визначення АФІ у сироватці проби крові брали після етаназії тварин під ефірним наркозом через 5, 10, 20, 40, 60, 120 та 180 хв після в/м введення розчину препарату «Ангіолін».

Підготовку проб до хроматографування виконували в декілька етапів: до 0,8 мл сироватки крові додавали 1,0 мл метанолу та ставили на 5 хв в ультразвукову баню при температурі 55 °С для повного осадження білково-ліпідних комплексів, а після центрифугування при 8000 об/хв протягом 30 хв отриманий розчин декантували, заміряли точний об'єм та переносили до піали для подальшого хроматографування [8–9].

Кількісне визначення концентрації активної складової сполуки «Ангіолін» проводили за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) з мас-селективним детектором фірми «Agilent Technologies 1200 Series» (США). Як і в попередніх дослідженнях, детектор налаштовували на АФІ

сполуки «Ангіолін» – лізіній 3-метил-1,2,4-тріазоліл-5-тіоцтової кислоти (173–176 m/z, враховуючи ізотопи вуглецю) з використанням двох аналітичних колонок Zorbax SB-C18 4,6×50 mm 1,8 μ m та Agilent XDB-C18 4,6×50 mm 1,8 μ m, з'єднаних послідовно. Об'єм ін'єкції підготовленої біопроби становив 2 мкл, елювання проводили в ізократичному режимі з наступним промиванням колонки. Як рухому фазу використовували 0,5 % розчин мурашиної кислоти в суміші вода-ацетонітрил (90 %–10 %), фаза А. Для промивання колонки застосовували 0,5 % розчин мурашиної кислоти в ацетонітрилі, фаза В. Швидкість потоку становила 0,5 мл/хв при температурі 45 °С. Метод реєстрації – SIM Method (174 m/z), фрагментор 120, напруга на капілярі 4000 В, температура газу 250 °С, швидкість газу 12 л/хв, тиск розпилювача 35 psig. Тривалість аналізу складала 10 хв (з урахуванням промивки колонки). Час утримання АФІ препарату «Ангіолін» на хроматографічній колонці становив 2,9–3,0 хв.

Експериментальні дослідження основних параметрів ФК здійснювали тільки після проведення валідації методики та встановлення її повної відповідності національним вимогам (ДФУ і ДЕЦ МОЗ України) та міжнародним рекомендаціям (ЕМЕА і FDA) [10–12]. Площу (AUC) під кривою залежності концентрації в плазмі від часу (від 0 до t) вираховували за допомогою лінійного трапецеїдального методу.

Результати експериментів піддавали статистичній обробці за допомогою комп'ютерних програм Microsoft Excel та Statistika 6,0 з використанням t-критерію Стьюдента [13, 14].

Отримані експериментальні значення концентрації АФІ ін'єкційної форми препарату «Ангіолін» для розрахунків інших параметрів ФК вводили в математичну комп'ютерну модель з використанням програми «Borgia» для обрахування фармакокінетичних параметрів за схемою однокамерної моделі [15–17].

Результати та їх обговорення. Аналіз отриманих результатів показав, що АФІ препарату вже на 5 хв був на рівні $13,4 \pm 1,9$ мкг/мл сироватки, а максимальна концентрація – в середньому через $12,0 \pm 2,0$ хв, і вона становила $15,9 \pm 1,7$ мкг/мл сироватки (рис. 1). Через 40 хв розпочинався період зниження вмісту сполуки «Ангіолін», і її рівень у крові зменшився в цей період до $4,5 \pm 3,5$ мкг/мл, тобто став майже в 3 рази меншим від максимальної зареєстрованої концентрації.

У подальшому процес зниження вмісту АФІ розчину «Ангіолін» у сироватці крові продовжувався, і через 60 хв рівень концентрації знизився до $1,9 \pm 0,3$ мкг/мл. У наступний період, зі 120 до 180 хв, зменшення концентрації АФІ «Ангіоліну» реєстрували на рівні від $0,39 \pm 0,09$ мкг/мл до $0,08 \pm 0,019$ мкг/мл, тобто на 3 год концентрація знижувалася до нижньої межі кількісного визначення (НМКВ), яка в щурів була

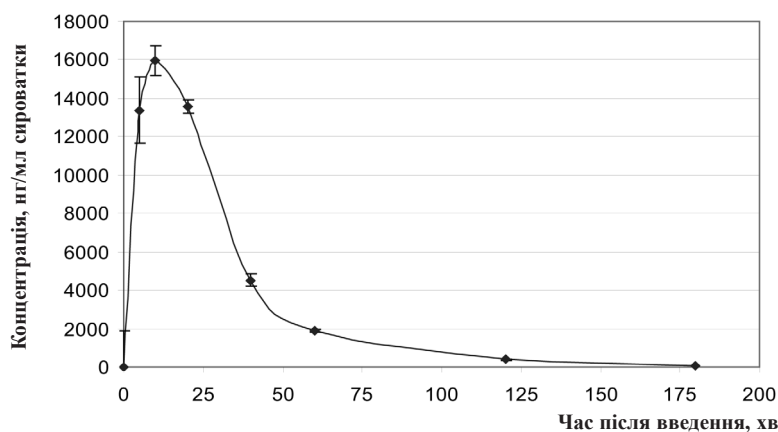


Рис. 1. Динаміка концентрації АФІ ін'єкційної форми препарату «Ангіолін» у крові щурів після одноразового внутрішньом'язового введення в дозі 50 мг/кг маси тіла

встановлена в процесі валідації на рівні $0,08 \pm 0,019$ нг/мл.

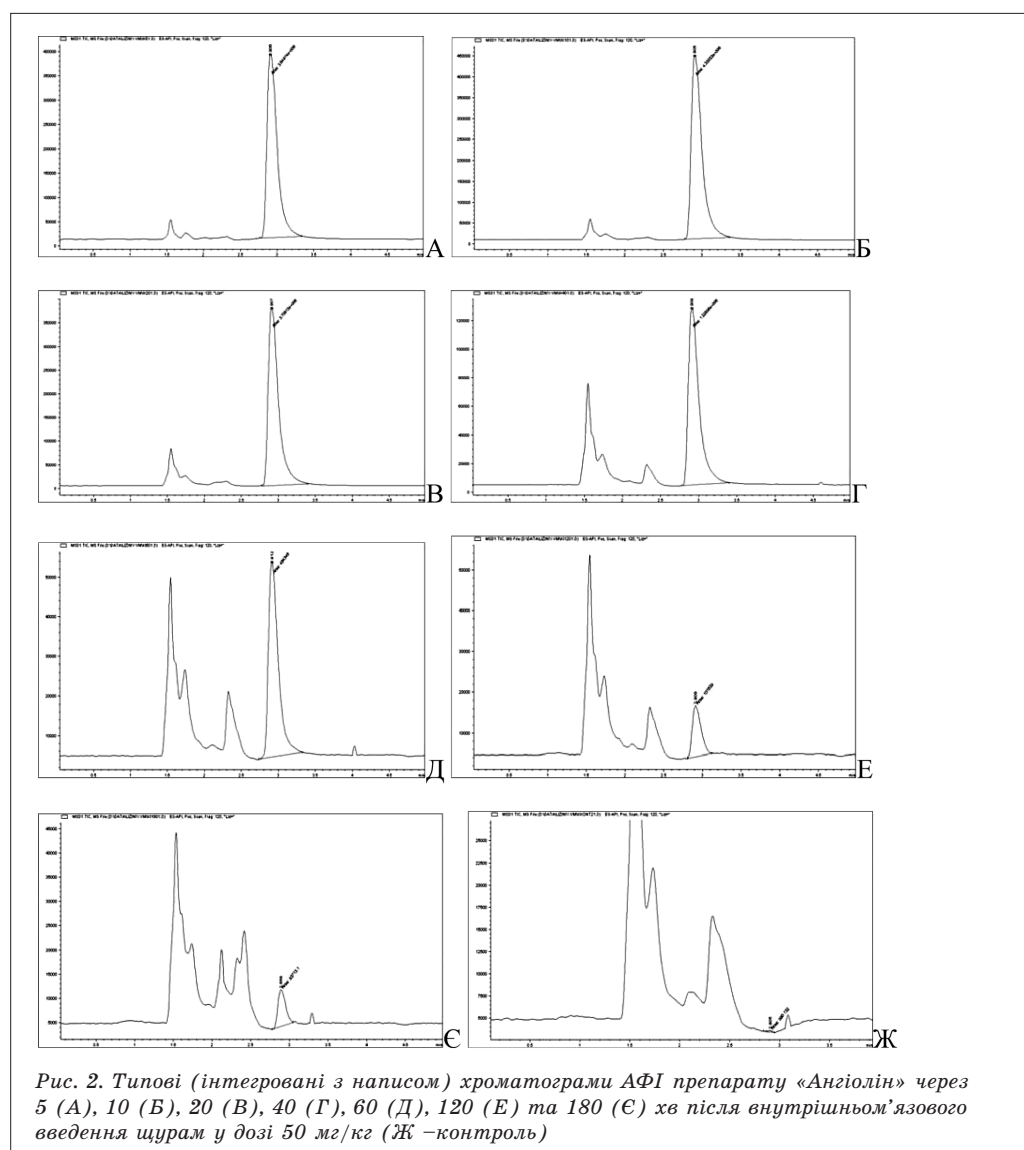
На рисунку 2 представлені приклади типових хроматограм кількісного вмісту АФІ препарату «Ангіолін» у сироватці крові.

Отримані експериментальні значення концентрації АФІ ін'єкційної форми препарату «Ангіолін» для розрахунків інших параметрів вводили в математичну комп'ютерну модель з використанням програми «Borgia» для обчислення фармакокінетичних параметрів за однокамерною моделлю «без всмоктування» [15–17].

Результати основних показників фармакокінетики обчислювали відпо-

відно до математичної моделі «Borgia» «без всмоктування», ураховуючи досить швидко досягнення максимальної концентрації АФІ препарату «Ангіолін» [16]. Параметри, отримані внаслідок комп'ютерного моделювання фармакокінетичних параметрів, наведено в таблиці.

Аналіз результатів, отриманих в експериментах з визначення вмісту АФІ ін'єкційного розчину препарату «Ангіолін» у сироватці крові за допомогою ВЕРХ, та дані, отримані при математичному моделюванні ФК, свідчать, що декілька параметрів майже збігаються. Зокрема за показниками часу (t_{Cmax}) експериментальні та розрахункові дані



Основні параметри розрахунку фармакокінетики після внутрішньом'язового введення ін'єкційного розчину препарату «Ангіолін» у дозі 50 мг/кг маси тіла

№	Параметр	Позначення	Значення
1	Час досягнення максимальної концентрації	t , хв	$8,2 \pm 0,8$
2	Максимальна концентрація препарату	$C_{\max}$ мкг/мл	$14,70 \pm 1,57$
3	Стаціонарний об'єм розподілу	V_{ss} , мл	$28068,6 \pm 16080,3$
4	Площа під фармакокінетичною кривою	AUC_{0-t} нг/хв·мл	$509,3 \pm 57,2$
5	Константа елімінації	K_{el} , хв ⁻¹	$0,040 \pm 0,004$
6	Загальний кліренс	Cl_t , мл/хв	$103,6 \pm 12,3$
7	Середній час перебування в крові	MRT, хв	$25,1 \pm 2,73$

становили відповідно 10 хв і $8,2 \pm 0,8$ хв, а максимальна концентрація в сироватці ($C_{\max}$) становила відповідно 15,9 мкг/мл і $14,72 \pm 1,57$ мкг/мл.

Однак існують і суттєві відмінності між експериментальними і модельними розрахунковими параметрами, наприклад, показник середнього часу перебування АФІ препарату «Ангіолін» у сироватці крові. Так, показник, визначений експериментально за зниженням вмісту сполуки в крові щурів до межі НМКВ, був значно кращим і становив $111,6 \pm 19,6$ хв після введення, у той час, як за розрахунком майже повне виведення АФІ сполуки «Ангіолін» із крові мало б здійснюватися вже через $25,10 \pm 2,73$ хв. Таким чином, реальний показник перебування сполуки в крові (MRT) виявився майже в 4,5 рази більшим, ніж передбачалося за розрахунковою моделлю.

На основі отриманих результатів ФК, обрахованих за математичною моделлю, можна вважати, що вони не завжди підтверджуються експериментальними результатами на тваринах.

Тому, поки математичні моделі не стануть більш досконалими, віртуальні фармакокінетичні параметри мають обов'язково перевірятися дослідями *in vivo* на цілісних організмах з їхньою складною ієрархією управління функціями виконавчих органів і систем.

Висновки

1. Після одноразового в/м введення щурам 2,5 % розчину для ін'єкцій препарату «Ангіолін» у дозі 50 мг/кг максимальна концентрація ($C_{\max}$) АФІ у крові за експериментальними даними досягає рівня $15,90 \pm 1,74$ мкг/мл, а обрахована за математичною моделлю становить $14,70 \pm 1,57$ мкг/мл.

2. Для досягнення максимальної концентрації вмісту в крові щурів АФІ препарату «Ангіолін» розрахунковий час становить у середньому $8,2 \pm 0,8$ хв, експериментальний – $12,0 \pm 2,0$ хв.

3. Зниження вмісту АФІ сполуки «Ангіолін» у крові починається на 20 хв після в/м уведення та через $111,6 \pm 19,6$ хв наближається до нижньої межі його кількісного визначення.

1. Патент № 86668 України C07 D, A61K 31/41 «Лізиний 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоцтової кислоти, викликаючий нейропротективну, ноотропну, кардіопротективну, ендотеліотропну, протиішемічну, антиоксидантну, протизапальну, протигіпоксичну дію / І. А. Мазур, Ю. М. Колесник, Л. І. Кучеренко, І. Ф. Беленічев та ін. Заявл. 04.06.2007. Опубл. 20.10.2009.
2. Патент РФ № 21370492 C07 D, A61K 31/41 «Лизиний 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тиоуксусной кислоты, проявляющий нейропротективное, ноотропное, кардиопротективное, эндотелиотропное, противоишемическое, антиоксидантное, противовоспалительное, противогипоксическое действие и обладающий низкой токсичностью» / И. А. Мазур, Ю. М. Колесник, Л. И. Кучеренко, И. Ф. Беленичев и др. Заявл. 04.06.2007. Опубл. 20.10.2009.
3. Метаболитотропные препараты / И. А. Мазур, И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев [et al.]. – Изд-во Запор. мед. ун-та. – 2007. – 309 с.
4. Grynberg A. Effectors of fatty acid oxidation reduction: promising new antiischaemic agents / A. Grynberg // Curr Pharmaceut Des. – 2005. – V.11. – P. 48–56.

5. Тиотриазолин, тиодарон в лечении сердечно-сосудистой патологии / И. А. Мазур, Н. А. Волошин, В. А. Визир, И. Ф. Беленичев. – Запорожье: Печатный мир, 2011. – 303 с.
6. *Беленичев І. Ф.* Вплив нового метаболітотропного кардіопротектора «Лізіній» на стан лімітуючих ланок енергетичного обміну і компенсаторних метаболічних шунтів в умовах гострого інфаркту міокарда / І. Ф. Беленичев, Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур // Клінічна фармація. – 2012. – Т. 16, № 2. – С. 36–39.
7. Профіль фармакокінетики сполуки «Лізіній» у крові після парентерального введення / О. К. Ярош, І. А. Мазур, В. М. Бобков [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – № 5 (30). – С. 93–98.
8. Серцева тканинна біодоступність та показники розрахункової фармакокінетики нової кардіотропної сполуки «Лізіній» / Л. І. Кучеренко, В. М. Бобков, О. І. Барчина [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – № 5 (30). – С. 37–43.
9. Параметри фармакокінетики таблеток «Ангіолін» у крові щурів після перорального введення / О. К. Ярош, О. О. Нагорна, Л. І. Кучеренко, О. С. Бідненко // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2014. – № 2 (38). – С. 64–69.
10. Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту / Державна Фармакопея України. ДП «Наук.-експертн. фармакоп. центр». – [1-е вид.]. – Х. : РІРЕГ, 2001. – Доп.1. – 2004. – С. 187–221.
11. Валидация биоаналитического метода. / Н. А. Жукова, В. В. Либина, И. В. Кудрис, Н. Н. Падалко // Методические рекомендации. – К. : ГП ГЭЦ, 2013. – 35 с.
12. Validation of analytical Methods: Definitions and Terminology // ICH Topic Q 2 EMEA. CPMP/ICH/381/95. – Р. 1–5.
13. *Гельман В. Я.* Медицинская информатика: практикум / Гельман В. Я. – СПб. : Питер, 2001. – 480 с.
14. *Лапач С. Н.* Статистика в науке и бизнесе / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К. : Морион, 2002. – 640 с.
15. Фармакокінетика / Н. Н. Каркищенко, В. В. Хоронько, С.А. Сергеева, В. Н. Каркищенко. – Ростов-на-Дону : «Феникс», 2001. – 384 с.
16. *Мирошниченко И. И.* Основы фармакокинетики / И. И. Мирошниченко. – М. : «ГЭОТАР-МЕД», 2002. – 192 с.
17. Методические рекомендации: Расчеты фармакокинетических параметров лекарственных средств (линейные частевые модели) / Н. Я. Головенко, О. В. Жук, В. Г. Зиньковский [и др.]. – К. : ГФЦ МЗ Украины, 2003. – 19 с.

О. О. Нагорна, Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур, А. В. Волуй, О. В. Кузнєцова, О. К. Ярош
Фармакокінетичні параметри ін'єкційної форми нового метаболітотропного препарату «Ангіолін»

Проведено дослідження основних фармакокінетичних параметрів в крові щурів нового метаболітотропного препарату «Ангіолін» – 2,5 % розчину для ін'єкцій в ампулах з використанням ВЕРХ з мас-спектрометричною детекцією. Розроблено методику кількісного визначення активного фармацевтичного інгредієнта (АФІ) препарату «Ангіолін», придатну для моніторингу потенційного препарату протягом усього циклу фармакокінетики в організмі. Методику валідовано за всіма вимогами ДФ і ДЕЦ МОЗ України та рекомендаціям EMEA, FDA. Після одноразового внутрішньом'язового введення щурам 2,5 % розчину для ін'єкцій препарату «Ангіолін» у дозі 50 мг/кг максимальна концентрація (C_{max}) АФІ у крові за експериментальними даними сягає рівня $15,90 \pm 1,74$ мкг/мл, а розрахована за математичною моделлю становить $14,70 \pm 1,57$ мкг/мл. Для досягнення максимальної концентрації в крові щурів АФІ препарату «Ангіолін» розрахунковий час складав у середньому $8,2 \pm 0,8$ хв, експериментальний – 10 хв. Зниження вмісту сполуки «Ангіолін» у крові починалося з 20 хв після внутрішньом'язового введення і досягало нижньої межі кількісного визначення через 120 хв. Середній час перебування в крові щурів АФІ препарату «Ангіолін» складав за експериментальними даними близько 120 хв, коли його концентрація знижувалася в середньому до $0,390 \pm 0,091$ мкг/мл. Препарат «Ангіолін» за своїми фармакокінетичними властивостями може бути рекомендований для подальшого доклінічного вивчення (курсове призначення) і клінічного дослідження.

Ключові слова: Ангіолін, фармакокінетика, ВЕРХ, щури

**Е. А. Нагорная, Л. И. Кучеренко, И. А. Мазур, А. В. Волуй,
 Е. В. Кузнєцова, А. К. Ярош**
Фармакокинетические параметры инъекционной формы нового метаболитотропного препарата «Ангиолин»

Проведено исследование основных фармакокинетических параметров в крови крыс нового метаболитотропного препарата «Ангиолин» – 2,5 % раствора для инъекций в ампулах с использованием ВЭЖХ с масс-спектрометрической детекцией. Разработанная методика количественного определения активного фармацевтического ингредиента (АФИ) препарата «Ангиолин» пригодна

для мониторинга потенциального препарата в течение всего цикла фармакокинетики в организме. Методика валидирована по всем требованиям ДФ и ГЭЦ МЗ Украины и рекомендаций ЕМЕА, FDA. После однократного введения крысам 2,5 % раствора для инъекций препарата «Ангиолин» в дозе 50 мг/кг максимальная концентрация (C_{max}) АФИ в крови по экспериментальным данным достигает уровня $15,90 \pm 1,74$ мкг/мл, а рассчитанная по математической модели составляет $14,70 \pm 1,57$ мкг/мл. Для достижения максимальной концентрации в крови крыс АФИ препарата «Ангиолин» расчетное время составляло в среднем $8,2 \pm 0,8$ мин, экспериментальное – 10 мин. Снижение содержания соединения «Ангиолин» в крови начиналось с 20 мин после внутримышечного введения и достигало нижней границы количественного определения через 120 мин. Среднее время пребывания в крови крыс АФИ препарата «Ангиолин» составляло по экспериментальным данным около 120 мин, когда его концентрация снижалась в среднем до $0,390 \pm 0,091$ мкг/мл. Препарат «Ангиолин» по своим фармакокинетическим свойствам может быть рекомендован для дальнейшего доклинического изучения (курсовое назначение) и клинического исследования.

Ключевые слова: Ангиолин, фармакокинетика, ВЭЖХ, крысы

**H. A. Nagornaya, L. I. Kucherenko, I. A. Mazur, A. V. Volui,
H. A. Kuznetsova, A. K. Yarosh**

**Pharmacokinetic parameters injection form
of the new metabolitotropic drug «Angiolin»**

The aim of study was the investigation of the main pharmacokinetic parameters of new metabolitotropic drug «Angiolin» (2,5 % solution for injection in ampoules) in rat blood using HPLC with mass spectrometric detection. The method of quantitative determination of the active pharmaceutical ingredient (API) drug «Angiolin» was developed and validated earlier. It is suitable for monitoring of potential drug pharmacokinetics throughout the cycle in the body. Methods was validated for all national requirements and recommendations of EMEA, FDA. Pharmacokinetic parameters API were determined in blood after single intramuscular administration to rats («Angiolin», 2,5 % solution for injection, 50 mg/kg). Maximum concentration (C_{max}) API in blood reached the level of $15,90 \pm 1,74$ µg/ml during 10 min after intramuscular administration based on the experimental data and was $14,70 \pm 1,57$ µg/ml at $8,2 \pm 0,8$ min as calculated by the mathematical model. Then concentration of compound in blood decreased starting from 20th minute after i/m administration and reached the lower limit of quantification to 120 min. The average residence time API of drug «Angiolin» in the blood of rats constituted about of 120 min as by experimental data, when its concentration was reduced to an average of $0,390 \pm 0,091$ µg/ml. Thus the injection form of drug «Angiolin» for their pharmacokinetic properties can be recommended for further preclinical study (course assignment) and clinical research.

Key words: Angiolin, pharmacokinetics, HPLC, rats

Надійшла: 02.09.2014 р.

Контактна особа: Ярош Олександр Кузьмич, відділ фармакокінетики, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», б. 14, вул. Е. Потье, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 98 65.
Електронна пошта: yarosh44@mail.ru

А. О. Очеретнюк, І. Л. Черешнюк, Д. А. Лисенко, С. В. Прокопенко

Дослідження фрагментації ДНК у тканинах легень щурів після застосування 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом або 5 % розчину HAES-LX у гострому періоді опікової хвороби

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова

Ключові слова: опікова хвороба, фрагментація ДНК, легені, ДНК-цитометрія, 5% розчин HAES-LX, лактопротеїн з сорбітолом

Незважаючи на певні досягнення в терапії термічної травми шкіри, проблема лікування цієї патології продовжує залишатися актуальною в сучасній медицині. На нашу думку, складність терапії термічного ушкодження шкіри зумовлена недостатніми даними щодо його патогенезу та поліморфністю проявів, що, у свою чергу, гальмує розробку нових схем лікування. Серед чисельних ланок ураження організму за опікової хвороби однією з основних є ушкодження легень, яке розвивається навіть після припинення дії термічного фактора [1]. Частим ускладненням опікової хвороби є пневмонія, яку при розтинах виявляють майже в 75 % випадків [2]. Згідно із даними літератури, легеневі ускладнення частіше виявляють у гострий період опікової хвороби. Так, встановлено, що третина легеневих ускладнень виникає в перші дві доби після опікового ураження та проявляється гострим набряком легень, гострим легеневим ураженням та пневмонією [3]. Легеневі ускладнення часто виникають вже при опіках 20 % площі поверхні тіла, а при опіках, площа яких перевищує 50 %, у 100 % випадків, і при цьому летальність сягає 50 % [4]. Патогенетично пошкодження легень при термічних опіках шкіри розглядають як результат токсичного впливу продуктів опікового ушкодження та медіаторів запалення, що виділяються внаслідок формування імунної відповіді організму [5]. Однією з мішеней дії цих

чинників є клітини легень, у яких відбувається зменшення активності синтетичних процесів, більш активна відповідь на апоптотичні стимули, порушується їхнє функціонування, що створює передумови для розвитку клінічних проявів ураження легень [6, 7]. Саме тому, на наш погляд, для попередження або зменшення ушкодження легень на тлі опікової хвороби необхідна розробка нових схем терапії, які б мали захисну дію на клітини легеневої тканини. У зв'язку з даними щодо позитивного впливу препаратів лактопротеїну з сорбітолом або 5 % розчину HAES-LX на клітинний цикл та фрагментацію ДНК клітин печінки [8] та тимуса [9] після опікового ураження шкіри є перспективним вивчити їхній вплив також і на фрагментацію ДНК клітин легень за цієї патології.

Мета дослідження – вивчити показники фрагментації ДНК у тканині легень через 1, 3 та 7 діб після термічного опіку шкіри на тлі корекції 0,9 % розчином NaCl, лактопротеїном з сорбітолом або 5% розчином HAES-LX.

Матеріали та методи. Експериментальне дослідження фрагментації ДНК клітин легень через 1, 3 та 7 діб після опікового ураження шкіри виконано на 108 щурах-самцях лінії Вістар масою 155–160 г на базі Науково-дослідного центру Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова, що узгоджено з комісією з біоетики та гуманного поводження з тваринами. Утримання та маніпуляції з тваринами проводили відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.). У дослідженні також керували-

ся рекомендаціями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985 р.).

Тварини були розділені на 6 груп (по 18 тварин у кожній групі): I, II, III – щури без термічної травми, яким проводили окрему інфузію 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом або 5 % розчину HAES-LX у дозі 10 мл/кг; IV, V, VI – тварини з опіком, яким за аналогічною схемою та в такому самому дозовому режимі проводили окреме введення досліджуваних речовин. У зв'язку з високою летальністю тварин з опіком та з міркувань біоетики як контроль патології брали тварин групи IV (опік + інфузія 0,9 % р-ну NaCl). Опік (після відповідної премедикації за допомогою пропофолового наркозу 60 мг/кг в/в) викликали шляхом прикладання до бічних поверхонь тулуба тварин чотирьох мідних пластинок (по дві пластинки з кожного боку), які попередньо тримали протягом 6 хв у воді з температурою 100 °С. Загальна площа опіку в щурів зазначеної маси складала 21–23 % при експозиції 10 с, що є достатнім для формування опіку II–III ступеня (підтверджувалося гістологічно) та розвитку шокового стану середнього ступеня важкості. Інфузію досліджуваних препаратів – 0,9 % розчину NaCl (контроль), 5 % розчину HAES-LX (новий вітчизняний кровозамінник, розроблений в ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України», м. Львів) та препарату порівняння лактопротеїну з сорбітолом (виробництва ЗАТ «Біофарма») – вводили внутрішньовенно протягом 5–6 хв у дозі 10 мл/кг маси тіла в нижню порожнисту вену, для чого виконували її катетеризацію в асептичних умовах через стегнову вену. Катетер, встановлений у стегновій вені, підшивали під шкіру. Його просвіт по всій довжині заповнювали титрованим розчином гепарину (0,1 мл гепарину на 10 мл 0,9 % розчину NaCl) після кожного введення 0,9 % розчину NaCl. Перше введення 0,9 % розчину NaCl здійснювали через 1 год після моделювання патологічного стану, наступні

інфузії виконували щоденно впродовж 7 діб. Забір матеріалу проводили під наркозом. Після декапітації тварин робили розтин грудної клітки й вирізали за допомогою леза невеликі шматочки легень. Уміст ДНК в ядрах клітин легень щурів визначали методом проточної цитометрії. Суспензії ядер з клітин легень отримували за допомогою спеціального розчину для дослідження ядерної ДНК CyStain DNA фірми Partec (Німеччина) відповідно до протоколу-інструкції виробника. Даний розчин дозволяє виконувати екстракцію ядер і маркувати ядерну ДНК діамідинофеніліндолом (DAPI), який входить до його складу. У процесі виготовлення нуклеарних суспензій використовували спеціальні одноразові фільтри CellTrics 50 мкм (Partec, Німеччина). Проточний аналіз виконували на багатофункціональному науково-дослідному проточному цитометрі «Partec PAS» фірми Partec (Німеччина) у НДЦ ВНМУ імені М. І. Пирогова. Для збудження флуоресценції DAPI застосовували УФ-випромінювання. З кожного зразка нуклеарної суспензії аналізу підлягало 20 тис. подій. Визначення фрагментації ДНК (апоптоз) виконано за допомогою програмного забезпечення FloMax (Partec, Німеччина) шляхом виділення ділянки на ДНК-гістограмах RN1 (інтервал SUB-G0G1) перед піком G0G1 (уміст ДНК = 2 с), яка вказує на ядра клітин з вмістом ДНК < 2 с. Статистичну обробку отриманих результатів проводили в пакеті «STATISTICA 6.1» (належить НДЦ ВНМУ імені М. І. Пирогова, ліцензійний № BXXR901E246022FA) із застосуванням непараметричних методів оцінки отриманих результатів. Оцінювали правильність розподілу ознак за кожним із отриманих варіаційних рядів, середні значення кожної ознаки та стандартне квадратичне відхилення. Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали за допомогою U-критерія Мана-Уїтні.

Результати та їх обговорення. На першому етапі дослідження порівнювали вплив 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом або 5% розчину HAES-LX на фрагментацію ДНК клітин

легень без опікового ушкодження через 1, 3 та 7 діб експерименту (табл. 1). Отримані дані засвідчили відсутність достовірної різниці в показниках фрагментації ДНК клітин легень на фоні застосування вказаних препаратів у всі терміни дослідження.

На наступному етапі дослідження вивчали показники фрагментації ДНК клітин легень через 1, 3 та 7 діб після опікового ушкодження шкіри на тлі застосування 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом або 5 % розчину HAES-LX. Було виявлено, що вже через 1 добу після опікового пошкодження шкіри на фоні застосування як

0,9 % розчину NaCl, так і лактопротеїну з сорбітолом або 5 % розчину HAES-LX середні значення показників фрагментації ДНК клітин легень були значно більшими порівняно з аналогічними показниками, визначеними в тварин без опіку (табл. 2).

Через 3 доби після термічного опіку шкіри в щурів на тлі корекції досліджуваними препаратами, також як і через 1 добу після опікової травми, зберігалися достовірно більшими показники інтервалу SUB-G0G1 порівняно з аналогічним показником, визначеним у тварин без опікової травми. Однак у групах «Опік + 5 % розчин HAES-LX»

Таблиця 1

Показники фрагментації ДНК у клітинах легень здорових щурів після застосування 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом або 5% розчину HAES-LX ($M \pm \sigma$)

Доба	Група тварин (n = 6)	Фрагментація ДНК, % (інтервал SUB-G0G1)
1	0,9 % розчин NaCl	4,49 ± 1,44
	Лактопротеїн з сорбітолом	4,24 ± 0,31
	5 % розчин HAES-LX	3,81 ± 1,00
3	0,9 % розчин NaCl	3,77 ± 1,03
	Лактопротеїн з сорбітолом	4,19 ± 0,77
	5 % розчин HAES-LX	3,47 ± 0,95
7	0,9 % розчин NaCl	4,09 ± 0,99
	Лактопротеїн з сорбітолом	3,61 ± 1,10
	5 % розчин HAES-LX	3,47 ± 0,95

Таблиця 2

Показники фрагментації ДНК клітин легень після термічної травми шкіри та застосування 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом або 5 % розчину HAES-LX ($M \pm \sigma$)

Доба	Група тварин (n = 6)	Фрагментація ДНК, % (інтервал SUB-G0G1)
1	Опік + 0,9 % розчин NaCl (контроль)	16,21 ± 5,08
	Опік + лактопротеїн з сорбітолом	11,69 ± 5,50
	Опік + 5 % розчин HAES-LX	11,78 ± 5,52
3	Опік + 0,9 % розчин NaCl	16,61 ± 5,42
	Опік + лактопротеїн з сорбітолом	8,83 ± 1,39*
	Опік + 5 % розчин HAES-LX	9,57 ± 1,65*
7	Опік + 0,9 % розчин NaCl	13,71 ± 5,56
	Опік + лактопротеїн з сорбітолом	8,21 ± 1,98*
	Опік + 5 % розчин HAES-LX	8,52 ± 2,18

Примітка. *Статистично значуща різниця ($p < 0,05$) за критерієм Мана-Уїтні порівняно з групою Опік + 0,9 % розчин NaCl.

та «Опік + лактопротеїн з сорбітолом» у цей термін дослідження середні значення показників інтервалу SUB-G0G1 були достовірно меншими порівняно з аналогічними показниками групи тварин «Опік + 0,9 % розчин NaCl». При цьому достовірних відмінностей між середніми значеннями показників фрагментації ДНК груп тварин «Опік + HAES-LX 5 %» та «Опік + лактопротеїн з сорбітолом» встановлено не було.

Приклади ДНК-гістограм ядерних суспензій клітин легень щура через 3 доби після опіку шкіри на тлі застосування 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом або 5 % розчину HAES-LX представлено на рисунках 1, 2, 3 відповідно.

Отже, отримані результати вказують на те, що через 3 доби після термічного опіку шкіри застосування як 5% розчину HAES-LX, так і лактопротеїну з сорбітолом призводить до суттєвого зменшення апоптотичного пошкодження клітин легень порівняно з контролем. Можемо припустити, що на тлі опіку шкіри позитивний ефект 5 % розчину HAES-LX або лактопротеїну з сорбітолом у вигляді вираженої антиапоптотичної дії на клітини легеневої тканини реалізується шляхом блокування проапоптотичних стимулів, які виникають на тлі дії токсинів, та внаслідок

впливу медіаторів апоптозу, що продукуються клітинами імунної системи за опікового ураження [10]. Через 7 діб після опікового ураження шкіри в групі «Опік + 0,9 % розчин NaCl», «Опік + 5 % розчин HAES-LX» та «Опік + лактопротеїн з сорбітолом», як і в попередні терміни дослідження, середні значення показників інтервалу SUB-G0G1 були достовірно більшими, ніж без опікового пошкодження. Водночас частка

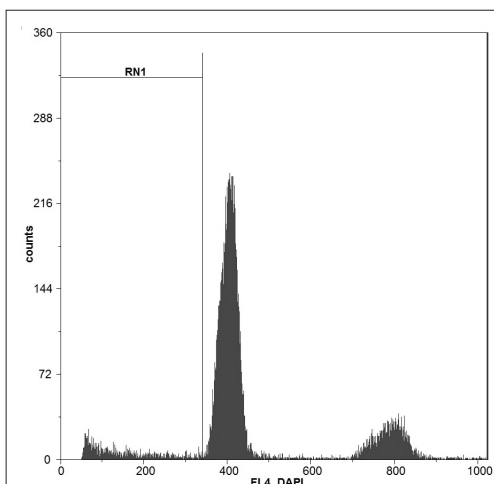


Рис. 2. ДНК-гістограма ядерної суспензії клітин легень щура через 3 доби після опіку шкіри та застосування лактопротеїну з сорбітолом

RN1 – фрагментація ДНК (інтервал SUB-G0G1) = 7,89 %.

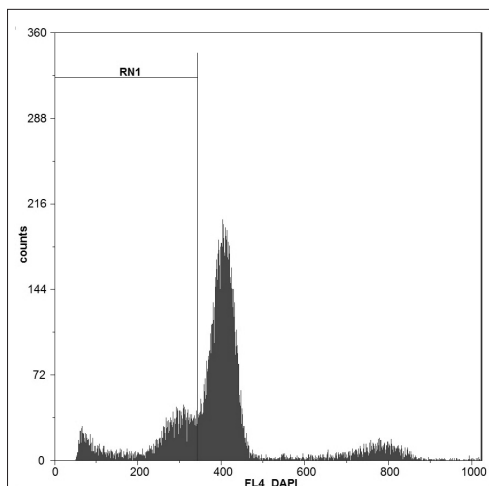


Рис. 1. ДНК-гістограма ядерної суспензії клітин легень щура через 3 доби після опіку шкіри та застосування 0,9 % розчину NaCl

RN1 – фрагментація ДНК (інтервал SUB-G0G1) = 22,89 %.

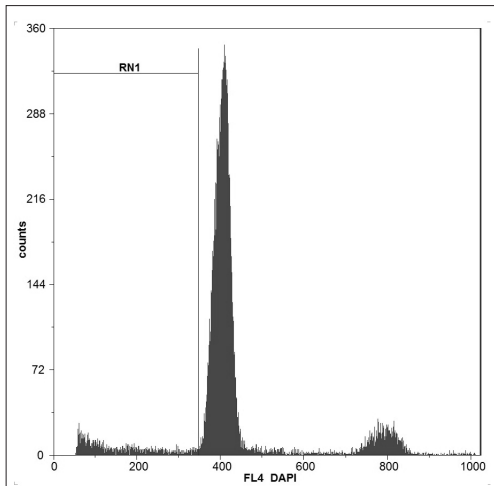


Рис. 3. ДНК-гістограма ядерної суспензії клітин легень щура через 3 доби після опіку шкіри та застосування 5 % розчину HAES-LX

RN1 – фрагментація ДНК (інтервал SUB-G0G1) = 8,51 %.

клітин легень з фрагментованою ДНК у цей термін у групі щурів «Опік + лактопротейн з сорбітолом» була достовірно меншою порівняно з аналогічними показниками групи тварин «Опік + 0,9 % розчин NaCl». Через 7 діб після опікової травми шкіри менший відсоток клітин з фрагментованою ДНК порівняно з групою «Опік + 0,9 % розчин NaCl» реєстрували й у групі тварин «Опік + 5 % розчин HAES-LX», однак ця відмінність мала лише характер вираженої тенденції ($p = 0,055$). Достовірних відмінностей у фрагментації ДНК клітин легень між групами «Опік + 5 % розчин HAES-LX» та «Опік + лактопротейн з сорбітолом» у цей термін не встановлено, що може свідчити про аналогічну спрямованість коригуючої дії лактопротейну з сорбітолом та 5 % розчину HAES-LX.

Отримані нами результати щодо посилення фрагментації ДНК клітин легень на фоні опікової травми шкіри, а також результати досліджень щодо фрагментації ДНК клітин печінки та тимуса при цій патології [8, 9], можуть вказувати на системність апоптотичного ураження організму за цією патологією. Також можемо відзначити позитивну дію препаратів лактопротейну з сорбітолом та 5 % розчину HAES-LX, що зменшують проапоптотичний вплив опікового ушкодження шкіри на клітини легень.

Отже, результати проведеного дослідження свідчать про виражену антиапоп-

тотичну дію як лактопротейну з сорбітолом, так і 5 % розчину HAES-LX на клітини легеневої тканини в гострому періоді опікової травми шкіри в щурів, що створює передумови для швидшого відновлення функціонального стану легень.

Перспективою подальших досліджень є більш детальне вивчення механізмів дії лактопротейну з сорбітолом або 5 % розчину HAES-LX на тлі опікової травми шкіри для вироблення оптимальної тактики лікування.

Висновки

1. Внутрішньовенне введення препаратів лактопротейну з сорбітолом або 5 % розчину HAES-LX у дозі 10 мл/кг, як і 0,9 % розчин NaCl упродовж 7 діб не впливає на фрагментацію ДНК клітин легень здорових щурів.

2. Опікове ушкодження шкіри II–III ступеня площею 21–23 % поверхні тіла в щурів супроводжується індукцією процесів апоптозу клітин легень, яке спостерігалось в усі терміни проведеного дослідження – через 1, 3 та 7 діб після опіку.

3. Застосування препаратів лактопротейну з сорбітолом або 5 % розчину HAES-LX у дозі 10 мл/кг маси тіла (внутрішньовенно) призводить до вираженого зменшення апоптотичного пошкодження клітин легень, індукованого термічним опіком шкіри II–III ступеня в щурів.

1. Комбустиология: Пidrучник / Фисталь Е. Я., Козинец Г. П., Самойленко Г. Е. [та ін.]. – К. : Інтерлінк, 2004. – С. 24–26
2. Поражение дыхательных путей у обожженных / Боечко С. К. [и др.]. – К., 1990. – С. 96–118.
3. Климов А. Г. Искусственное поддержание газообмена у пострадавших с термической травмой в период ожогового шока: автореф. дис. на соискание учен. степени докт. мед. наук : 14.00.37 / Климов А. Г. – М., 2010.
4. Спиридонова Т. Г. Полиорганная дисфункция и недостаточность у обожженных : автореф. дис. на соискание учен. степени докт. мед. наук : 14.00.27, 14.00.17 / Спиридонова Тамара Георгиевна. – М., 2007. – 41 с.
5. The role of apoptosis in the pathophysiology of Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS): an up-to-date cell-specific review / Galani V., Tatsaki E., Bai M. [et al.] // *Pathol Res Pract.* – 2010. – V. 206 (3). – P. 145–50. Epub 2010 Jan 22.
6. The change in apoptosis and proliferation of pulmonary tissue cells in rats with smoke inhalation injury / Li W., Yang Z., Yang X. [et al.] // *Zhonghua Shao Shang Za Zhi.* – 2002. – V. 18 (3). – P. 139–41. Chinese.
7. Effects of smoke inhalation injury on the phagocytic function of rat alveolar macrophage and on neutrophil apoptosis]. [Article in Chinese] Li W. J., Yang Z. C., Li E. H. [et al.] // *Zhonghua Shao Shang Za Zhi.* – 2003. – V. 19 (3). – P. 163–6.
8. Порівняльна характеристика клітинного циклу та фрагментації ДНК клітин печінки на фоні опікової хвороби у щурів в залежності від фармакотерапії колоїдно-гіперосмолярними розчинами / А. І. Семененко, І. Л. Черешнюк, Д. А. Лисенко, І. В. Гунас // *Вісник морфології.* – 2011. – Т. 17, № 3. – С. 656–660.

9. Наслідки впливу опіку шкіри на показники клітинного циклу клітин тимусу та їх корекція лактопротеїном з сорбітолом або HAES-LX 5 % / Гунас І. В., Кондрацький Б. О., Черкасов Е.В. [та ін.] // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2012. – С. 135–141.
10. Ringer's malate solution protects against the multiple organ injury and dysfunction caused by hemorrhagic shock in rats / Dai Z. L. [et al] // Shock. – 2012. – № 38 (3). – P. 268–274.

А. О. Очеретнюк, І. Л. Черешнюк, Д. А. Лисенко, С. В. Прокопенко
Дослідження фрагментації ДНК у тканинах легень щурів після застосування 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом або 5% розчину HAES-LX у гострому періоді опікової хвороби

При опіковій хворобі легені є органом-мішенню, у яких відбувається зменшення активності синтетичних процесів і порушення їхнього функціонування. Тому для зменшення ушкодження легень на тлі опікової хвороби необхідна розробка нових схем терапії, які б справляли захисну дію на клітини легеневої тканини.

Мета дослідження – вивчити фрагментацію ДНК клітин легень щурів через 1, 3 та 7 діб після термічного ураження шкіри II–III ступеня площею 21–23 % поверхні тіла на фоні корекції 0,9 % розчином NaCl, лактопротеїном з сорбітолом або 5 % розчином HAES-LX.

Уміст ДНК в ядрах клітин легень щурів визначали методом проточної цитометрії. Для збудження флуоресценції DAPI застосовували УФ-випромінювання. З кожного зразка нуклеарної суспензії аналізу підлягало 20 тисяч подій.

Встановлено, що внутрішньовенне введення препаратів лактопротеїну з сорбітолом або 5 % розчину HAES-LX у дозі 10 мл/кг, як і 0,9 % розчину NaCl упродовж 7 діб не впливає на фрагментацію ДНК клітин легень здорових щурів. Виявлено, що опікове ушкодження шкіри II–III ступеня площею 21–23 % поверхні тіла в щурів супроводжується індукцією процесів апоптозу клітин легень, яке спостерігалось в усі терміни проведеного дослідження – через 1, 3 та 7 діб після опіку. Застосування препаратів лактопротеїну з сорбітолом або 5 % розчину HAES-LX у дозі 10 мл/кг маси тіла призводить до вираженого зменшення апоптотичного пошкодження клітин легень, індукованого термічним опіком шкіри II–III ступеня в щурів.

Отже, результати проведеного дослідження свідчать про виражену антиапоптотичну дію як лактопротеїну з сорбітолом, так і 5 % розчину HAES-LX на клітини легеневої тканини в гострому періоді опікової травми шкіри в щурів, що створює передумови для швидшого відновлення функціонального стану легень.

Ключові слова: опікова хвороба, фрагментація ДНК, легені, ДНК-цитометрія, 5 % розчин HAES-LX, лактопротеїн з сорбітолом

А. А. Очеретнюк, И. Л. Черешнюк, Д. А. Лысенко, С. В. Прокопенко
Исследование фрагментации ДНК в тканях легких крыс после применения 0,9 % раствора NaCl, лактопротеина с сорбитолом или 5 % раствора HAES-LX в остром периоде ожоговой болезни

При ожоговой болезни легкие являются органом-мишенью, в которых происходит уменьшение активности синтетических процессов и нарушение их функционирования. Поэтому для уменьшения повреждения легких на фоне ожоговой болезни необходима разработка новых схем терапии, которые оказывали бы защитное действие на клетки легочной ткани.

Цель исследования – изучить фрагментацию ДНК клеток легких крыс через 1, 3 и 7 суток после термического поражения кожи II–III степени площадью 21–23 % поверхности тела на фоне коррекции 0,9 % раствором NaCl, лактопротеином с сорбитолом или 5 % раствором HAES-LX.

Содержание ДНК в ядрах клеток легких крыс определяли методом проточной цитометрии. Для возбуждения флуоресценции DAPI применяли УФ-излучение. Из каждого образца нуклеарной суспензии анализу подлежало 20 000 событий.

Установлено, что введение препаратов лактопротеина с сорбитолом или 5 % раствора HAES-LX в дозе 10 мл / кг, как и 0,9 % раствора NaCl в течение 7 суток не влияет на фрагментацию ДНК клеток легких здоровых крыс. Доказано, что ожоговое повреждение кожи II–III степени площадью 21–23% поверхности тела у крыс сопровождается индукцией процессов апоптоза в клетках легких, которое наблюдалось во все сроки проведенного исследования – через 1, 3 и 7 суток после ожога. Применение препаратов лактопротеина с сорбитолом или 5 % раствора HAES-LX в дозе 10 мл/кг массы тела приводит к выраженному уменьшению апоптотического повреждения клеток легких, индуцированного термическим ожогом кожи II–III степени у крыс.

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют об антиапоптотическом действии как лактопротеина с сорбитолом, так и 5 % раствора HAES-LX на клетки легочной ткани в остром периоде ожоговой травмы кожи у крыс, что создает предпосылки для более быстрого восстановления функционального состояния легких.

Ключевые слова: ожоговая болезнь, фрагментация ДНК, легкие, ДНК-цитометрия, 5 % раствор HAES-LX, лактопротеин с сорбитолом

A. A. Ocheretniuk, I. L Cheresniuk, D. A. Lysenko, S. V. Prokopenko
Study of DNA fragmentation in rats' lung tissues after administration of 0,9 % NaCl solution, lactoprotein with sorbitol, or 5% HAES-LX solution in the acute period of burn disease

The lungs are the target organ in which occur the decrease of synthetic processes activity and the disturbance of their functioning under the burn disease. Therefore, to reduce the damage of the lungs in such condition, it is necessary to develop new therapy schemes, which protect the cells of the lungs tissue.

The goal of the research was evaluation of the DNA fragmentation in lung cells in acute period of II–III degree rat skin burns with the area of 21–23 % of body surface after administration of 0,9 % NaCl solution, sorbitol with lactoprotein, or 5% HAES-LX solution.

DNA content in the nuclei of rat lung cells was calculated using the method of flow cytometry. The UV radiation was used to initiate the DAPI fluorescence. 20 thousand events from each sample of nuclear suspension were subjected to the analysis.

We found that the intravenous administration of lactoprotein with sorbitol, or 5% HAES-LX solution with a dosage 10 ml/kg, as well as 0,9% NaCl solution during 7 days had no effect on the DNA fragmentation in lung cells of healthy rats. We revealed that II–III degree skin burns with an area of 21–23 % of body surface in rats was accompanied with induction of lung cells apoptosis observed at all periods of the study – on 1, 3 and 7 days after burn. Intravenous administration of lactoprotein with sorbitol or 5% HAES-LX solution (10 ml/kg of body weight) resulted in a pronounced decrease in apoptotic cell lung damage induced by II–III degree thermal skin burns in rats.

Therefore, the results of the study are evidence of antiapoptotic effect on lung cells tissue of both lactoprotein with sorbitol, and 5% HAES-LX solution in acute period of a skin burn in rats, which creates the preconditions for faster recovery of the lung functional status.

Key words: burn disease, DNA fragmentation, lungs, DNA cytometry, 5% HAES-LX solution, lactoprotein with sorbitol

Надійшла: 13.10.2014 р.

Контактна особа: Очеретнюк Анна Олександрівна, асистент, кафедра фармацевтичної хімії, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, буд. 56, вул. Пирогова, м. Вінниця, 21021. Тел. + 38 0 67 90 90 930. Електронна пошта: anechka_azarova@mail.ru

О. М. Пясковська, І. В.Бойчук, О. Г. Федорчук, О. Р. Мельников,
О. Й. Дасюкевич, Д. Л. Колесник, Г. І. Соляник

Протипухлинна дія дихлорацетату щодо карциноми Ерліха

Інститут експериментальної патології, онкології та радіобіології
імені Р. Є. Кавецького НАН України, м. Київ

Ключові слова: карцинома Ерліха, дихлорацетат, залізо-сірчані центри, NO-комплекси, пухлиноасоційовані макрофаги, активні форми кисню та азоту

Створення нового протипухлинного засобу, який має значущу протипухлинну та антиметастатичну ефективність, високу селективність дії, низьку токсичність відносно нормальних органів та тканин, низьку собівартість, нетравматичний спосіб застосування, й досі залишається недосяжною мрією. Вирішення цієї проблеми, безсумнівно, лежить у межах унікальних властивостей злоякісної клітини, які відрізняють її від нормальної. До таких властивостей можна віднести аеробний гліколіз злоякісної клітини, уперше відкритий О. Варбургом [1].

Гліколіз як основний механізм генерації АТФ в пухлинних клітинах є слабо ефективним механізмом продукції енергії порівняно з диханням. Крім того, гліколіз активно задіяний в пластичних процесах, які зумовлюють високу проліферативну активність пухлинних клітин. Так, основним субстратом для синтезу більше ніж 80 % фосфоровмісних сполук є глюкоза. Тому можливості пухлинних клітин ефективно адаптуватися до метаболічного стресу, обумовленого інгібуванням гліколізу, є досить обмеженими, що відкриває перспективи індукувати загибель пухлинних клітин, створюючи в клітинах «метаболічну катастрофу». Саме тому сьогодні проводяться достатньо широкі доклінічні та клінічні дослідження агентів, здатних пригнічувати пухлинний процес за рахунок модифікації енергетичного метаболізму в пухлинних клітинах. Останнім часом перспективною мішенню дії таких агентів вважа-

ють піруватдегідрогеназу (ПДГ), яка є ключовим перемикачем енергетичного метаболізму клітин з гліколізу на окисне фосфорилування [2, 3]. Відомо, що активність ПДГ регулюється родиною кіназ піруватдегідрогенази. Дихлорацетат натрію (ДХА) як міметик пірувату здатний стимулювати окисне фосфорилування за рахунок інгібування кінази піруватдегідрогенази та підвищувати внаслідок цього активність ПДГ у пухлинних клітинах [4]. Протягом 30 років ДХА використовували для корекції молочнокислого ацидозу, зумовленого або високою інтенсивністю гліколізу, або дефектним диханням клітин. У 2008 році канадськими вченими була показана висока протипухлинна ефективність ДХА відносно багатьох типів пухлин та його низька токсичність відносно нормальних тканин. Така особливість ДХА зумовила початок активних наукових досліджень цього препарату в онкології [5, 6].

Сьогодні дані щодо протипухлинної ефективності ДХА є досить суперечливими. Так, існують досить вагомі докази, одержані як в дослідженнях *in vitro*, так і *in vivo*, доцільності використання ДХА як протипухлинного засобу [7]. В умовах *in vitro* з використанням багатьох ліній пухлинних клітин було зафіксовано здатність ДХА індукувати апоптоз пухлинних, але не нормальних клітин [8, 9]. Доклінічні дослідження *in vivo* виявили, з одного боку, високу протипухлинну ефективність ДХА щодо недрібноклітинного раку легень, гліобластоми, раку молочної залози та простати, а з іншого – відсутність протипухлинної дії стосовно нейробластоми, лімфоми, саркоми тощо [10]. При цьому вважають, що неефективність протипухлинної дії ДХА може бути пов'язана,

зокрема, з особливостями функціонування мітохондріальної системи клітин злоякісних новоутворень [11]. Така варіабельність протипухлинної активності ДХА зумовлює необхідність проведення експериментальних досліджень з аналізом впливу ДХА на роботу електрон-транспортного ланцюга мітохондрій пухлинних клітин.

Мета дослідження – вивчення впливу ДХА на кінетику росту солідного варіанту карциноми Ерліха, функціональний статус компонентів дихального ланцюга мітохондрій пухлинних клітин та функціональну активність пухлино-асоційованих макрофагів.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на білих нелінійних мишах-самках масою 18,5–21,0 г, віком 2,0–2,5 міс розводки віварію Інституту експериментальної патології, онкології та радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України.

Усі дослідження на тваринах здійснювалися згідно із вимогами регіонального Комітету з етики роботи з піддослідними тваринами та з дотриманням правил роботи з лабораторними тваринами.

Клітини карциноми Ерліха (106/тварину) перещеплювали підшкірно в область спини між верхніми кінцівками в 0,2 мл фізіологічного розчину. Після інокуляції пухлинних клітин тварин було розподілено на дві групи (по 10 мишей у кожній).

0,4 мл водного розчину ДХА вводили перорально зондом мишам дослідної групи через один день, починаючи з другого дня після перещеплення пухлинних клітин (усього 8 введень). Сумарна доза ДХА становила 1,3 мг/г ваги миші. Миші контрольної групи отримували по відповідній схемі воду для ін'єкцій.

З моменту формування пухлини тричі на один тиждень проводили вимірювання пухлини за допомогою штангенциркуля. Об'єм пухлини розраховували за формулою:

$$V = a \cdot b \cdot c,$$

де a , b , c – найбільший лінійний розмір у трьох взаємно перпендикулярних площинах.

Протипухлинну активність оцінювали на 17 добу після інокуляції пухлинних клітин за допомогою індексу гальмування росту пухлини (D): який розраховували за формулою:

$$D = \frac{V_k - V}{V_k} \cdot 100 \%,$$

де V_k та V – середній об'єм пухлини відповідно в контрольній та дослідній групах.

Дослідження впливу ДХА на функціональний стан електрон-транспортного ланцюга мітохондрій (ЕТЛ Мх) пухлинних клітин, на функціональну активність пухлиноасоційованих макрофагів (ПАМ) та продукцію цими клітинами активних форм кисню та азоту (АФК) проводили на другий день після закінчення терапії (17 доба росту пухлини).

Для визначення впливу ДХА на функціональний стан ЕТЛ Мх пухлинних клітин з вилученої тканини пухлини готували циліндричні зразки каліброваних розмірів ($d = 4,0$ мм, $l = 25$ – 35 мм), заморозували та зберігали при температурі рідкого азоту. Записи спектрів ЕПР зразків проводили в низькотемпературних умовах при 77 К на спектрометрі E-109 Varian (США) при амплітуді модуляції $0,8 \cdot 10^{-4}$ Тл, потужності НВЧ-випромінювання 10,0 мВт, сталій часу приладу – 1,0 с. За даними спектрів ЕПР оцінювали рівні відновлених негемових залізо-сірчаних (Fe-S) центрів ($g = 1,94$) ЕТЛ мітохондрій, нітрозильних (NO) комплексів гемового заліза ($g_{\text{сеп}} = 2,01$) та Fe-S нітрозильних комплексів ($g_{\text{сеп}} = 2,03$).

Для дослідження впливу ДХА на фагоцитуючу активність (поглинальна здатність) пухлиноасоційованих фагоцитів останні ідентифікували за допомогою антитіл до CD14 згідно із протоколом виробника (Becton Dikenson, USA). Визначення фагоцитуючої активності CD14+ клітин проводили за допомогою цитофлюориметричного методу з використанням міченого ФІТЦ стафілококу [12].

Визначення рівня продукції АФК пухлиноасоційованими макрофагами проводили за допомогою проточної цитофлюориметрії з використанням

діацетату 2,7-дихлородигідрофлуоресцеїну (Sigma, США) [12].

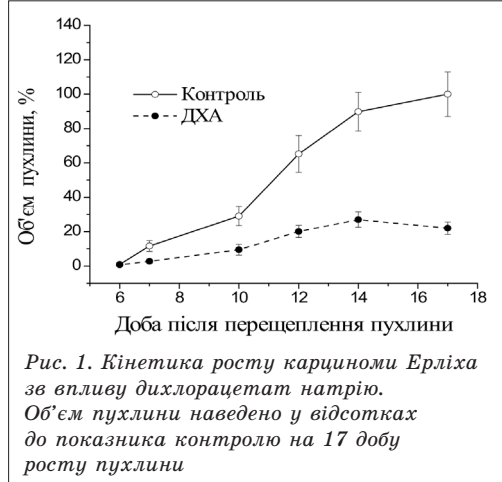
Статистичну обробку даних проводили з використанням описової статистики, параметричного t-критерію Стюдента та непараметричного критерію Манн-Уїтні з використанням Microsoft Excel, Microcal Origin та Statistica.

Результати та їх обговорення. Проведені дослідження показали високу протипухлинну активність ДХА відносно карциноми Ерліха. Відсоток гальмування росту пухлини після закінчення терапії складав 78 % (табл. 1).

При цьому суттєве гальмування росту пухлини спостерігалось на ранніх етапах росту (рис. 1). Максимальний протипухлинний ефект досягався після 5 введень ДХА у сумарній дозі 0,8 мг/г.

Як уже згадувалося, ДХА зумовлює в клітинах активацію окисного фосфорилювання, ефективність якого безпосередньо залежить від стану ЕТЛ Мх. Нині можна вважати доведеним, що внесок мітохондрій у функцію клітини значно ширший за роль в енергетичному метаболізмі (окисне фосфорилювання є найефективнішим процесом синтезу АТФ). Вони генерують АФК, які включаються в регуляцію багатьох фізіологічних процесів, але можуть бути летальними для клітини при їхній гіперпродукції. Саме тому можна припустити, що висока протипухлинна ефективність ДХА стосовно карциноми Ерліха зумовлена надвисоким рівнем генерації АФК у пухлині, що призводить до загибелі пухлинних клітин, не зважаючи на активацію дихлорацетатом окисного фосфорилювання та синтезу АТФ.

Проведені дослідження показали, що ДХА зумовлював значне підвищення рівня NO-комплексів з Fe-S центрами більше ніж на 167 % ($p < 0,01$) порівняно з відповідним показником у



контролі (рис. 2 А). Утворення таких комплексів призводить до інактивації Fe-S центрів в ЕТЛ Мх, порушує супряження окисного фосфорилювання з диханням та може спричиняти загибель пухлинних клітин [13].

Треба відмітити, що вміст Fe-S центрів (що характеризує функціональну активність комплексу I ЕТЛ Мх) у пухлинах мишей, які отримували ДХА, статистично не відрізнявся від його рівня в контрольних тварин (рис. 2 Б), що вказує на те, що ДХА зумовлює суттєве збільшення продукції радикальних форм оксиду азоту як пухлинними клітинами, так і нормальними клітинами, інкорпорованими в пухлинний процес. На це вказує статистично достовірне 2-разове підвищення рівня нітрозильних комплексів гемового заліза в пухлинній тканині мишей після терапії ДХА (рис. 2 В), а також результати досліджень впливу ДХА на функціональну активність ПАМ.

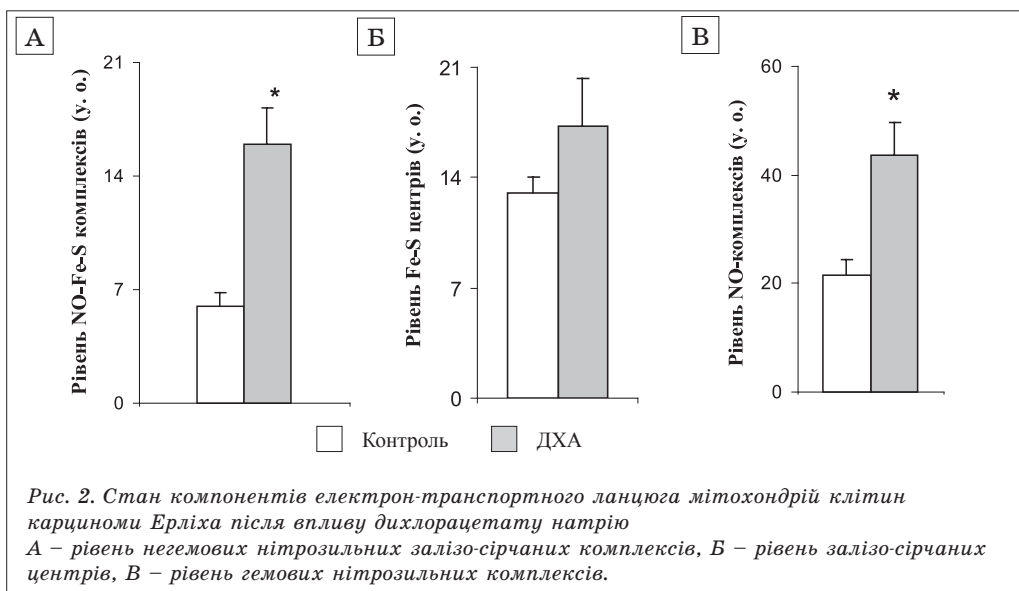
Відомо, що радикали оксиду азоту в пухлині виникають не тільки за рахунок їхнього підвищеного синтезу мітохондріальною NO-синтазою пухлинних клітин (яка є конститутивною ізоформою, локалізованою на внутрішній мембрані мітохондрії), а й за рахунок індукцйельної NO-синтази ПАМ.

Таблиця 1

Протипухлинна дія дихлорацетату натрію

Група тварин	Об'єм пухлини, мм ³	Індекс гальмування, %
Контроль	5600,0 ± 850,0	-
Терапія дихлорацетатом натрію	1232,0 ± 197,1*	78,0

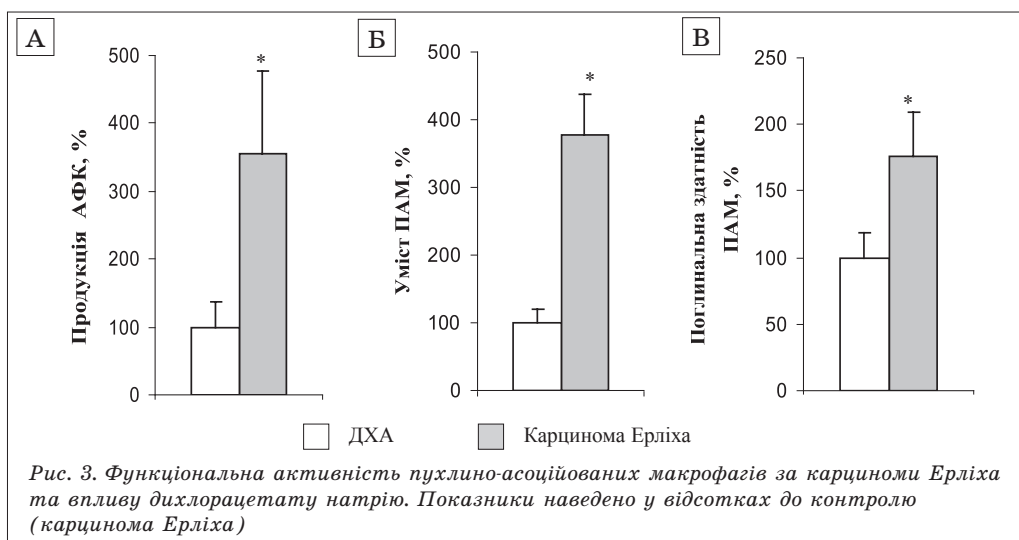
Примітка. *Показник статистично достовірно ($p < 0,001$) відрізняється від відповідного в контролі.



ПАМ утворюються з циркулюючих моноцитів, залучених у зону росту злоякісного новоутворення, оскільки однією з фізіологічних функцій імунної системи є розпізнавання та знешкодження трансформованих клітин [14]. Вони складають до 80 % лейкоцитів стромі солідних пухлин. Фенотипово-функціональна гетерогенність цієї популяції клітин має наслідком різноспрямований вплив ПАМ на пухлинний ріст. Рекрутовані моноцити в зоні росту пухлини здатні зазнавати функціональної диверсифікації на дві популяції: макрофаги з M2-фенотипом, проявляють проангіогенну дію, сприяючи пухлинному росту та прогресії; макрофаги з M1 фенотипом, які беруть участь

в активації протипухлинного імунітету і проявляють виражену цитотоксичну дію відносно пухлинних клітин [15]. При цьому протипухлинна дія ПАМ реалізується двома механізмами: фагоцитуюча активність та продукція АФК.

Аналіз функціональної активності ПАМ показав, що введення ДХА мишам з карциномою Ерліха призводив до значного підвищення рівня продукції АФК на 255 % порівняно з контрольними тваринами ($p < 0,01$) (рис. 3 А). Такий високий рівень АФК обумовлений як збільшенням вмісту ПАМ у пухлинній тканині на 78 % ($p < 0,05$) (рис. 3 Б), так і активацією внутрішньоклітинної продукції АФК у ПАМ.



**Вплив лактату на продукцію активних форм кисню та азоту
перитонеальними макрофагами**

Рівень активних форм кисню та азоту, %	Концентрація лактату, мМ			
	0	5,0	10,0	20,0
M ± m	100,0 ± 9,7	70,3 ± 3,8*	30,8 ± 5,4*	34,0 ± 4,8*

Примітка. *Показник статистично достовірно ($p < 0,01$) відрізняється від відповідного при концен-трації лактату 0.

Введення ДХА призводило також до активації фагоцитуючої активності ПАМ. Як показано на рисунку 3 В, рівень фагоцитуючої активності ПАМ у тварин, що отримували ДХА, був на 75,8 % ($p < 0,05$) вищий за відповідний показник контрольних мишей.

Слід зауважити, що зафіксована нами активація цитотоксичної активності ПАМ пов'язана з супресивною дією ДХА на продукцію лактату пухлинними клітинами. Останній у свою чергу здатний інгібувати функціональну активність імункомпетентних клітин [16]. Так, нашими дослідженнями виявлено, що 4-год інкубація перитонеальних макрофагів з лактатом обумовлювала зниження рівня продукції АФК макрофагами більше ніж на 65 % (табл. 2).

Таким чином, отримані результати вказують на те, що ДХА діє не тільки на пухлинні клітини карциноми Ерліха, зумовлюючи їхню загибель, але й суттєво активує протипухлинну цитотоксичну дію пухлиноасоційованих макрофагів.

Висновки

Показано, що ДХА проявляє високу протипухлинну активність відносно карциноми Ерліха, зумовлюючи гальмування росту пухлини на 78 %.

Протипухлинна дія ДХА корелює з його здатністю майже в 2 рази підвищувати рівень комплексів оксиду азоту з негемовими залізо-сірчаними білками в електрон-транспортному ланцюгу мітохондрій пухлинних клітин, що вказує на розвиток мітохондріальних дисфункцій, результатом яких може бути загибель пухлинних клітин.

Суттєвий вклад у протипухлинну активність ДХА вносить стимуляція цим агентом протипухлинної цитотоксичної активності пухлиноасоційованих макрофагів.

Підвищення рівня продукції АФК після терапії ДХА більше ніж у 2 рази зумовлено як значним збільшенням умісту ПАМ у пухлинній тканині, так і активацією внутрішньоклітинної продукції АФК у ПАМ.

1. Warburg O. On the origin of cancer cells / O. Warburg // Science. – 1956. – V. 123. – P. 309–314.
2. Jha M. K. Pyruvate dehydrogenase kinase as a potential therapeutic target for malignant gliomas / M. K. Jha, K. Suk // Brain Tumor Res. Treat. – 2013. – V. 1, № 2. – P. 57–63.
3. Sutendra G. Pyruvate dehydrogenase kinase as a novel therapeutic target in oncology / Sutendra G., Michelakis E. D. // Front Oncol. – 2013. – V. 3. – P. 38.
4. A mitochondria- K^+ channel axis is suppressed in cancer and its normalization promotes apoptosis and inhibits cancer growth / S. Bonnet, S. L. Archer, J. Allalunis-Turner [et. al.] // Cancer Cell. – 2007. – V. 11, № 1. – P. 37–51.
5. Kankotia S. Dichloroacetate and cancer: New home for an orphan drug? / S. Kankotia, P. W. Stacpoole // Biochim. Biophys. Acta. – 2014. – pii: S0304-419X (14) 00079.
6. Papandreou I. Anticancer drugs that target metabolism: is dichloroacetate the new paradigm? / I. Papandreou, T. Goliasova, N. C. Denko // Int. J. Cancer. – 2011. – V. 128. – P. 1001–1008.
7. Reversal of the glycolytic phenotype by dichloroacetate inhibits metastatic breast cancer cell growth *in vitro* and *in vivo* / R. C. Sun, M. Fadia, J. E. Dahlstrom [et. al.] // Breast Cancer Res. Treat. – 2010. – V. 120, № 1. – P. 253–260.
8. Dichloroacetate induces apoptosis and cell-cycle arrest in colorectal cancer cells / B. M. Madhok, S. Yeluri, S. L. Perry [et. al.] // BJC. – 2010. – V. 102, № 12. – P. 1746–1752.
9. Dichloroacetate induces apoptosis in endometrial cancer cells / J. Y. Wong, G. S. Huggins., M. Debidia [et. al.] // Gynecol. Oncol. – 2008. – V. 109, № 3. – P. 394–402.
10. Yaromina A. Effects of three modifiers of glycolysis on ATP, lactate, hypoxia, and growth in human tumor cell lines *in vivo* / A. Yaromina, S. Meyer, C. Fabian // Strahlenther Onkol. – 2012. – V. 188, № 5. – P. 431–437.
11. Sodium dichloroacetate selectively targets cells with defects in the mitochondrial ETC // L. H. Stockwin, S. X. Yu, S. Borgel [et. al.] // Int. J. Cancer. – 2010. – V. 127, № 11. – P. 2510–2519.

12. Применение проточной цитометрии для оценки функциональной активности иммунной системы человека // Пособие для врачей-лаборантов; под. ред. Р. М. Хаитова. – М. : ГНЦ РФ Институт иммунологии Минздрава РФ Хаитова. – 2001. – 53 с.
13. Pacher P. Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease / P. Pacher, J. Beckman, L. Liaudet // *Physiol. Rev.* – 2007. – V. 87, № 1. – P. 315–424.
14. Tumor-associated macrophages and the related myeloid-derived suppressor cells as a paradigm of the diversity of macrophage activation / A. Mantovani, A. Sica, P. Allavena [et al.] // *Hum. Immunol.* – 2009. – V. 70, № 5. – P. 325–330.
15. Stout R. D. Functional plasticity of macrophages: in situ reprogramming of tumor-associated macrophages / R. D. Stout, S. K. Watkins, J. Suttles // *J. Leukoc. Biol.* – 2009. – V. 86, № 5. – P. 1105–1109.
16. Dichloroacetate improves immune dysfunction caused by tumor-secreted lactic acid and increases antitumor immunoreactivity / T. Ohashi, T. Akazawa, M. Aoki [et al.] // *J. Cancer.* – 2013. – V. 133, № 5. – P. 1107–1118.

**О. М. Пясковська, І. В. Бойчук, О. Г. Федорчук, О. Р. Мельников,
О. Й. Дасюкевич, Д. Л. Колесник, Г. І. Соляник**

Противопухлинна дія дихлорацетату щодо карциноми Ерліха

Мета дослідження – вивчення впливу натрію дихлорацетату (ДХА) на кінетику росту солідного варіанта карциноми Ерліха, функціональний статус компонентів дихального ланцюга мітохондрій пухлинних клітин та функціональну активність пухлиноасоційованих макрофагів (ПАМ).

Дослідження проводили на білих нелінійних мишах-самках з перещепленою підшкірно карциномою Ерліха. Противопухлинну активність ДХА визначали за індексом гальмування росту пухлини. Стан електрон-транспортного ланцюга мітохондрій аналізували за вмістом залізо-сірчанних (Fe-S) центрів, їхніх комплексів з оксидом азоту (NO-Fe-S) та рівнем нітрозильних комплексів гемового заліза (NO-комплекси) методом ЕПР спектроскопії. Досліджували вплив ДХА на фагоцитуючу активність та продукцію активних форм кисню та азоту (АФК) ПАМ, ідентифікацію яких проводили за допомогою антитіл до CD14.

Доведено високу противопухлинну активність ДХА щодо карциноми Ерліха, гальмування росту якої після закінчення терапії складало 78 % ($p < 0,01$). Терапія ДХА зумовлювала підвищення рівня як NO-комплексів з Fe-S центрами на 167 % ($p < 0,01$), так і нітрозильних комплексів гемового заліза в пухлинній тканині на 100 % ($p < 0,01$) порівняно з відповідними показниками в контролі. При цьому рівень Fe-S центрів у пухлинах мишей, що отримували ДХА, статистично достовірно не відрізнявся від його рівня в контрольних тварин. Уведення ДХА призводило до значного підвищення рівня продукції АФК ПАМ на 255 % порівняно з контрольними тваринами ($p < 0,01$). Такий високий рівень АФК обумовлено як збільшенням вмісту ПАМ у пухлинній тканині на 78 % ($p < 0,05$), так і активацією внутрішньоклітинної продукції АФК у ПАМ.

Таким чином, встановлено, що ДХА діє не тільки на пухлинні клітини карциноми Ерліха, зумовлюючи їхню загибель, але й суттєво активує противопухлинну цитотоксичну дію пухлино-асоційованих макрофагів.

Ключові слова: карцинома Ерліха, дихлорацетат, залізо-сірчані центри, NO-комплекси, пухлиноасоційовані макрофаги, активні форми кисню та азоту

**О. Н. Пясковская, И. В. Бойчук, А. Г. Федорчук, О. Р. Мельников,
О. И. Дасюкевич, Д. Л. Колесник, Г. И. Соляник**

Противоопухолевое действие дихлорацетата в отношении карциномы Эрлиха

Цель исследования. Изучение влияния натрия дихлорацетата (ДХА) на кинетику роста солідного варианта карциномы Эрлиха, функциональный статус компонентов дыхательной цепи митохондрий опухолевых клеток и функциональную активность опухолеассоциированных макрофагов (ОАМ).

Исследования проводили на белых нелинейных мышах-самках с подкожно перевитой карциномой Эрлиха. Противоопухолевую активность ДХА определяли по индексу торможения роста опухоли. Состояние электрон-транспортной цепи митохондрий анализировали по содержанию железосерных (Fe-S) центров, их комплексов с оксидом азота (NO-Fe-S) и уровню нитрозильных комплексов гемового железа (NO-комплексы) методом ЭПР спектроскопии. Исследовали влияние ДХА на фагоцитирующую активность (способность поглощать меченый стафилококк) и продукцию активных форм кислорода и азота (АФК) ОАМ, маркировку которых проводили с использованием антител к CD14.

Доказано, что ДХА проявляет высокую противоопухолевую активность в отношении карциномы Эрлиха, торможение роста которой по окончании терапии составило 78 % ($p < 0,01$). Терапия ДХА обуславливала повышение уровня как NO-комплексов с Fe-S центрами на 167 % ($p < 0,01$), так и нитрозильных комплексов гемового железа в опухолевой ткани на 100 % ($p < 0,01$) по сравнению с соответствующим показателем у контрольных животных. При этом уровень Fe-S центров в опухолях мышей, получавших ДХА, статистически не отличался от его уровня у контрольных животных. Вве-

дение ДХА приводило к значительному повышению уровня продукции АФК ОАМ на 255 % по сравнению с контрольными животными ($p < 0,01$). Такой высокий уровень АФК обусловлен как увеличением содержания ОАМ в опухолевой ткани на 78 % ($p < 0,05$), так и активацией внутриклеточной продукции АФК в ОАМ.

Таким образом, установлено, что ДХА действует не только на опухолевые клетки карциномы Эрлиха, обуславливая их гибель, но и существенно активирует противоопухолевое цитотоксическое действие опухолеассоциированных макрофагов.

Ключевые слова: карцинома Эрлиха, дихлорацетат, железо-серные центры, NO-комплексы, опухолеассоциированные макрофаги, активные формы кислорода и азота

**O. N. Pyaskovskaya, I. V. Boychuk, A. G. Fedorchuk, O. R. Melnikov,
O. I. Dasyukevich, Д. Л. Колесник, G. I. Solyanik**

Antitumor effects of dichloroacetate against Ehrlich carcinoma

Aim. To study an influence of dichloroacetate (DCA) on the growth kinetics of solid variant of Ehrlich carcinoma, functional status of the components of mitochondrial respiratory chain (MRC) in tumor cells and functional activity of tumor-associated macrophages (TAM).

The study was carried out on white inbred female mice with subcutaneously transplanted Ehrlich carcinoma. DCA was administered per os by orogastric gavage technique each alternating day starting from the second day after tumor cell transplantation (8 administrations in total). Total DCA dose yielded 1,3 mg/g of body weight. Mice of control group were administered with water for injections by the corresponding scheme. Antitumor activity of DCA was evaluated by the tumor growth inhibition index. The MRC status was analyzed by the content of iron-sulfur centers (Fe-S), nitrosyl complexes of iron-sulfur centers (NO-FeS) and nitrosyl complexes of hem iron (NO-complexes) using the method of EPR spectroscopy. We have also studied an influence of DCA on phagocytic activity (an ability to absorb labeled staphylococcus) and production of reactive oxygen and nitrogen species (ROS) by TAM, which were marked with anti-CD14-antibodies.

There has been demonstrated high antitumor activity of DCA against Ehrlich carcinoma, with tumor growth inhibition of 78 % ($p < 0,01$) after therapy completion. Significant inhibition of tumor growth has been observed at early stages of tumor development. Maximal antitumor effect was achieved after 5 administrations of DCA at the total dose of 0,8 mg/g. DCA treatment of tumor bearing mice resulted in significant elevation of NO-complexes with Fe-S centers by 167 % ($p < 0,01$), as well as nitrosyl complexes of hem iron in tumor cells by 100 % ($p < 0,01$) compared to corresponding index in control animals. Along with this, the level of Fe-S centers in tumors of animals treated with DCA did not statistically differ from its level in control animals. Administration of DCA resulted in significant increase of ROS production in TAM by 255 % compared to control animals ($p < 0,01$). An increase of ROS level was caused by the rise of TAM content in tumor tissue by 78 % ($p < 0,05$) and activation of intracellular ROS production in TAM. In animals treated with DCA an increase of phagocytic activity of TAM by 75,8 % ($p < 0,05$) has been registered.

DCA shows considerable antitumor effect against Ehrlich carcinoma due to both direct influence on cancer cells causing their death and significant activation of TAM antitumor cytotoxic action to a greater extent via stimulation of ROS production.

Key words: Ehrlich carcinoma, dichloroacetate, iron-sulfur centers, NO-complexes, tumor-associated macrophages, reactive oxygen and nitrogen species

Надійшла: 01.09.2014 р.

Контактна особа: Соляник Галина Іванівна, доктор фізико-математичних наук, відділ фармакокорекції онкогенезу, Інститут експериментальної патології, онкології та радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України, буд. 45, вул. Васильківська, м. Київ, 03022.
Тел.: +38 0 44 257 94 16. Електронна пошта: gis@onconet.kiev.ua

Вплив тривалого застосування густого екстракту квасолі на показники вуглеводного обміну в щурів з метаболічним синдромом на тлі ожиріння

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: метаболічний синдром, ожиріння, гіпоглікемічна активність, метформін, густий екстракт квасолі

Ожиріння нерідко поєднується з такими захворюваннями, як цукровий діабет (ЦД) 2-го типу, артеріальна гіпертензія, дисліпідемія, ішемічна хвороба серця. Також ожиріння нерідко супроводжують інсулінорезистентність і гіперінсулінемія [1].

В індустріальних країнах серед населення старше 30 років розповсюдженість метаболічного синдрому (МС) складає, за даними різних авторів, 10–20 % [2]. Під дією таких факторів, як стрес, надмірне споживання алкоголю, паління порушується функціональний стан гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи, оскільки саме ця система забезпечує реалізацію відповідної реакції організму на стрес. Підвищується активність симпатичної нервової системи, що сприяє посиленню секреції інсуліну, підвищенню артеріального тиску та прискоренню частоти серцевих скорочень [3].

При хронічному впливі цих факторів змінюється функціональний стан гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи та розвивається гіперактивність або гіперсенсibiliзація цієї системи, що характеризується збільшенням секреції кортиколиберину, кортикотропіну та кортизолу, особливо в умовах стимуляції. Змінюється чутливість глюкocортикоїдних рецепторів, порушується система зворотного зв'язку та не відбувається адекватного гальмування секреції кортикотропіну кортизоном. Такі зміни функціонального стану гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи, за думкою Р. Bjorntorp, є пусковим механізмом каскаду ендокринних і метаболічних змін, характерних для МС [1].

Таким чином, незважаючи на досить широкий арсенал сучасних антидіабетичних засобів, проблема реальної компенсації МС і зниження прогресування діабетичних судинних ускладнень залишається невирішеною, що обґрунтовує пошук та створення нових ефективних малотоксичних антидіабетичних засобів.

Мета дослідження – вивчення тривалого впливу густого екстракту квасолі (ГЕК) на показники вуглеводного обміну – динаміку базальної глікемії, показники глікемії під час проведення внутрішньочеревного тесту толерантності до глюкози (ВЧТТГ), інсулінового тесту та глікоген-синтезуючої функції печінки на моделі МС на тлі ожиріння в щурів.

Матеріали та методи. Моделювання МС у статевозрілих шестимісячних щурів самців популяції Вістар ($n = 21$) проводили шляхом введення низької дози стрептозотоцину (30 мг/кг внутрішньочеревно, на цитратному буфері $\text{pH} = 4,5$) після 90-добового утримання тварин на комбінованій дієті, що являє собою сполучення високожирового раціону харчування (дієта з надмірним умістом насичених жирів: білків – 20,0 %, жирів – 60,0 %, вуглеводів – 20,0 % від загального калоражу) та надмірного споживання вуглеводів (вільний доступ до розчину фруктози в концентрації 200 г/л) [4, 5], з природною зміною режиму освітлення, температури та вологості повітря – за стандартами віварію. Тваринам контрольної групи відповідної статі та віку ($n = 9$) надавали стандартне харчування (білки – 15,0 %, жири – 5,0 %, вуглеводи – 80,0 % від загального калоражу), вільний доступ до води та утримували їх за аналогічних умов [6].

ГЕК вводили перорально в дозі 40 мг/кг за допомогою зонда щоденно

протягом 30 діб, починаючи з 95 доби експерименту. Як препарат порівняння використовували метформін (ВАТ «Фармак», Україна) у вигляді водної суспензії з Твіном-80 у дозі 50 мг/кг маси тіла за аналогічною схемою. Контрольна група тварин за аналогічною схемою отримувала плацебо – 3–5 % водну емульсію Твіну-80.

Базальну глікемію піддослідних тварин визначали на першу, 95 та 125 добу експерименту. Стан глюкозного гомеостазу та чутливості до інсуліну після відтворення моделі МС на тлі ожиріння (95 доба експерименту) та після введення метформіну та ГЕК (125 доба експерименту) оцінювали за показниками глікемії під час проведення внутрішньочеревного тесту толерантності до глюкози (ВЧТТГ) (3 г/кг маси тіла, 0; 30; 60 та 120 хв) та інсулінового тесту (0,2 Од/кг маси тіла, 0; 15, 30 та 60 хв) [7, 8]. Уміст глюкози в крові, що брали з хвостової вени щурів, визначали глюкозооксидазним методом з використанням ферментативного аналізатора «Ексан-Г» (Литва). Площину під глікемічними кривими (ПГК) при проведенні вищевказаних тестів розраховували за допомогою комп'ютерної програми «Mathlab». У гомогенатах печінки оцінювали вміст

глікогену фотоколориметрично за методом Кемпа [9].¹

Експериментальні дослідження проводили згідно із положеннями «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах», що відповідають положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985 р.) [10]. Статистичну обробку отриманих результатів проводили методами дисперсійного аналізу за допомогою програми «Statistica, v.6,0».

Результати та їх обговорення. У результаті проведеного дослідження встановлено, що в щурів усіх груп з експериментальною моделлю МС на тлі ожиріння визначалося суттєве підвищення базальної глікемії на 95 добу експерименту порівняно з інтактними тваринами (табл. 1).

Тривале застосування в лікуванні щурів з МС на тлі ожиріння ГЕК і препарату порівняння метформіну призвело до статистично значущого зниження базальної глікемії на 27 % та 24 % відповідно, але не нормалізувало її остаточно (табл. 1). При цьому слід відмітити, що ГЕК не поступався за дією метформіну – антидіабетичному препа-

Таблиця 1

Динаміка базальної глікемії в щурів з метаболічним синдромом на тлі ожиріння за умов тривалого застосування густого екстракту квасолі та метформіну ($\bar{x} \pm Sx$), $n = 7-6$

Група тварин	Базальна глікемія, ммоль/л		
	на початку дослідження	на 95 добу	на 125 добу
Інтактний контроль	4,30 ± 0,09	4,06 ± 0,13	4,21 ± 0,12
Діабет + плацебо	4,25 ± 0,11	8,67 ± 0,32 $p_1 < 0,001$	8,85 ± 0,23 $p_1 < 0,001$
Діабет + метформін	4,33 ± 0,13	8,55 ± 0,24 $p_1 < 0,001$	6,51 ± 0,30 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$
Діабет + густий екстракт квасолі	4,45 ± 0,14	8,70 ± 0,27 $p_1 < 0,001$	6,32 ± 0,42 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$

Примітка. p_1 – значущість змін порівняно з групою «Інтактний контроль», p_2 – значущість змін порівняно з групою «Діабет+плацебо», p_3 – значущість змін відносно показника на 95 добу.

¹Експериментальні дослідження щодо вивчення впливу ГЕК на показники вуглеводного обміну в щурів з ЦД 2-го типу на тлі ожиріння проведені у відділі експериментальної ендокринології Інституту ендокринної патології імені В. Я. Данилевського НАМН України під керівництвом завідувачої відділом професора В. В. Полторака.

рату першого вибору для лікування МС на тлі ожиріння.

Стан глюкозного гомеостазу та чутливості до інсуліну наприкінці експерименту оцінювали за показниками глікемії під час проведення ВЧТТГ та інсулінового тесту з визначенням відсотку зниження глікемії відносно її базального рівня та розрахуванням ПГК. Проведення ВЧТТГ у піддослідних тварин після тривалого лікування ГЕК і метформіном виявило, що ГЕК приводив до вірогідного зниження глюкозної інтолерантності з ефективністю, порівняною з дією метформіну, про що свідчать дані глікемії в усі часові проміжки тесту, а також показник ПГК (табл. 2).

Таким чином, отримані результати доводять наявність вірогідних гіпоглікемічних властивостей у ГЕК за умов тривалого застосування для лікування щурів з МС на тлі ожиріння. При цьому, ГЕК виявив виражений цукрознижувачий ефект, аналогічний дії препарату порівняння метформіну.

Визначено, що діабетичні тварини, які отримували плацебо, характеризуються наявністю інсулінорезистентності, оскільки була практично відсутньою реакція на екзогенно введений інсулін, а показник ПГК протягом інсулінового тесту більше ніж у два рази перевищував верифікований для інтактних тварин (табл. 3).

Застосування ГЕК свідчило про значуще підвищення чутливості до інсуліну та відповідно до вірогідного зниження показника ПГК протягом інсулінового тесту відносно оцінених характеристик групи «Діабет+плацебо». Слід відзначити, що останній показник у групі «Діабет+ГЕК» статистично не відрізнявся від аналогічного показника у групи, що отримувала препарат порівняння метформін (табл. 3).

Вагомою характеристикою порушення вуглеводного обміну внаслідок розвитку інсулінорезистентності є показник вмісту глікогену в гомогенатах печінки. Відтворення високовуглеводної та високожирової моделі МС з додатковим введенням субдіабетогенної дози стрептозотцину призвело до вираженого зниження глікоген-синтезуючої функції гепатоцитів та відповідно до значного зменшення вмісту цього полімеру глюкози ($19,22 \pm 1,25$ мг глюкози/г печінки в тварин групи «Діабет+плацебо» відносно $52,07 \pm 1,92$ мг глюкози/г печінки в тварин контрольної групи, $p < 0,001$). Тривале застосування ГЕК суттєво збільшувало (але не до повної нормалізації) уміст глікогену в печінці діабетичних щурів, що за виразністю аналогічно дії метформіну ($44,95 \pm 5,25$ мг глюкози/г печінки в тварин групи «Діабет+ГЕК» порівняно до $39,44 \pm 3,59$ мг глюкози/г печінки в тварин групи «Діабет+ метформін», $p > 0,05$).

Таблиця 2

Показники глікемії під час проведення тесту толерантності до глюкози в щурів з метаболічним синдромом на тлі ожиріння за умов тривалого застосування густого екстракту квасолі та метформіну ($\bar{x} \pm Sx$), $n = 6-7$

Група тварин	Базальна глікемія, ммоль/л	Глікемія, ммоль/л			Площа під глікемічною кривою, ммоль/л · хв
		через 30 хв	через 60 хв	через 120 хв	
Інтактний контроль	$4,21 \pm 0,12$	$6,87 \pm 0,36$	$4,90 \pm 0,30$	$4,32 \pm 0,16$	$619,1 \pm 19,1$
Діабет + плацебо	$8,85 \pm 0,23$ $p_1 < 0,001$	$16,08 \pm 0,59$ $p_1 < 0,001$	$14,70 \pm 0,87$ $p_1 < 0,001$	$11,58 \pm 0,34$ $p_1 < 0,001$	$1624,3 \pm 38,8$ $p_1 < 0,001$
Діабет + метформін	$6,51 \pm 0,30$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$11,29 \pm 0,58$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$9,57 \pm 0,35$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$7,93 \pm 0,44$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$1104,9 \pm 21,7$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Діабет + густий екстракт квасолі	$6,32 \pm 0,42$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$10,03 \pm 0,52$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$9,04 \pm 0,66$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$8,34 \pm 0,26$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$1052,5 \pm 51,9$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$

Примітка. Тут і в табл. 3: p_1 – значущість змін порівняно з групою «Інтактний контроль», p_2 – значущість змін порівняно з групою «Діабет+плацебо».

Показники інсулінового тесту в щурів з метаболічним синдромом на тлі ожиріння за умов тривалого застосування густого екстракту квасолі ($\bar{x} \pm Sx$), $n = 6-7$

Група тварин	Базальна глікемія, ммоль/л	Зниження глікемії після введення інсуліну, %			Площа під глікемічною кривою, ммоль/л · хв
		через 15 хв	через 30 хв	через 60 хв	
Інтактний контроль	4,16 ± 0,13	36,65 ± 5,11	43,53 ± 3,31	38,33 ± 2,20	162,9 ± 9,9
Діабет + плацебо	8,97 ± 0,22 $p_1 < 0,001$	10,96 ± 4,14 $p_1 < 0,001$	11,33 ± 3,21 $p_1 < 0,001$	9,64 ± 3,20 $p_1 < 0,001$	487,6 ± 10,9 $p_1 < 0,001$
Діабет + метформін	6,87 ± 0,28 $p_1 < 0,001$	28,09 ± 6,34 $p_2 < 0,001$	30,90 ± 6,70 $p_2 < 0,001$	36,23 ± 3,39 $p_2 < 0,001$	296,60 ± 6,86 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Діабет + густий екстракт квасолі	6,37 ± 0,25 $p_1 < 0,001$	31,00 ± 3,42 $p_2 < 0,001$	33,70 ± 2,23 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$	32,81 ± 3,50 $p_2 < 0,001$	272,9 ± 11,4 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$

Висновки

Застосування ГЕК у лікуванні щурів з МС на тлі ожиріння впродовж місяця проявляє виражені антигіперглікемічні властивості, вірогідно зменшує інтолерантність до глюкози, поліпшує чутливість до інсуліну та суттєво збільшує

вміст глікогену на рівні дії препарату порівняння метформіну.

Таким чином, отримані дані свідчать про доцільність подальших експериментальних досліджень ГЕК з метою створення фітопрепаратів для корекції вуглеводного обміну при МС на тлі ожиріння.

1. Дедов И. И. Сахарный диабет / И. И. Дедов, М. В. Шестакова. – М. : Универсум Паблшинг, 2003. – 455 с.
2. KDOQI Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice recommendations for Diabetes and Chronic Kidney Disease // AJKD. – 2007. – № 369. – P. 201–207.
3. Cancer risk in diabetic patients treated with metformin: a systematic review and meta-analysis / H. Noto, A. Goto, T. Tsujimoto [et al.] // PLoS One. – 2012. – № 7 (3). – № e3341 Epub.
4. Jurgoński A. A high-fat diet differentially affects the gut metabolism and blood lipids of rats depending on the type of dietary fat and carbohydrate [Text] / A. Jurgoński, J. Juśkiewicz, Z. Zduńczyk // Nutrients. – 2014. – V. 6, № 2. – P. 616–626.
5. Streptozotocin-induced diabetes models: pathophysiological mechanisms and fatal outcomes [Text] / D. C. Damasceno, A. O. Netto, I. L. Lessi [et al.] // BioMed. Research International. – 2014. – V. 2014. – Article ID 819065, 11 pages.
6. Лабораторные животные [Текст] / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария [и др.]. – К. : Вища школа, 1983. – 383 с.
7. Полторак В. В. Методичні рекомендації з експериментального вивчення нових гіпоглікемічних засобів [Текст] / В. В. Полторак, Н. І. Горбенко // Доклінічні дослідження лікарських засобів / за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – С. 396–408.
8. The short insulin tolerance test for determination of insulin sensitivity: a comparison with euglycaemic clamp [Text] / A. Akinmokin, P. Selby, K. Ra-maiya [et al.] // Diabet. Med. – 1992. – V. 9, № 5. – P. 432–437.
9. Прохорова Н. И. Большой практикум по углеводному и липидному обмену [Текст] : учеб. пособие / Н. И. Прохорова, З. И. Тупикова. – М. : Изд-во Ленингр. ун-та, 1965. – 168 с.
10. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації / за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.

В. А. Рибак, Л. М. Малоштан

Вплив тривалого застосування густого екстракту квасолі на показники вуглеводного обміну в щурів з метаболічним синдромом на тлі ожиріння

Метаболічний синдром (МС) – це комплекс взаємопов'язаних порушень вуглеводного і жирового обміну, а також механізмів регуляції артеріального тиску та функцій ендотелію, патогенез яких обумовлений інсулінорезистентністю. Актуальною задачею сучасної фармакології є пошук та створення лікарських засобів рослинного походження, що одночасно знижують декілька чинників ризику МС.

Мета дослідження – вивчити тривалий вплив густого екстракту квасолі (ГЕК) на показники вуглеводного обміну – динаміку базальної глікемії, показники глікемії під час проведення внутрішньочеревного тесту толерантності до глюкози (ВЧТТГ), інсулінового тесту та глікоген-синтезуючої функції печінки на моделі МС на тлі ожиріння в статевозрілих шестимісячних щурів-самців.

Уміст глюкози в крові, що брали з хвостової вени щурів, визначали глюкозооксидазним методом з використанням ферментативного аналізатора «Ексан-Г» (Литва). Площу під глікемічними кривими при проведенні вищевказаних тестів розраховували за допомогою комп'ютерної програми «Mathlab». У гомогенатах печінки оцінювали вміст глікогену фотоколориметрично за методом Кемпа.

Результати досліджень показали, що ГЕК, який застосовували щоденно протягом одного місяця для лікування щурів з МС на тлі ожиріння проявляє виражені антигіперглікемічні властивості, вірогідно зменшує інтолерантність до глюкози, поліпшує чутливість до інсуліну та суттєво збільшує вміст глікогену на рівні дії препарату порівняння метформіну.

Таким чином, отримані дані свідчать про доцільність подальших експериментальних досліджень ГЕК з метою створення фітопрепаратів для корекції вуглеводного обміну при МС на тлі ожиріння.

Ключові слова: метаболічний синдром, ожиріння, гіпоглікемічна активність, метформін, густий екстракт квасолі

В. А. Рыбак, Л. Н. Малоштан

Влияние длительного применения густого экстракта фасоли на показатели углеводного обмена у крыс с метаболическим синдромом на фоне ожирения

Метаболический синдром (МС) – это комплекс взаимосвязанных нарушений углеводного и жирового обмена, а также механизмов регуляции артериального давления и функции эндотелия, патогенез которых обусловлен инсулинорезистентностью. Актуальной задачей современной фармакологии является поиск и создание лекарственных средств растительного происхождения, одновременно снижающих несколько факторов риска МС.

Цель исследования – изучение длительного влияния густого экстракта фасоли (ГЭК) на показатели углеводного обмена – динамику базальной гликемии, показатели гликемии во время проведения внутрибрюшинного теста толерантности к глюкозе (ВБТТГ), инсулинового теста и гликоген-синтезирующей функции печени на модели МС на фоне ожирения у половозрелых шестимесечных крыс самцов.

Содержание глюкозы в крови, взятой из хвостовой вены крыс, определяли глюкозооксидазным методом с использованием ферментативного анализатора «Ексан-Г» (Литва). Площадь под гликемическими кривыми при проведении вышеуказанных тестов рассчитывали при помощи компьютерной программы «Mathlab». В гомогенатах печени оценивали содержание гликогена фотоколориметрически, методом Кемпа.

Результаты исследований показали, что ГЭК, который применяли ежедневно в течение одного месяца для лечения крыс с МС на фоне ожирения, проявляет выраженные антигипергликемические свойства, достоверно уменьшает интолерантность к глюкозе, улучшает чувствительность к инсулину и существенно увеличивает содержание гликогена на уровне действия препарата сравнения метформина.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о целесообразности дальнейших экспериментальных исследований ГЭК с целью создания фитопрепаратов для коррекции углеводного обмена при МС на фоне ожирения.

Ключевые слова: метаболический синдром, ожирение, гипогликемическая активность, метформин, густой экстракт фасоли

V. A. Rybak, L. M. Maloshtan

The influence of a prolonged use of thick beans extract on the indicators of carbohydrate metabolism in the rats with metabolic syndrome and obesity

The metabolic syndrome (MS) – is a set of interrelated disorders of carbohydrate and lipid metabolism, mechanisms of blood pressure regulation and endothelial functions, the pathogenesis of which is related to the insulin resistance development. One of the main purpose of the modern pharmacology is to find and create some herbal medicines which possesses the ability to reduce some multiple risk factors for MS.

The goal of this study was to evaluate the effects of the thick bean extract (TBE) on the carbohydrate metabolism indicators such as the dynamics of basal glycemia, blood glucose values during the intraperitoneal glucose tolerance test (IPGTT), insulin test and glycogen-synthesizing liver functions on the model of MS with obesity in the mature six-month males rats.

The results have showed that the use of the TBE in the treatment of the rats with the metabolic syndrome and related obesity during a month demonstrated pronounced antihypoglycemic properties and significantly reduced the intolerance to glucose, and improved insulin sensitivity as well significantly increased the glycogen as compared to Metformin.

Thus, these data indicate the feasibility of further experimental studies of the TBE to create some herbal remedies for correction of carbohydrate metabolism during the MS and obesity.

Key words: metabolic syndrome, obesity, hypoglycemic activity, metformin, thick bean extract

Надійшла: 10.09.2014 р.

Контактна особа: Рыбак Вікторія Анатоліївна, кандидат біологічних наук, кафедра біології, Національний фармацевтичний університет, буд. 12, вул. Мельникова, м. Харків, 61002.
Тел.: +38 0 57 706 23 42. Електронна пошта: vitarybak@mail.ru

А. В. Сасенко

Вплив натрієвої солі 3-(2-оксо-3-феніл-2Н-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл) пропанової кислоти на фізичну витривалість щурів за умов гіпоксичних станів

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова

Ключові слова: актопротектори, гіпоксія, ішемія, похідні 1,2,4-тріазинохіназоліну, бемітил

У сучасному світі гіпоксія займає перше місце серед патологічних чинників, що спричинюють функціонально-метаболічні порушення. Надзвичайно високі показники смертності та інвалідації людей внаслідок судинних катастроф, отруєнь гіпоксантами та іншими засобами, а також недостатня ефективність сучасних антигіпоксантив зумовлюють інтерес до пошуку речовин, придатних для створення на їхній основі нових лікарських засобів з вказаною дією [9]. У цьому плані привертають увагу похідні 1,2,4-тріазинохіназоліну, яким притаманні протигіпоксична [5], протиішемічна [6] та актопротекторна дії [7]. У попередніх дослідженнях [1,2] нами було встановлено, що одному із похідних вказаного класу речовин – натрієвій солі 3-(2-оксо-3-феніл-2Н-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл) пропанової кислоти (сполука МТ-279) притаманна виражена актопротекторна дія, що й спонукало до проведення даного дослідження, оскільки при фізичних навантаженнях виникає гіпоксія, у першу чергу, у життєво важливих органах [8].

Мета дослідження – оцінити вплив сполуки МТ-279 у порівнянні з бемітилом на фізичну витривалість щурів за моделюванням гіпоксичних станів.

Матеріали та методи. Для дослідження взято натрієву сіль 3-(2-оксо-3-феніл-2Н-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл) пропанової кислоти (сполука з лабораторним шифром МТ-279) та еталонний актопротектор бемітил. Експеримент

проведено на 2 моделях гіпоксії: циркуляторній (гостре порушення мозкового кровообігу) та гемічній. Досліди проведено на 56 нелінійних щурах обох статей масою 170–220 г. Циркуляторну гіпоксію – гостре порушення мозкового кровотоку (ГПМК) у щурів моделювали під кетаміновим наркозом (20 мг/кг) шляхом однобічної оклюзії правої загальної сонної артерії до її біфуркації. Перев'язку судин виконували при виході тварин із наркозу (у стадії поверхневої седації). Тварин було розподілено на 4 групи по 7 особин у кожній: I – інтактні щури, II – контрольна група (ГПМК без фармакологічної корекції), III – група тварин, що отримувала сполуку МТ-279 (2,5 мг/кг), IV – група щурів, які отримували бемітил (33 мг/кг). Дози досліджуваних речовин становлять їх ЕД₅₀ за результатами плавального тесту [2]. Досліджувані речовини вводили внутрішньоочеревинно протягом 15 днів після відтворення ГПМК. При цьому динамічну витривалість тварин оцінювали за допомогою плавального тесту у воді ($t = 24-26^{\circ}\text{C}$) [10], статичну витривалість – за часом утримування тварин на стрижні, що обертається (15 об/хв) [11], на 5 та 15 добу експерименту – у терміни, коли ішемічні зміни в мозку найбільш показові [9]. Гостру гемічну гіпоксію моделювали шляхом одноразового підшкірного введення тваринам метгемоглобіноутворювача – натрію нітриту в дозі 20 мг/кг [10]. Тварин було розподілено на 4 групи по 7 у кожній: I – інтактні тварини, II – контрольна група (гіпоксія без корекції), III та IV – тварини, яким за 30 хв до введення метгемоглобіноутворювача вводили сполуку

МТ-279, або бемітил у вищезазначених дозах. При цьому фізичну витривалість у щурів оцінювали за плавальним тестом у воді 24–26 °С. Цифрові дані обраховували непараметичними методами з використанням критерію Манна-Уїтні за допомогою програми IBM SPSS Statistics 22 [4]. Різницю між показниками вважали достовірною при $p \leq 0,05$. Отримані дані надано в таблицях 1–3.

Результати та їх обговорення. За результатами проведеного дослідження встановлено, що за умов циркуляторної гіпоксії в нелікованих щурів уже на 5 добу експерименту значно погіршилися показники динамічної та статичної витривалості. Про це свідчило, перш за все, вірогідне зменшення тривалості плавального тесту на 40 % відносно інтактних тварин. На 15 добу в тварин контрольної групи відбувалося покращання фізичної витривалості організму – тривалість плавального тесту щурів зменшилася лише на 12,0 % ($p > 0,05$) відносно інтактних щурів (див. табл. 1).

У той самий час курсове введення досліджуваних сполук щурам з ГПМК сприяло відновленню фізичної витривалості тварин, що було помітно вже на 5

добу експерименту. Так, під впливом сполуки МТ-279 (2,5 мг/кг), так само, як і бемітилу (33 мг/кг), відмічалось зростання показників плавального тесту відповідно на 73,4 % та 63,9 % відносно нелікованих тварин.

Указані зміни показників плавального тесту на тлі досліджуваних речовин відмічали й на 15 добу експерименту: у групі тварин, що отримували сполуку МТ-279, приріст склав 73,2 %; у групі, що отримували бемітил – 44,7 % відносно контролю.

Активуюча дія сполуки МТ-279, як і бемітилу, на фізичну витривалість щурів, також знайшла підтвердження при оцінці їхньої статичної витривалості, що чітко було видно вже на 5 добу експерименту (табл. 2).

Так, у контролі статична витривалість тварин з ГПМК знизилася в середньому на 47,1 % порівняно з інтактними тваринами, а під впливом МТ-279 та бемітилу даний показник вірогідно збільшився на 127,0 % та 73,9 % відповідно порівняно з показником контрольних щурів. Стимулюючий вплив сполуки МТ-279, як і бемітилу, на статичну витривалість щурів зберігався й на 15 добу експерименту. При

Таблиця 1

Тривалість плавального тесту щурів за умов гострого порушення мозкового кровоотоку та впливу сполуки МТ-279 і бемітилу ($M \pm m$, $n = 7$)

Умови експерименту	Доза, мг/кг	Тривалість плавання, с	
		5 доба	15 доба
Інтактні щурі	–	406,6 ± 5,6	473,6 ± 11,2
ГПМК без лікування (контроль)	–	244,0 ± 6,1 [#]	416,0 ± 17,8 [#]
ГПМК+МТ-279	2,5	423,2 ± 13,1 [*]	720,7 ± 15,3 ^{*0}
ГПМК+Бемітил	33,0	400,0 ± 5,5 [*]	602,0 ± 16,6 [*]

Примітка. Тут і в табл. 2: [#] $p \leq 0,05$ відносно інтактних тварин, ^{*} $p \leq 0,05$ відносно контрольної групи тварин; ⁰ $p \leq 0,05$ відносно бемітилу.

Таблиця 2

Статична витривалість щурів за умов гострого порушення мозкового кровоотоку та впливу сполуки МТ-279 і бемітилу ($M \pm m$, $n = 7$)

Умови експерименту	Доза, мг/кг	Тривалість утримування на стрижні, с	
		5 доба	15 доба
Інтактні щурі	–	176,1 ± 6,5	170,5 ± 9,2
ГПМК без лікування (контроль)	–	93,2 ± 7,0 [#]	151,1 ± 6,1
ГПМК+МТ-279	2,5	211,6 ± 12,5 ^{*0}	250,3 ± 9,3 ^{*0}
ГПМК+Бемітил	33,0	162,1 ± 9,3 [*]	215,4 ± 8,5 [*]

Тривалість плавального тесту в щурів за умов гемічної гіпоксії та впливу сполуки МТ-279, ($M \pm m$, $n = 7$)

Умови експерименту	Доза, мг/кг	Тривалість плавання, с
Інтактні тварини	–	$385,0 \pm 30,0$
Гіпоксія без корекції (контроль)	–	$192,7 \pm 14,7^{\#}$
МТ-279 + гіпоксія	2,5	$297,0 \pm 15,0^*$
Бемітил + гіпоксія	33,0	$269,4 \pm 10,7^*$

Примітка. $^{\#}p \leq 0,05$ відносно інтактних тварин; $^*p \leq 0,05$ відносно контрольної групи тварин.

цьому тривалість утримання тварин з ГПМК на стрижні, що обертається, вірогідно зросла на 65,6 % та 42,6 % відповідно відносно контролю.

Оцінюючи отримані результати, можна припустити, що натрієвій солі 3-(2-оксо-3-феніл-2Н-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл) пропанової кислоти (сполуці МТ-279), як і бемітилу, притаманний протигіпоксичний ефект, про що свідчить зростання фізичної витривалості щурів з циркуляторною ішемією головного мозку на тлі дії вказаних речовин.

Щодо наявності в МТ-279 і бемітилу протигіпоксичного ефекту може свідчити також їхня спроможність підвищувати фізичну витривалість щурів з гемічною гіпоксією. На це вказувало вірогідне зростання тривалості плавального тесту тварин на тлі досліджуваних речовин за умов експерименту на 54,1 % та 39,8 % відповідно (табл. 3).

Отже, за результатами проведених досліджень на моделях гіпоксичних станів можна заключити, що натрієвій солі 3-(2-оксо-3-феніл-2Н-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл) пропанової кислоти (МТ-279), так само як і бемітилу, притаманний актопротектор-

ний ефект, що ймовірно зумовлений протигіпоксичними властивостями сполуки. Отримані результати цілком узгоджуються з даними інших дослідників про наявність у сполуки МТ-279 захисної дії на ішемізований мозок [5], який найбільше страждає за надмірних фізичних навантажень [8].

Для встановлення механізмів актопротекторного ефекту сполуки МТ-279 у подальшому доцільно дослідити її вплив на стан біохімічних показників у крові, внутрішніх органах та скелетних м'язах тварин на тлі тривалих фізичних навантажень.

Висновки

1. Курсове 15-денне введення щурам з модельованою циркуляторною гіпоксією мозку сполуки МТ-279 (2,5 мг/кг, внутрішньоочеревинно), як і бемітилу (33,0 мг/кг, внутрішньоочеревинно), сприяє вірогідному відновленню статичної та динамічної витривалості тварин.

2. За умов гемічної гіпоксії профілактичне одноразове введення щурам сполуки МТ-279 (2,5 мг/кг, внутрішньоочеревинно), так само, як і бемітилу (33 мг/кг, внутрішньоочеревинно), підвищує фізичну витривалість тварин.

- Скринінг актопротекторної активності серед похідних хіназоліну та його конденсованих аналогів / Степанюк Г. І. Саєнко А. В., Шевчук О. К. [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2010. – № 4 (17). – С. 60–63.
- Саєнко А. В. Порівняльна оцінка курсового введення натрієвої солі 3-(2-оксо-3-феніл-2Н-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл) пропанової кислоти та бемітилу на поведінково-пошукові реакції щурів в умовах тривалої гіпокінезії / А. В. Саєнко, Г. І. Степанюк, С. І. Коваленко // Український медичний альманах. – 2014. – № 2 (17). – С. 138–142.
- Бемітил (bemitylum) – антигіпоксик, актопротектор: фармакологические эффекты и клиническое применение в медицине: информ. бюл. / Э. С. Питкевич, М. О. Лозинский, А. Н. Лычиков [и др.]. – К., 2001. – 44 с.
- Лапач С. Н. Статистика в науке и бизнесе: Практическое руководство / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К. : Морион, 2002. – 640 с.
- Вплив похідних 6-заміщених 3R-2Н-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-2-онів (сполук МТ-279 та МТ-282) на центральну та церебральну гемодинаміку інтактних тварин та за умов моделювання гострого порушення мозкового кровотоку / Маринич Л. І., Степанюк Г. І., Пашинська О. С. [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2013. – № 2 (33). – С. 26–30.

6. Скринінг церебропротекторної дії серед нових похідних хіназолону-4 при експериментальній ішемії головного мозку / Г. І. Степанюк, О. А. Ходаківський, І. Ф. Беленічев [та ін.] // Вестн. неотложной и восстановительной медицины. – 2008. – № 1. – С. 115–117.
7. Альчук О. І. Актопротекторні властивості нових похідних 4-оксо(аміно) хіназоліну (експериментальне дослідження) : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спеціальність 14.03.05 / Альчук Олександра Іванівна; ДУ «Ін-т фармакології та токсикології АМН України». – К., 2011. – 20 с.
8. Фармакология спорта; под ред. С. А. Олейника, Л. М. Гуниной, Р. Д. Сейфулы. – К. : Олимпийская литература, 2010. – 638 с.
9. Лукьянова Л. Д. Гипоксия при патологиях. Молекулярные механизмы и принципы коррекции / Л. Д. Лукьянова // Перфторорганические соединения в биологии и медицине : сб. науч. тр. – СПб., 2001. – С. 56–59.
10. Фармакологическая коррекция утомления / Ю. Г. Бобков, В. М. Виноградов, В. Ф. Катков [и др.]. – М. : Медицина, 1984. – 207 с.
11. Гацура В. В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ / В. В. Гацура. – М. : Медицина, 1974. – 142 с.

А. В. Саенко

Вплив натрієвої солі 3-(2-оксо-3-феніл-2Н-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл) пропанової кислоти на фізичну витривалість щурів за умов гіпоксичних станів

Обмежений арсенал актопротекторів практично одним бемітилом спонукає до пошуку нових активних речовин даного класу, придатних для створення на їхній основі лікарських засобів.

Мета дослідження – оцінити вплив сполуки МТ-279 порівняно з бемітилом на фізичну витривалість щурів за моделюванням гіпоксичних станів. Для дослідження взято натрієву сіль 3-(2-оксо-3-феніл-2Н-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл) пропанової кислоти (сполука МТ-279, 2,5 мг/кг, внутрішньоочеревинно) та бемітил (33,0 мг/кг, внутрішньоочеревинно). Дослідження проведено на 56 білих нелінійних щурах обох статей масою 170–220 г на двох моделях гіпоксії: циркуляторній гіпоксії головного мозку та гемічній гіпоксії. Циркуляторну гіпоксію моделювали шляхом перев'язки правої загальної сонної артерії до місця її біфуркації, гемічну – введенням тваринам натрію нітриту (20 мг/кг, підшкірно).

Встановлено, що курсове 15-денне введення щурам з циркуляторною ішемією головного мозку сполуки МТ-279, як і бемітилу, призводило до підвищення та більш швидкого відновлення працездатності тварин, про що свідчило зростання динамічної та статичної витривалості тварин. На наявність у МТ-279, як і бемітилу, протигіпоксичного ефекту вказувало також підвищення на їхньому тлі фізичної витривалості щурів за плавальним тестом на моделі гемічної гіпоксії.

Таким чином, у дослідженнях на щурах встановлено, що курсове введення натрієвої солі 3-(2-оксо-3-феніл-2Н-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл) пропанової кислоти (сполука МТ-279), як і бемітилу, на тлі циркуляторної гіпоксії головного мозку в щурів сприяє відновленню як динамічної, так і статичної витривалості тварин. Зростання фізичної працездатності тварин під дією досліджуваних речовин мало місце також при їхньому превентивному введенні щурам за умов гемічної гіпоксії. Отримані дані вказують на наявність протигіпоксичних властивостей, що ймовірно є одним із механізмів їхньої актопротекторної дії.

Ключові слова: актопротектори, гіпоксія, ішемія, похідні 1,2,4-тріазино-хіназоліну, бемітил

А. В. Саенко

Влияние натриевой соли 3-(2-оксо-3-фенил-2Н-[1,2,4]триазино[2,3-с]хиназолин-6-ил) пропановой кислоты на физическую выносливость крыс в условиях гипоксических состояний

Ограниченный арсенал актопротекторов практически одним бемитилом побуждает к поиску новых активных веществ данного класса, пригодных для создания на их основе лекарственных средств.

Цель исследования – оценить влияние соединения МТ-279 в сравнении с бемитилом на физическую выносливость крыс в условиях моделирования гипоксических состояний. Для исследования были взяты натриевая соль 3 (2-оксо-3-фенил-2Н-[1,2,4]триазин[2,3-с] хиназолин-6-ил) пропановой кислоты (соединение МТ-279, 2,5 мг/кг, внутрибрюшинно) и бемитил (33,0 мг/кг, внутрибрюшинно). Исследование проведено на 56 белых нелинейных крысах обоего пола массой 170–220 г, на двух моделях гипоксии: циркуляторной гипоксии головного мозга и гемической гипоксии. Циркуляторную гипоксию моделировали путем перевязки правой общей сонной артерии до места ее бифуркации, гемическую – введением животным натрия нитрита (20 мг/кг, подкожно).

Установлено, что курсовое 15-дневное введение крысам с циркуляторной ишемией головного мозга соединения МТ-279, как и бемитила, приводило к повышению и более быстрому восстановлению работоспособности животных, о чем свидетельствовал рост динамической и статической

выносливости животных. На наличие у МТ-279, как и бемитила, противогипоксического эффекта указывало также повышение на их фоне физической выносливости крыс, оцененной по плавательному тесту в условиях гемической гипоксии.

Таким образом, в исследованиях на крысах установлено, что курсовое введение натриевой соли 3 (2-оксо-3-фенил-2Н- [1,2,4]триазино[2,3-с] хиназолин-6-ил) пропановой кислоты (соединение МТ-279), как и бемитила, на фоне циркуляторной гипоксии головного мозга у крыс способствует восстановлению как динамической, так и статической выносливости животных. Улучшение физической работоспособности животных под действием исследуемых веществ имело место также при их превентивном введении крысам в условиях гемической гипоксии. Полученные данные указывают на наличие противогипоксических свойств, что вероятно является одним из механизмов их актопротекторного действия.

Ключевые слова: актопротекторы, гипоксия, ишемия, производные 1,2,4-триазино-хиназолина, бемитил

A. V. Saenko

Effect of sodium salt of 3-(2-oxo-3-phenyl-2h- [1,2,4] triazine [2,3-c] quinazolin-6-yl) propanoic acid on physical endurance of rats under hypoxic states

Lack of actoprotectors encourages the search for new active substances of this class, suitable for creation of new drugs with specified properties.

The aim of this study was to compare actoprotective properties of sodium salt 3-(2-oxo-3-phenyl-2Н-[1,2,4] triazine [2,3-с] quinazolin-6-yl) propanoic acid (compound МТ-279, 2,5 mg/kg, i/p) and Bemityl (33,0 mg/kg, i/p).

The study was conducted on 56 white nonlinear rats of both sexes weighing 170–220 g under two models of hypoxia: circulatory hypoxia of the brain and hemic hypoxia. Circulatory hypoxia modeled by ligation of the right common carotid artery to the site of its bifurcation, hemic hypoxia was induced by i/p administration of sodium nitrite (20 mg / kg, i/p).

It was established that fifteen-days course of МТ-279 administration as well as Bemityl to rats with circulatory cerebral hypoxia led to increase and quicker restoration of the performance capacity that was proved by the growth of the animals' dynamic and static endurance. Anti-hypoxic effect of both МТ-279 and Bemityl was also proved by the increase of rat's physical working capacity (according to the swimming test data) after their preventive administration to animals under the conditions of hemic hypoxia.

Thus it was revealed that a course injections of sodium salt 3 (2-oxo-3-phenyl-2Н-[1,2,4] triazine [2,3-с] quinazolin-6-yl) of propanoic acid (МТ-279, 2,5 mg/kg, i/p) to rats with circulatory cerebral hypoxia as well as known actoprotector Bemityl (33,0 mg/kg, i/p) contributed to restoration of both dynamic and static endurance of the animals.

The growth in the physical working capacity of the animals could be also observed in case of МТ-279 preventive administration to the rats under the conditions of hemic hypoxia. The obtained results prove availability of anti-hypoxic properties of the compounds that is probably one of the mechanisms of their actoprotective effect.

Key words: actoprotective action, hypoxia, ischemia, derivatives of 1,2,4-triazine-quinazoline, Bemityl

Надійшла: 04.09.2014 р.

Контактна особа: Саєнко Андрій Вікторович, асистент, кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, буд. 56, вул. Пирогова, м. Вінниця, 21021. Тел.: + 38 0 67 849 80 79. Електронна пошта: savpharm@gmail.com

Г. І. Степанюк¹, О. В. Почелова¹, Н. Г. Степанюк¹,
С. І. Коваленко², О. Ю. Воскобойник²

Актопротекторна активність солей (3-*R*-оксо-2*H*-[1,2,4]-тріазино-[2,3-*c*]-хіназолін-6-іл)карбонових кислот та їхніх галогенвмісних аналогів

¹Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова

²Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: актопротекторна активність, похідні (3-*R*-оксо-2*H*-[1,2,4]-тріазино-[2,3-*c*]-хіназолін-6-іл) карбонових кислот, бемітил, плавальний тест

Актопротектори – це засоби, що запобігають виникненню втоми та покращують працездатність за звичайних та екстремальних умов (гіпоксія, гіподинамія, високі та низькі температури тощо). Нині вказаний клас фармпрепаратів представлений практично одним бемітилом. Слід також враховувати недостатню ефективність останнього та наявність у нього побічних ефектів, які обмежують використання препарату в клініці [6]. До того ж бемітил в Україні не випускають, хоча потреба в таких засобах, без сумніву, велика.

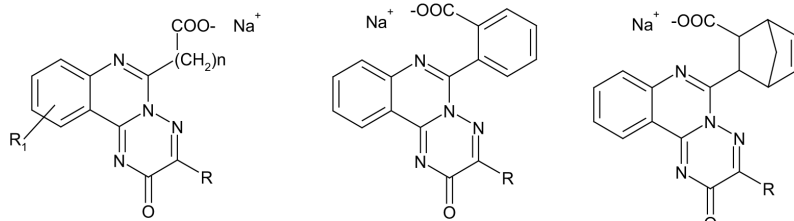
У зв'язку з цим пошук нових речовин з актопротекторною дією, придатних для створення на їхній основі нового лікарського засобу, є актуальною задачею фармакології. У цьому плані нашу увагу привернули похідні (3-*R*-оксо-2*H*-[1,2,4]-тріазино[2,3-*c*]-хіназолін-6-іл)карбонових кислот, яким, за даними літератури [3, 7], притаманні церебро- та кардіопротекторні властивості, що дає підставу сподіватись на наявність у речовин даного класу хімічних сполук актопротекторного ефекту, оскільки за фізичних перевантажень, у першу чергу, страждають життєвоважливі органи – мозок та серце [4, 8]. Інтерес до сполук цього класу зумовлений ще й тим, що вони містять у своїй структурі фармакофорні фрагменти, а саме тетраазафенантеновий цикл, алкіл-(циклоалкіл-, арил-)

карбоксильну функціональні групи, алкіл-(алкокси-, галогено-)арильний та бензильний фрагменти, які визначають біологічну активність низки лікарських препаратів [6].

Мета дослідження – виявити наявність та величину актопротекторного ефекту в ряді вказаних речовин, визначити сполуки-лідери, придатні для поглибленого вивчення їхніх фармакологічних властивостей.

Матеріали та методи. Для дослідження взято 32 нові натрієві солі (3-*R*-оксо-2*H*-[1,2,4]-тріазино[2,3-*c*]-хіназолін-6-іл)карбонових кислот та їхні галогенвмісні аналоги (лабораторні шифри речовин наведено в табл. 1), що були синтезовані в Запорізькому державному медичному університеті під керівництвом професора С. І. Коваленко. Хімічну структуру зазначених похідних наведено на рисунку.

Експерименти проведено на 315 білих нелінійних щурах обох статей масою 160–220 г. Скринінг актопротекторної активності досліджуваних речовин здійснено за плавальним тестом: визначали показник тривалості (у хв) плавання щурів у воді ($t = 24\text{--}26\text{ }^{\circ}\text{C}$) з додатковим навантаженням (10 % від маси тіла) до появи ознак повної втоми (10-с занурення тварини на дно) [2]. На етапі скринінгу досліджувані сполуки вводили тваринам одноразово внутрішньоочеревинно (в/оч) за 40–50 хв до початку дослідження в дозах 10 мг/кг (взято емпірично). Препарат порівняння бемітил застосовували так само в терапевтично ефективній дозі (50 мг/кг), запозичений з літератури [5]. Контрольна група тварин ($n = 21$) отримувала в/оч еквівалентну кількість



R=CH₃, C₆H₅, 4-CH₃C₆H₄, 4-CH₃OC₆H₄, 4-C₂H₅C₆H₄, 4-(CH₃)₂CHC₆H₄, 3,4-(CH₃)₂C₆H₃,
4-F-C₆H₄; R₁=H, F, Cl, CH₃; n=0, 1, 3, 4

Рисунок. Хімічна структура натрієвих солей (3-*R*-оксо-2Н-[1,2,4]-тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)карбонових кислот та їхніх галогенвмісних аналогів

0,9 % розчину NaCl. Дію кожної сполуки вивчали на групі з 6 щурів. Величину актопротекторного ефекту оцінювали за зміною середньої тривалості плавального тесту (%) відносно контролю. Для найактивніших за результатами скринінгу сполук додатково вивчали дозозалежну дію за результатами плавальної проби та розраховували ЕД₅₀ (середньоефективну дозу речовини, що сприяла зростанню тривалості плавання тварин на 50 %), яку визначали графічним методом Літчфілда-Уїлкоксона [1].

Обробку цифрових даних здійснювали з використанням методу варіаційної статистики з визначенням *t*-критерію Стьюдента. Різницю між показниками вважали статистично вірогідною при $p \leq 0,05$. Отримані результати наведено в таблицях 1 та 2.

Результати та їх обговорення. Із даних, наведених у таблиці 1, видно, що на тлі дії переважної більшості досліджуваних сполук у дозі 10 мг/кг (за винятком DSK-70, DSK-106, AV-225 та AV-229) подібно до бемітилу (50 мг/кг) спостерігали вірогідне зростання показника тривалості плавання щурів за умов експерименту. Зазначені зміни фізичної витривалості тварин, викликані досліджуваними сполуками, можуть бути ознакою наявності в похідних (3-*R*-оксо-2Н-[1,2,4]-тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)карбонових кислот, як і в бемітилу, актопротекторної активності. Найбільшу спроможність підвищувати фізичну витривалість організму виявляли сполуки з лабораторними шифрами AV-224, DSK-38, AV-227 та DSK-39 (сполуки-лідери): тривалість плавального тесту на їхньому тлі зросла відповідно на 318, 291,

206 та 171 % проти 141 % у бемітилу. При цьому за ефективністю сполуки AV-224 та DSK-38 вірогідно переважали референс-препарат у 2,2 та 2,0 разу відповідно, а AV-227 та DSK-39 – співставлялись з еталонним актопротектором. Важливо, що зазначені сполуки є натрієвими солями (3-*R*-оксо-2Н-[1,2,4]-тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)пропанових (AV-224, AV-227) та бутанових (DSK-38, DSK-39) кислот і містять у гетероциклічній компоненті бром та хлор.

У подальших дослідженнях встановлено, що актопротекторна дія сполук-лідерів є дозозалежною (табл. 2).

За величиною показника ЕД₅₀ сполуки AV-227, DSK-38, DSK-39 та AV-224 переважають актопротекторну активність бемітилу в 8,1; 7,1; 6,2 та 6,1 разу відповідно.

Таким чином, результати проведеного дослідження показали, що похідні (3-*R*-оксо-2Н-[1,2,4]-тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)карбонових кислот є носіями актопротекторної активності, яка найбільше проявилася в сполук з лабораторними шифрами AV-227 DSK-38, DSK-39 та AV-224. При цьому їхня дія, як і референс-препарату, є дозозалежною. Характеризуючи залежність «структура-актопротекторна активність» серед досліджених сполук, можна констатувати, що, по-перше, її наявність обумовлює гетероциклічний фрагмент, по-друге, вона залежить від природи замісників у положеннях 3, 6, 9 та 10. Так, більша активність характерна для сполук, які в положенні 6 містять карбоксиалкільні (карбоксипропіл або карбоксибутил) замісники, а в положенні 3 – метильний та ариль-

**Тривалість плавання щурів ($t = 24-26\text{ }^{\circ}\text{C}$)
за впливу досліджуваних сполук, $M \pm t$**

№	Шифр сполуки	Доза, мг/кг	n	Тривалість плавального тесту, хв	% змін відносно контролю
1	Інтактні щурі (контроль)	-	21	$6,04 \pm 0,39$	-
2	Бемітил	50,0	6	$14,54 \pm 1,38^*$	+ 141,0
3	AV-224	10,0	6	$25,25 \pm 3,40^{**}$	+ 318,0
4	DSK-38	10,0	6	$23,63 \pm 2,65^{**}$	+ 291,0
5	AV-227	10,0	6	$18,45 \pm 1,50^*$	+ 205,0
6	DSK-39	10,0	6	$16,40 \pm 1,50^*$	+ 171,0
7	DSK-107	10,0	6	$13,10 \pm 0,70^*$	+ 117,0
8	AV-217	10,0	6	$13,00 \pm 1,68^*$	+ 115,0
9	AV-226	10,0	6	$12,71 \pm 0,88^*$	+ 110,0
10	DSK-110	10,0	6	$11,79 \pm 1,00^*$	+ 95,2
11	AV-228	10,0	6	$11,54 \pm 1,36^*$	+ 91,0
12	AV-232	10,0	6	$11,14 \pm 0,76^*$	+ 84,0
13	AV-230	10,0	6	$10,84 \pm 1,68^*$	+ 79,0
14	DSK-77	10,0	6	$10,43 \pm 0,67^*$	+ 72,7
15	DSK-127	10,0	6	$10,33 \pm 1,80^*$	+ 71,0
16	DSK-75	10,0	6	$9,95 \pm 0,53^*$	+ 64,7
17	AV-216	10,0	6	$9,85 \pm 0,57^*$	+ 63,0
18	DSK-72	10,0	6	$9,80 \pm 0,88^*$	+ 62,2
19	AV-218	10,0	6	$9,44 \pm 0,32^*$	+ 56,0
20	AV-11	10,0	6	$9,16 \pm 0,72^*$	+ 51,6
21	AV-223	10,0	6	$9,09 \pm 0,63^*$	+ 50,0
22	DSK-70	10,0	6	$8,96 \pm 1,15$	+ 48,3
23	DSK-74	10,0	6	$8,57 \pm 0,49^*$	+ 41,9
24	DSK-111	10,0	6	$8,54 \pm 0,58^*$	+ 41,4
25	DSK-105	10,0	6	$8,45 \pm 0,74^*$	+ 39,9
26	DSK-73	10,0	6	$8,32 \pm 0,57^*$	+ 37,7
27	DSK-71	10,0	6	$8,20 \pm 0,46^*$	+ 36,0
28	AV-231	10,0	6	$8,15 \pm 0,79^*$	+ 35,0
29	DSK-69	10,0	6	$8,13 \pm 0,14^*$	+ 34,6
30	DSK-128	10,0	6	$7,53 \pm 0,39^*$	+ 25,0
31	DSK-114	10,0	6	$7,30 \pm 0,44^*$	+ 21,0
32	DSK-106	10,0	6	$7,06 \pm 0,53$	+ 16,9
33	AV-225	10,0	6	$6,30 \pm 1,41$	+ 4,3
34	AV-229	10,0	6	$4,92 \pm 0,90$	- 18,5

Примітка. $*p \leq 0,05$ відносно контролю, $**p \leq 0,05$ відносно бемітилу.

ний замісники з радикалом (метокси-, флюоро-, ізопропіл), що підвищує ліпофільність молекули. Слід зазначити, що в деяких випадках суттєво підвищує активність галоген (хлор, бром) у положенні 10 гетероциклу.

Спроможність досліджуваних речовин підвищувати фізичну витривалість щурів у нормотермічних умовах експерименту можна пов'язати, певною мірою, з їхньою властивістю стимулювати кровопостачання серця та мозку

**Тривалість плавання щурів ($t = 24-26\text{ }^{\circ}\text{C}$) за впливу
різних доз сполук-лідерів, $M \pm m$, $n = 6$**

№	Шифр сполук	Доза, мг/кг	Тривалість плавання, хв	% змін відносно контролю	ЕД ₅₀ , мг/кг
1	AV-227	10,0	$18,45 \pm 1,50^*$	+ 205,5	4,2
		5,0	$9,61 \pm 0,60^*$	+ 59,0	
		2,5	$7,38 \pm 0,63$	+ 22,3	
2	DSK-38	10,0	$23,63 \pm 2,65^*$	+ 291,0	4,8
		7,5	$9,97 \pm 0,37^*$	+ 65,0	
		5,0	$9,51 \pm 0,40^*$	+ 57,0	
		2,5	$7,91 \pm 0,53$	+ 31,0	
3	DSK-39	10,0	$16,40 \pm 1,50^*$	+ 171,0	5,5
		7,5	$10,40 \pm 0,32^*$	+ 72,4	
		5,0	$8,85 \pm 0,42^*$	+ 46,6	
4	AV-224	10,0	$25,25 \pm 3,40^*$	+ 318,0	5,6
		7,5	$10,58 \pm 1,20^*$	+ 75,0	
		5,0	$8,38 \pm 0,55^*$	+ 39,0	
5	Бемітил	50,0	$14,54 \pm 1,38^*$	141,0	34,0
		37,5	$9,74 \pm 0,44^*$	+ 61,0	
		25,0	$7,22 \pm 0,23^*$	+ 19,5	
6	Інтактні щури (контроль $n = 21$)	–	$6,04 \pm 0,39$	–	

Примітка. * $p \leq 0,05$ відносно контролю.

[3, 7], які найбільше страждають за умов фізичних навантажень [8]. Отримані дані вказують на доцільність поглибленого вивчення фармакологічних властивостей похідних (3-R-оксо-2Н-[1,2,4]-тріазино-[2,3-с]-хіназолін-6-іл)карбонових кислот з лабораторними шифрами AV-227, DSK-38, DSK-39 та AV-224 з метою створення на їхній основі нового актопротекторного засобу, конкурентоспроможного порівняно з бемітилом.

Висновки

1. Серед похідних (3-R-оксо-2Н-[1,2,4]-тріазино-[2,3-с]-хіназолін-6-іл)карбонових кислот найбільшою актопротекторною активністю характеризуються сполуки з лабораторними шифрами AV-227, DSK-38, DSK-39 та AV-224.

2. За величиною показника ЕД₅₀ сполуки AV-227, DSK-38, DSK-39 та AV-224 переважають еталонний актопротектор у 8,1; 7,1; 6,2 та 6,1 разу відповідно.

3. Ступінь актопротекторної дії досліджуваних речовин обумовлює як сам гетероциклічний фрагмент, так і природа замісників в положеннях 3, 6, 9 та 10. Найбільшу активність мають сполуки, які в положенні 6 містять карбоксиалкільні (карбоксипропіл або карбоксибутил) замісники, а в положенні 3 – метильний та арильний замісники з радикалом (метокси-, флюоро-, ізопропіл), що підвищує ліпофільність молекули.

4. Зазначені похідні перспективні для подальшого вивчення їхньої актопротекторної дії, зокрема, в ускладнених умовах експерименту.

- Беленький М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М. Л. Беленький. – Л. : Госмедиздат, 1963. – 152 с.
- Головенко М. Я. Експериментальне вивчення ноотропної активності фармакологічних сполук: Методичні рекомендації ДФЦ МОЗУ / М. Я. Головенко. – К. : Авіцена, 2002. – 27 с.

3. Джигалюк О. В. Порівняльна оцінка впливу похідного 4-оксо(аміно)-хіназоліну (сполуки ПК-66) та перлінганіту на динаміку показників вінцевої та церебральної гемодинаміки у котів в умовах наркозу // О. В. Джигалюк, Г. І. Степанюк, О. А. Ходаківський // Вісник морфології. – 2010. – Т. 16, №4. – С. 779–782.
4. Дружинин А. Е. Кардиопротекторная активность адаптогенов и антиоксидантов при экспериментальной миокардиодистрофии физического перенапряжения /А. Е. Дружинин // Спортивная медицина. – 2010. – № 1–2. – С. 98–100.
5. Скринінг актопротекторної дії нових похідних адамантану / О. П. Лонська, Г. І. Степанюк, Ю. В. Короткий, М. О. Лозинський // Biomedical and Biosocial Antropology. – 2007. – № 9. – С. 134–137.
6. Машковский М. Д. Лекарственные средства / М. Д. Машковский. – М. : Новая Волна, 2012. – 1216 с.
7. Степанюк Г. І. Оцінка церебропротекторної дії похідних (3-*R*-оксо-2Н-[1,2,4]тріазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)карбонових кислот на моделі гострого порушення мозкового кровообігу в щурів / Г. І. Степанюк, Н. О. Семененко, С. І. Коваленко [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – № 6 (25). – С. 22–26.
8. Фармакология спорта; под. ред. С. А. Олейника, Л. М. Гуниной, Р. Д. Сейфулла. – К. : Олимпийская литература, 2010. – 638 с.

Г. І. Степанюк, О. В. Почелова, Н. Г. Степанюк, С. І. Коваленко, О. Ю. Воскобойнік
Актопротекторна активність солей (3-*R*-оксо-2Н-[1,2,4]-тріазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)карбонових кислот та їхніх галогенвмісних аналогів

Мета дослідження – виявити наявність та величину актопротекторного ефекту солей (3-*R*-оксо-2Н-[1,2,4]-тріазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)карбонових кислот та їхніх галогенвмісних аналогів, визначити сполуки-лідери, придатні для поглибленого вивчення їхніх фармакологічних властивостей.

Величину актопротекторної дії сполук оцінювали за їхнім впливом на тривалість плавання щурів у воді (24–26 °С) з додатковим навантаженням (10 % від маси тіла).

Встановлено, що одноразове внутрішньоочеревинне введення тваринам похідних (3-*R*-оксо-2Н-[1,2,4]-тріазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)карбонових кислот в емпірично взятій дозі 10 мг/кг, як і бемітилу (50 мг/кг), викликає збільшення тривалості плавання тварин, що є ознакою наявності в похідних (3-*R*-оксо-2Н-[1,2,4]-тріазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)карбонових кислот, як і в еталонного препарату, актопротекторної активності. Найбільшу спроможність підвищувати фізичну витривалість організму проявили сполуки з лабораторними шифрами AV-224, DSK-38, AV-227 та DSK-39 (сполуки-лідери): тривалість плавального тесту на тлі їхньої дії збільшилася відносно контролю на 318, 291, 205 та 171 % відповідно проти 141 % під впливом бемітилу.

У подальших дослідженнях доведено, що актопротекторний ефект сполук-лідерів, як і бемітилу, є дозозалежним. За величиною показника ED_{50} сполуки-лідери переважали препарат порівняння в 6,1–8,1 разу. Найбільша активність характерна для сполук, які в положенні 6 містять карбоксильні (карбоксипропіл або карбоксibuтил) замісники, а в положенні 3 – метильний та арильний замісники з радикалом (метокси-, флюоро-, ізопропіл), що підвищує ліпофільність молекули. Отримані результати вказують на перспективність поглибленого вивчення фармакологічних властивостей сполук-лідерів з метою створення нового актопротектора.

Ключові слова: актопротекторна активність, похідні (3-*R*-оксо-2Н-[1,2,4]-тріазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл) карбонових кислот, бемітил, плавальний тест

Г. И. Степанюк, Е. В. Почелова, Н. Г. Степанюк, С. И. Коваленко, А. Ю. Воскобойник
Актопротекторная активность солей (3-*R*-оксо-2Н-[1,2,4]-тріазино[2,3-*c*]хіназолин-6-ил)карбоновых кислот и их галогенсодержащих аналогов

Цель исследования – установить наличие и величину актопротекторного эффекта солей (3-*R*-оксо-2Н-[1,2,4]-тріазино[2,3-*c*]хіназолин-6-ил)карбоновых кислот и их галогенсодержащих аналогов, выявить соединения-лидеры, пригодные для углубленного изучения их фармакологических свойств.

Величину актопротекторного действия соединений оценивали по их влиянию на продолжительность плавания крыс в воде (24–26 °С) с дополнительным грузом (10 % от массы тела).

Установлено, что одноразовое внутрибрюшинное введение животным производных (3-*R*-оксо-2Н-[1,2,4]-тріазино[2,3-*c*]хіназолин-6-ил)карбоновых кислот в эмпирически взятой дозе 10 мг/кг, как и бемитила (50 мг/кг), вызывает увеличение длительности плавания животных, что является признаком наличия у этих соединений, как и у эталонного препарата, актопротекторной активности.

Наибольшую способность повышать физическую выносливость организма проявили соединения с лабораторными шифрами AV-224, DSK-38, AV-227 та DSK-39: продолжительность плавательного теста на фоне их действия увеличилась относительно контроля на 318, 291, 205 и 171 % соответственно против 141 % под влиянием бемитила. В дальнейших исследованиях установлено, что актопротекторный эффект соединений-лидеров, как и бемитила, является дозозависимым. По величине

показателя ED_{50} соединения – лидеры превосходили препарат сравнения в 6,1–8,1 раз. Наибольшая активность характерна для соединений, которые в положении 6 содержат карбоксиалкильные (карбоксипропил или карбоксибутил) заместители, а в положении 3 – метильный и арильный заместители с радикалами (метокси-, флюоро-, изопропил), которые повышают липофильность молекулы. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности углубленного исследования фармакологических свойств соединений-лидеров с целью создания нового актопротектора.

Ключевые слова: актопротекторная активность, производные (3-*R*-оксо-2H-[1,2,4] триазино[2,3-*c*]хиназолин-6-ил)карбоновых кислот, бемитил, плавательный тест

G. I. Stepanyuk, E. V. Pochelova, N. G. Stepanyuk, S. I. Kovalenko, A. Y. Voskoboynik
An actoprotective activity of salts of (3-*R*-oxo-2H-[1,2,4]-triazino[2,3-*c*] quinazolin-6-yl) carboxylic acids and their halogen containing analogues

The purpose of the study was to evaluate the actoprotective effects of salts of (3-*R*-oxo-2H-[1,2,4]-triazino[2,3-*c*] quinazolin-6-yl) carboxylic acids and their halogen containing analogues, to identify compounds – leaders, suitable for in-depth study of their pharmacological properties.

The actoprotective activities of the compounds were evaluated on white rats by the duration of swimming test in water (24–26 °C) with the additional load (10 % of body weight).

There were established that single intraperitoneal administration to animals (3-*R*-oxo-2H-[1,2,4]-triazino[2,3-*c*] quinazolin-6-yl) carboxylic acids derivatives in the empiric taken dose 10 mg/kg, as well as bemetyl (50 mg/kg), caused an increase of the duration of swimming test. Marked increase of the physical endurance of rats induced by the test compounds provided the evidence of their actoprotective activity. The greatest abilities to promote physical endurance of animals showed the compounds under laboratory code AV-224, DSK-38, AV-227 and DSK-39: under their action the duration of swimming test elongated accordingly by 318, 291, 205 and 171 % against 141 % under influence of bemetyl as to control group. It was established that actoprotective effects of these compounds as bemetyl are dose dependent. Leader compounds were superior comparator drug bemetyl about 6,1–8,1 times on the value of ED_{50} . The highest activities were characterized for the compounds that contain carboxyalkyl (carboxypropyl or carboxybutyl) substituents at position 6 and methyl radicals with aryl substituents (methoxy, fluoro-, isopropyl) at position 3 which led to an increase the lipophilicity of the molecule. The results obtained indicate the prospects of in-depth study the pharmacological properties of the leader compounds to create a new actoprotector.

Key words: actoprotective activity, derivatives of (3-*R*-oxo-2H-[1,2,4] triazino [2,3-*c*] quinazolin-6-yl) carboxylic acid, bemetyl, swimming test

Надійшла: 15.09.2014 р.

Контактна особа: Степанюк Георгій Іванович, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, буд. 56, вул. Пирогова, м. Вінниця, 21021. Тел.: +38 0 432 61 14 00.

З. С. Суворова

Ефективність похідного арилаліфатичних аміноспиртів на моделі експериментального оніхомікозу

ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

Ключові слова: похідне арилаліфатичних аміноспиртів, оніхомікоз, *Aspergillus niger*

Інфекційні ураження нігтів (оніхомікози) є досить розповсюдженою проблемою. Їхня частка в загальній патології нігтьової пластинки складає близько 25–30 %.

Оніхомікози можуть обумовити близько 50 видів патогенних та умовно-патогенних грибів, зокрема, дерматоміцети роду *Trichophyton*, дріжджоподібні гриби роду *Candida*, плісеньутворюючі (*Scopulariopsis*, *Scytalidium*, *Acremonium*, *Fusarium*) та інші гриби [1–4]. Частка дерматоміцетів при оніхомікозах складає 76,9–91,3 %, дріжджоподібних – 0,7–8,3 %, плісеньутворюючих грибів – 8–14 %. Сьогодні відмічається збільшення частоти грибів роду *Aspergillus* в етіології оніхомікозів, що створює проблеми в діагностиці та лікуванні [5].

На виникнення та розвиток грибкової інфекції впливають різні фактори, зокрема, стан імунної системи, наявність супутніх захворювань, вік тощо. Так, оніхомікози виявляють у 67,0 % пацієнтів з імунодепресивним станом, у 26,0 % хворих на цукровий діабет, у 30 % людей старшого віку (> 60 років) [6]. При аналізі спектра збудників встановлено, що тільки в 0,8 % пацієнтів оніхомікози були зумовлені дерматофітами (моноінфекція), у більшості випадків (45,7 %) відмічалось поєднання дерматоміцетів та плісеньутворюючих грибів, у 3,7 % – дерматоміцетів, плісеньутворюючих і дріжджоподібних грибів [7].

Передумовою розвитку мікозів може бути механічна травма та порушення бар'єрної функції епітелію. Одним з найважливіших факторів, який при-

зводить до виникнення та розвитку оніхомікозу, є порушення кровообігу кінцівок, що може бути зумовлено серцевою недостатністю, облітеруючим ендартеріотом, варикозом вен, синдромом Рейно, лімфостазом тощо. Так, оніхомікози стоп виявлено в 38 % хворих з хронічною венозною недостатністю [8].

Протягом останнього десятиліття відбулися певні зміни в підходах до терапії оніхомікозів, зокрема, використання нових антифунгальних препаратів системної дії – тербінафіну з класу аліламінів, ітраконазолу та флуконазолу – з класу тріазолів [9–11]. Проте, незважаючи на застосування в клінічній практиці таких ефективних лікарських засобів, у частини хворих результат лікування залишається незадовільним. У ряді випадків неефективність проведеної терапії може бути пов'язана з відсутністю впливу на супутні чинники, які сприяють розвитку оніхомікозу (порушення кровообігу, іннервації, ендокринного статусу, функції імунної системи), в інших випадках це зумовлено проявами побічних ефектів при застосуванні медикаментозних засобів, а також відмовою від проведення антифунгальної терапії. Недостатня ефективність проведеної терапії часто пов'язана з резистентністю збудників до сучасних антифунгальних препаратів [12].

Ураховуючи вищезазначене, актуальним є пошук нових сполук з антифунгальною дією та розробка на їхній основі ефективних та безпечних лікарських препаратів. У цьому плані на увагу заслуговують похідні арилаліфатичних аміноспиртів. Представники цієї групи сполук проявляють широкий спектр фармакологічної активнос-

ті – адреноблокуючу [13–15], антибактеріальну [16], протигрибкову [17], противірусну дію [18], антиоксидантний [19], імуномодуючий [20,21], мембраностабілізуючий [19], нейропротекторний ефекти [22] тощо.

Мета дослідження – вивчення антифунгального ефекту похідного арилаліфатичних аміноспиртів за умови грибкового ураження нігтьової пластинки.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на нігтьовій пластині, ураженій *Aspergillus niger* (модель патології нігтьової пластинки) [23], з використанням нового похідного арилаліфатичних аміноспиртів – сполуки КВМ-204.

Ефективність сполуки КВМ-204 на моделі оніхомікозу досліджували за такими схемами:

- профілактичною – сполуку вносили одноразово за 1 год до інфікування;
- лікувально-профілактичною – сполуку вносили одноразово одночасно з інфікуванням нігтьової пластинки;
- лікувальною – сполуку вносили одноразово через 3 доби після інфікування;
- у режимі тривалого застосування – сполуку вносили 2 рази на тиждень упродовж 21 дня.

У бюкси з поживним середовищем Сабуро вносили сполуку КВМ-204 та поміщали нігтьові пластинки.

Для приготування інокуляту використовували зрілу (3-добову) культуру, вирощену на картопляно-глюкозному агарі. Посівна доза становила 10^5 конідій/мл. Щільність інокуляту оцінювали спектрофотометрично. Термін інку-

бації в термостаті тривав 7 днів (у режимі тривалого застосування та повторних введень – 21 день) при температурі 28,0 °С. Концентрації сполуки КВМ-204 складали 1,0 МІК, 5,0 МІК та 10,0 МІК.

Ефективність сполуки КВМ-204 визначали візуально й оцінювали за наявністю/відсутністю росту *A. niger* на нігтьових пластинках. Спостереження проводили щоденно. На 3, 4, 5, 6 та 7 добу робили фотографії нігтьової пластинки, використовуючи світловий мікроскоп ZEISS Primo Star (Zeiss, Німеччина).

Досліди супроводжувалися відповідними контролюми: контроль стану інтактної нігтьової пластинки; контроль росту культури на нігтьовій пластинці в середовищі без сполуки.

Результати та їх обговорення. Відсутність оніхомікозу на здоровому нігті підтверджено мікроскопічно (рис. 1 А). Інтактна нігтьова пластинка була без механічних пошкоджень, гіфи та конідії не виявлені.

Інфікована *A. niger* нігтьова пластинка на 3 добу спостереження була вкрита гіфами міцелію, конідії та конідієносці – не виявлені (рис. 1 Б). На 4 та 5 добу спостереження відмічали формування конідієносців з конідіями на гіфах гриба *A. niger*, були наявні різоморфи – скупчення паралельно орієнтованих гіф, що свідчить про посилення адаптації гриба до мінімізованого субстрату росту. На 6 та 7 добу спостерігали помірний конідіогенез за наявністю скупчення пігментованих конідій, які мали субсферичну або еліпсоїдальну форму (рис. 1 В).

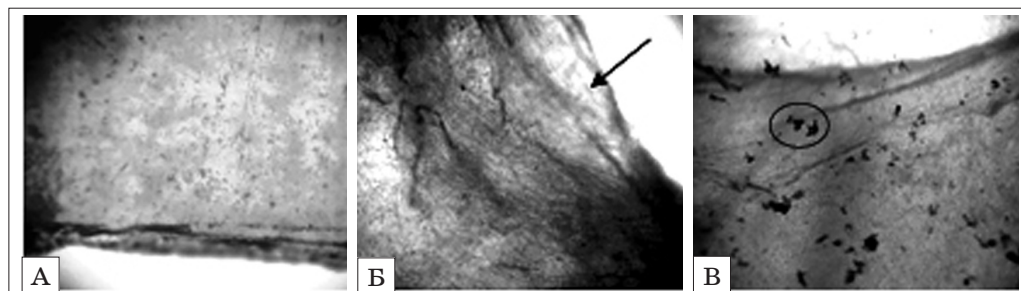


Рис. 1. Мікроскопія нігтьових пластинок: А – інтактна нігтьова пластинка; Б – інфікований *A. niger* ніготь (3 доба); В – інфікований *A. niger* ніготь (7 доба). Світлова мікроскопія, об. $\times 40$.

Примітка. Тут і на рис. 3: «↑» – гіфи міцелію гриба, «О» – конідієносці з конідіями.

Дані щодо ефективності похідного арилаліфатичних аміноспиртів КВМ-204 за профілактичного режиму на моделі оніхомікозу, обумовленого *A. niger*, наведено на рисунку 2.

Результати проведених експериментів (рис. 2 А) свідчать, що сполука КВМ-204 у профілактичному режимі виявляє антифунгальний ефект, у концентрації 1,0 МІК на 3 добу спостереження в нігтьовій пластинці гіфи гриба не виявлені. На 4 добу розвиток міцелію відновлюється, на 5–7 добу інтенсивність росту сягає рівня контролю.

При одноразовому нанесенні на нігтьову пластинку сполуки КВМ-204 у концентрації 5,0 МІК ріст *A. niger* на нігтьовій пластинці не виявлений впродовж перших 6 діб. На 7 добу експерименту відмічено появу поодиноких гіф міцелію гриба *A. niger* (рис. 2 В).

Таким чином, проведені експерименти свідчать, що сполука КВМ-204 у профілактичному режимі при одноразовому застосуванні попереджує інфікування нігтьової пластинки

A. niger. Тривалість інгібуючого ефекту складає 3 доби при концентрації 1,0 МІК та 6 діб при концентрації 5,0 МІК.

Отриманні результати лікувально-профілактичної ефективності похідного арилаліфатичних аміноспиртів КВМ-204 на моделі оніхомікозу, обумовленого *A. niger*, наведено на рисунку 3.

Отримані дані свідчать, що активність сполуки КВМ-204 в концентрації 1,0 МІК у всі строки дослідження відсутня. На 3–6 добу спостереження нігтьова пластинка повністю уражена міцелієм (рис. 3 А). Разом з тим слід відмітити, що сполука в зазначеній концентрації порушує утворення міцелію, розгалуження гіф, та початок конідієгенезу відбувається тільки на 7 добу (рис. 3 В).

Сполука КВМ-204 у концентрації 5,0 МІК проявляє виразну інгібуючу дію, ріст гриба *A. niger* не спостерігається впродовж 7 діб експерименту. При мікроскопії на нігтях відмічаються лише темно-коричневі плями (сполука в середовищі Сабуро) (рис. 3 В).

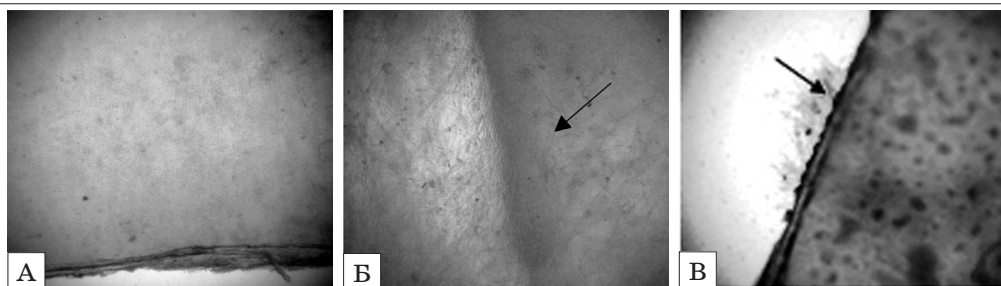


Рис. 2. Мікроскопія нігтьових пластинок, уражених *A. niger*, за профілактичного режиму застосування сполуки КВМ-204: А – вплив сполуки, 1,0 МІК (3 доба); Б – вплив сполуки, 1,0 МІК (7 доба); В – вплив сполуки, 5,0 МІК (7 доба). Світлова мікроскопія, об. $\times 40$.

Примітка. Тут і на рис. 4, 5: «↑» – гіфи міцелію гриба.

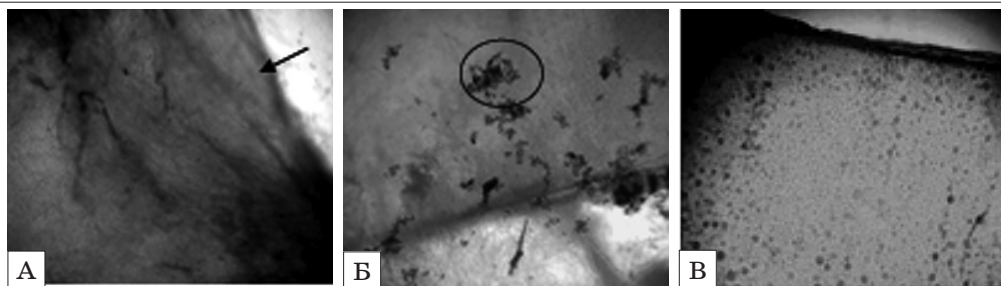


Рис. 3. Мікроскопія нігтьових пластинок, уражених *A. niger*, за лікувально-профілактичного режиму застосування сполуки КВМ-204: А – вплив сполуки, 1,0 МІК (3 доба); Б – вплив сполуки, 1,0 МІК (7 доба); В – вплив сполуки, 5,0 МІК (7 доба). Світлова мікроскопія, об. $\times 40$.

Таким чином, проведені експерименти на моделі оніхомікозу свідчать про виразний лікувально-профілактичний ефект сполуки КВМ-204 у концентрації 5,0 МІК.

Результати дослідження ефективності похідного арилаліфатичних аміноспиртів КВМ-204 у лікувальному режимі відображені на рисунку 4.

Дані, наведені на рисунку 4 А, свідчать, що ніготь, інфікований *A. niger*, на 3 добу після інфікування вкритий гіфами міцелію, конідії – відсутні.

Сполука КВМ-204 у концентрації 5,0 МІК затримувала ріст, перешкождала формуванню міцелію та утворенню конідій упродовж перших 2 діб після внесення. З 3 доби ріст гриба *A. niger* відновлюється (рис. 4 Б). Упродовж 5 та 6 доби реєструвалося збільшення кількості та щільності міцелію *A. niger*, а на 7 добу (рис. 4 В) – повноцінний ріст міцелію та формування конідій культури гриба.

При нанесенні на нігтьову пластинку сполуки КВМ-204 у концентрації 10,0 МІК розвиток міцелію гриба *A. niger* не спостерігали впродовж усього терміну експерименту (інгібуючий ефект триває більше 7 діб) (рис. 4 Г).

Таким чином, проведені експерименти свідчать, що сполука КВМ-204 при одноразовому внесенні в інкубаційне середовище з інфікованими *A. niger* ніг-

тьовими пластинками в концентрації 5,0 МІК призводить до пригнічення життєдіяльності гриба впродовж 2 діб, у концентрації 10,0 МІК – > 7 діб.

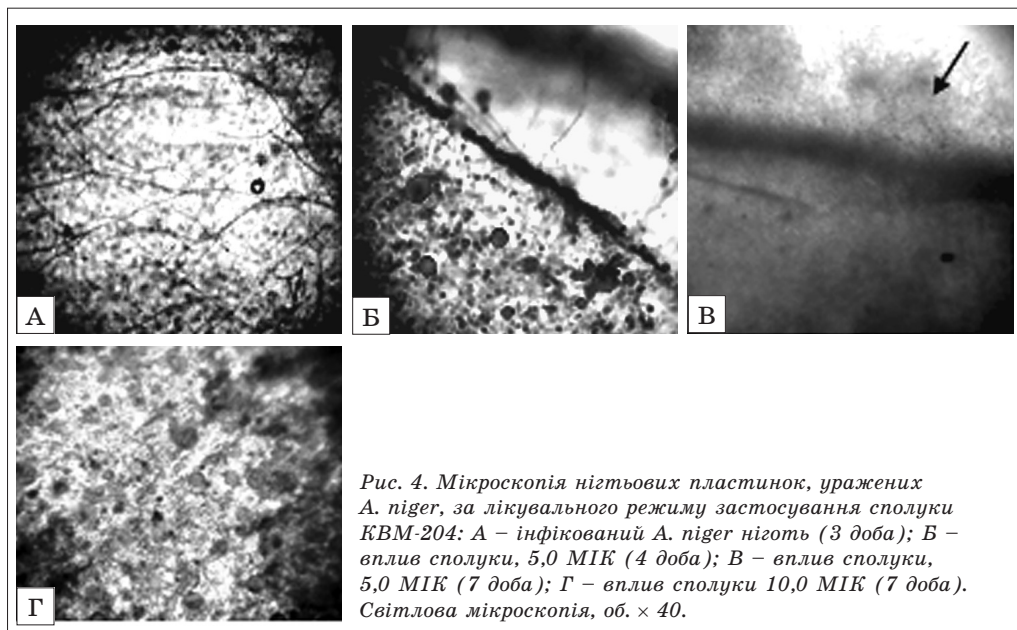
Для визначення ефективності похідного арилаліфатичних аміноспиртів КВМ-204 при повторних введеннях сполуку вносили в інкубаційне середовище в режимі тривалого застосування (2 рази на тиждень упродовж 21 дня).

Концентрація сполуки КВМ-204 складала 10,0 МІК. Отримані результати експериментів відображені на рисунку 5.

Дані, наведені на рисунку 5 А, свідчать, що ніготь на 3 добу після інфікування плісеньутворюючим грибом вкритий гіфами міцелію, конідії відсутні.

Сполука КВМ-204 у концентрації 10,0 МІК при повторних внесеннях проявляє виразну інгібуючу дію. Ріст та розмноження гриба *A. niger* не спостерігається впродовж 21 дня експерименту (рис. 5 Б–Д), що свідчить про виразний та тривалий антифунгальний ефект при багаторазовому застосуванні.

Таким чином, отримані дані демонструють, що нове похідне арилаліфатичних аміноспиртів КВМ-204 виявляє виразну протигрибкову дію при експериментальному оніхомікозі.



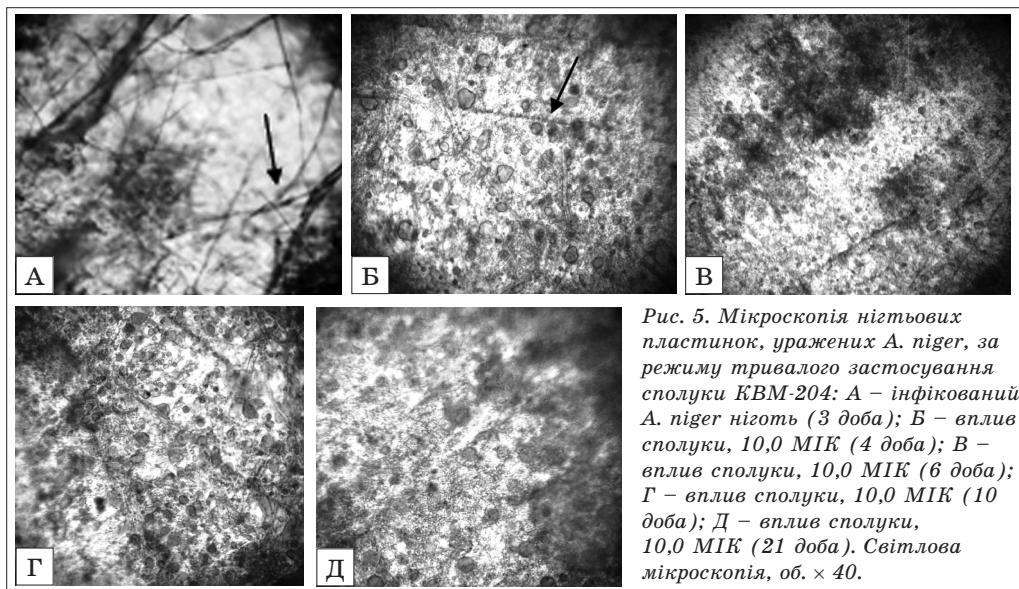


Рис. 5. Мікроскопія нігтьових пластинок, уражених *A. niger*, за режиму тривалого застосування сполуки KBM-204: А – інфікований *A. niger* ніготь (3 доба); Б – вплив сполуки, 10,0 МІК (4 доба); В – вплив сполуки, 10,0 МІК (6 доба); Г – вплив сполуки, 10,0 МІК (10 доба); Д – вплив сполуки, 10,0 МІК (21 доба). Світлова мікроскопія, об. $\times 40$.

Висновки

1. На моделі експериментального оніхомікозу, спричиненого *A. niger*, сполука KBM-204 при одноразовому застосуванні в профілактичному режимі проявляє антифунгальну активність, тривалість ефекту складає 3 та 6 діб залежно від концентрації.

2. При застосуванні сполуки в лікувально-профілактичному режимі в концентрації 5,0 МІК інфікування тест-об'єкта не спостерігали впродовж 7 днів дослідження.

3. Сполука KBM-204 виявляє антифунгальні властивості при застосуванні в лікувальному режимі, затримує ріст *A. niger* упродовж 2 та 7 діб залежно від концентрації.

4. У режимі тривалого застосування (21 день) та повторних внесень сполуки KBM-204 в інкубаційне середовище відмічали тривалу антифунгальну дію похідного арилаліфатичних аміноспиртів на моделі експериментального оніхомікозу. Упродовж усього терміну спостереження накопичення міцелію, формування конідій та конідієноспів не відмічали.

- Ариєвич А. М. Патология ногтей / Ариєвич А. М., Шецирули Л. Т. – Тбилиси, 1976. – С. 294.
- Клиническая дерматовенерология. Руководство для врачей в 2 т. / под ред. Ю. К. Скрипкина, Ю. С. Бутова. – М. : Изд-во ГЭОТАР-Медиа, 2009. – Т. 1, – С. 720, – Т. 2, – С. 928.
- Рукавишникова В. М. Микозы стоп / В. М. Рукавишникова. – М. : «Эликс Ком», 2003. – С. 330.
- Сергеев А. Ю. Грибковые инфекции (руководство для врачей) / А. Ю. Сергеев, Ю. В. Сергеев. – М., 2003. – С. 185–193.
- Беличков А. Н. // Рос. журн. кож. и вен. бол. – 2001. – № 2. – С. 38–40.
- Иванова Ю. А. Клинические особенности микозов стоп, кистей и онихомикозов у ВИЧ-инфицированных пациентов / Ю. А. Иванова, О. В. Райденко // Проблемы медицинской микологии. – 2011. – Т. 13, № 4. – С. 18–12.
- Коляденко В. Г. Плісєневі гриби – етіопатогенетичне значення у виникненні та розвитку мікозів. Міф чи реальність? Еволюція наукових досліджень / В. Г. Коляденко, В. І. Степаненко // Укр. журн. дерматол., венерол., косметол. – 2001. – № 1. – С. 41–48.
- Онихомикозы: современные представления об этиологии, эпидемиологии, методах терапии (огляд літератури) [Електронний ресурс] / Т. В. Медведева, Л. М. Леина. – Режим доступу: <http://www.rusmedserv.com/mycology/html/onihomic.htm>.
- Сергеев Ю. В. Онихомикозы. Грибковые инфекции ногтей / Ю. В. Сергеев, А. Ю. Сергеев. – М. : ГЭОТАР медицина, 1998. – 126 с.
- Рукавишникова В. М. Микозы стоп / В. М. Рукавишникова. – М. : МСД, 1999. – 317 с.
- Скрипкин Ю. К. Результаты клинического изучения дифлюкана у больных онихомикозом / Ю. К. Скрипкин, Ж. В. Степанова, И. А. Воробьева // Вестн. дерматол. и венерол. – 2001. – № 2. – С. 63–65.
- Медведева Т. В. Сравнительная характеристика системных антимикотиков в терапии микозов кистей и стоп с онихомикозом: автореф. дис. на соискание науч. степени канд. мед. наук:

- спец. 03.00.24 «Микология» 14.00.11 «Кожные и венерические болезни» / Медведева Татьяна Владимировна; ГОУ ДПО «Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования МЗ Российской Федерации». – Санкт-Петербург, 2004. – 24 с.
13. Pat. № 1098642 USA. Diamino-propanol-compounds for treating ischemia / Subroto Chatterjee; – заявитель Johns Hopkins University. – № 19990937409; заявл. 22.06.1999; опубл. 4.03.2007.
 14. Vanillylamide-based propanolamine derivative displays alpha/beta-adrenoceptor blocking and vasodilating properties / J. L. Yeh, J. R. Wu, C. C. Chiu [et al.] // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 2002. – V. 39, № 6. – P. 803–813.
 15. Варатян Р. С. Синтез новых потенциальных β -адреноблокаторов аминoproпанолевого ряда / Р. С. Варатян, Э. А. Адамян, М. А. Шейранян // Химический журнал Армении. – 2003. – Т. 56, № 3. – С. 87–91.
 16. Pat. № WO/2007/058639. Antibacterial agents / Yerramilli V S N Murthy; – заявитель Idexx Lab Inc, Yerramilli V S N Murthy. – № PCT/US2005/029602; заявл. 23.08.2005; опубл. 4.10.2007.
 17. Piperazine propanol derivative as a novel antifungal targeting 1,3-beta-D-glucan synthase / O. Kondoh, Y. Inagaki, H. Fukuda [et al.] // Biol. Pharm. Bull. – 2005. – V. 28, № 11. – P. 2138–2141.
 18. Di Cuollo C. J. The metabolism of 3-((5-methyl-5H-as-triazino(5,6-b)-indol-3-yl)amino)-1-propanol (SK&F 21687). A Potent antiviral / C. J. Di Cuollo [et al.] // Xenobiotica. – 1973. – V. 3, № 3. – P. 171–178.
 19. Антиоксидантные и антирадикальные свойства новых аминокислотных производных аминоспиртов / М. Г. Малакян, Л. А. Вардеванян, Д. Э. Егизарян [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2010. – Т. 44, № 8. – С. 19–21.
 20. Pat. № 20110118210, USA. Aminopropanol derivatives / Albert Rainer, Francotte Eric, Zecri Fred-eric, Zollinger Markus. – № US 13/015,825; заявл. 28.08.2003; опубл. 19.05.2011.
 21. Pat. № 7625950, USA. Amino-propanol derivatives as sphingosine-1-phosphate receptor modulator / Hinterding Klaus, Spanka Carsten, Zecri Frédéric. – № US 10/554556; заявл. 29.03.2004; опубл. 1.12.2009.
 22. Пат. № 23451, Україна. Засіб для лікування порушень пам'яті / Зайцев Л. М., Короткий Ю. В., Красавцев І. І. та ін. – № 94063487; заявл. 16.06.1994; опубл. 29.12.1999, Бюл. № 8.
 23. Онихомикоз (диагностика, этиология, эпидемиология, лечение) / А. В. Руденко, Э. З. Коваль, П. П. Рыжков, Е. А. Заплавская. – К. : ЧП ВМБ, 2007. – 302 с.

3. С. Суворова

Ефективність похідного арилаліфатичних аміноспиртів на моделі експериментального оніхомікозу

Встановлено, що сполука KBM-204 на моделі експериментального оніхомікозу, зумовленого *Aspergillus niger*, виявляє ефективність у профілактичному, лікувально-профілактичному та лікувальному режимах (одноразове застосування), в режимі повторних внесень та тривалого застосування.

Внесення сполуки KBM-204 в інкубаційне середовище за 1 год до інфікування нігтьової пластинки затримує ріст та розмноження гриба впродовж 3 діб – при 1,0 МИК, 6 діб – при 5,0 МИК.

При дослідженні сполуки KBM-204 у лікувально-профілактичному режимі (внесення одночасно з інфікуванням) при 5,0 МИК розвиток гриба не спостерігали впродовж 7 днів, при 1,0 МИК – реєстрували порушення утворення міцелію, розгалуження гіф та конідіогенез.

У лікувальному режимі (внесення сполуки через 3 доби після інфікування) сполука KBM-204 пригнічує ріст гриба впродовж 2 діб – при 5,0 МИК, більше ніж 7 діб – при 10,0 МИК.

У режимі тривалого застосування (21 день) та повторних внесень (10,0 МИК, 2 рази на тиждень) сполука чинить виразну антифунгальну дію. Упродовж усього терміну спостереження не відмічали накопичення міцелію, формування конідій та конідієносців.

Проведені експерименти свідчать про перспективність похідних арилаліфатичних аміноспиртів як нових антифунгальних засобів та необхідність проведення поглиблених досліджень антимікробної дії сполуки KBM-204, зокрема, визначення активності відносно дерматомицетів.

Ключові слова: похідні арилаліфатичних аміноспиртів, оніхомікоз, *Aspergillus niger*

3. С. Суворова

Эффективность производного арилалифатических аминоспиртов на модели экспериментального онихомикоза

Установлено, что соединение KBM-204 на модели экспериментального онихомикоза, вызванного *Aspergillus niger*, проявляет эффективность в профилактическом, лечебно-профилактическом и лечебном режимах (однократное применение), в режиме повторных внесений и длительного применения.

Внесение соединения KBM-204 в инкубационную среду за 1 ч до инфицирования ногтевой пластинки задерживает рост и размножение гриба на протяжении 3 сут при 1,0 МИК и 6 сут – при 5,0 МИК.

При исследовании соединения KBM-204 в лечебно-профилактическом режиме (внесение одновременно с инфицированием) при 5,0 МИК развитие гриба не наблюдали на протяжении 7 сут, при 1,0 МИК – регистрировали нарушение образования мицелия, разветвления гиф и конидиегенез.

В лечебном режиме (внесение соединения через 3 сут после инфицирования) соединение KBM-204 подавляет рост гриба на протяжении 2 сут при 5,0 МИК, более 7 сут – при 10,0 МИК.

В режимах длительного применения (21 сут) и повторных внесений (10,0 МИК, 2 раза в неделю) соединение оказывает выраженное антифунгальное действие. На протяжении всего срока наблюдения не отмечали накопление мицелия, формирование конидий и конидиеносцев.

Проведенные эксперименты свидетельствуют о перспективности производных арилалифатических аминоксипитов в качестве новых антифунгальных средств и необходимости проведения углубленных исследований антимикробного действия соединения KBM-204, в частности, определение активности относительно дерматомицетов.

Ключевые слова: производные арилалифатических аминоксипитов, онихомикоз, *Aspergillus niger*

Z.S. Suvorova

Evaluation of arylaliphatic aminopropanols derivative efficiency on the model of onychomycosis

The data obtained suggest the compound KBM-204 efficiency on the model of *Aspergillus niger* onychomycosis. Compound was tested in the preventive, "treatment-preventive" and treatment regimens (single use) and in the mode of prolonged usage.

1 hour preincubation at $1.0 \times \text{MIC}$ and $5.0 \times \text{MIC}$ of KBM-204 resulted in the inhibition of *A. niger* growth on the nail plate for 3 and 6 days respectively.

Investigation of KBM-204 action in the «treatment-preventive» regimen (compound was added simultaneously with infection) showed alterations of mycelium formation, hyphal branching and conidiogenesis at the $1.0 \times \text{MIC}$. Increase of a concentration to the $5.0 \times \text{MIC}$ led to growth inhibition during 7 days.

KBM-204, tested in the treatment mode (compound was added 3 days after infection), inhibited fungal growth for 2 days at the $5.0 \times \text{MIC}$; the effect of $10.0 \times \text{MIC}$ lasted more than 7 days.

Prolongation of KBM-204 antifungal action was observed in the mode of prolonged usage (21 days). Compound was added twice a week in a concentration of $10.0 \times \text{MIC}$. The mycelium accumulation, conidia and conidiophores formation were not noted for the entire period of observation.

The data obtained indicate the derivative of arylaliphatic aminopropanol as a promising new antifungal compound as well as a reasonability of the further investigation of the KBM-204 antimicrobial effect, particularly, its action on dermatomycetes.

Key words: derivative of arylaliphatic aminopropanols, onychomycosis, *Aspergillus niger*

Надійшла: 15.09.2014 р.

Контактна особа: Суворова Зінаїда Сергіївна, молодший науковий співробітник, відділ фармакології протимікробних засобів, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Єжена Потье, м. Київ, 03154. Тел.: +38 0 44 456 83 32.
Електронна пошта: suvorovazina@gmail.com

ЛЕОНІД ОЛЕКСАНДРОВИЧ ГРОМОВ



9 вересня 2014 року пішов з життя відомий нейротоксиколог і нейрофармаколог, завідувач відділу нейрофармакології ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», заслужений діяч науки і техніки СРСР, лауреат премії АМН України, доктор медичних наук, професор Леонід Олександрович Громов.

Л. О. Громов розпочав свою наукову діяльність в Інституті фармакології та токсикології в 1969 році, а в 1977 році організував лабораторію нейрофармакології, яку незмінно очолював понад 35 років.

За цей час професор Л. О. Громов збагатив медичну науку видатними досягненнями в розумінні механізмів розвитку судомних станів, порушень мнестичних процесів і структури сну, антихолінергічного психозу та наркоманій. Проведені експериментальні дослідження стали основою для розробки патогенетичних засобів корекції зазначених патологічних станів. Леонід Олександрович є співавтором ряду патентів України на перспективні лікарські засоби: атиповий транквілізатор Галотранк, антиконвульсанти Етобробал і Циклобамат, ноотропний засіб

Бінотропіл, антидепресант Антидепресин, антинаркотичний засіб Флуридон.

Л. О. Громов ініціював проведення в Україні фармакологічних досліджень такого класу природних регуляторів основних життєвих функцій організму, як нейропептиди. Результати виконаних науково-дослідницьких робіт узагальнені в монографії «Нейропептиди», за підготовку якої професор Л. О. Громов був удостоєний Премії АМН України. Під його керівництвом уперше в світі було експериментально доведено наявність опіатних рецепторів на внутрішній поверхні мембрани нейрона, визначено роль порушень обміну та функцій опіоїдних нейропептидів у патогенезі антихолінергічного психозу, встановлено антидотну дію морфіну при отруєнні М-холінолітиками та його ефективність при психомоторному збудженні.

До відмінних особливостей усіх етапів наукової діяльності Леоніда Олександровича слід віднести її багатовекторність, яка свідчить про широке коло наукових інтересів. Захистивши дисертацію за двома спеціальностями (фармакологія та нервові хвороби), у подальшій роботі в області експеримен-

тальної фармакології та токсикології він приділяв основну увагу найактуальнішим питанням таких клінічних дисциплін, як неврологія, психіатрія та наркологія.

Під керівництвом професора Л. О. Громова у відділі нейрофармакології вивчалися нейромедіаторні та нейропептидні механізми судомних нападів, психотичних і афективних станів, опіоїдної залежності та абстинентного синдрому, терапевтичної резистентності до ефектів нейротропних засобів. Отримані дані дозволили встановити опіоїдєргічний механізм розвитку антихолінергічного психозу. Експериментальне підтвердження гіпотези щодо ролі статевих гормонів у патогенезі наркоманій послужило підґрунтям для розробки нового підходу до фармакотерапії опіоїдної залежності з використанням оборотних блокаторів рецепторів тестостерону. На моделях епілепсії та неврозу було встановлено наявність протисудомної активності в похідних циклічних монокарбаматів і нейролептичної – у триметоксизамісценних похідних галоїдів кислоти.

Останніми роками Л. О. Громов працював над розробкою принципово нових теоретичних уявлень щодо патогенезу шизофренії: згідно із робочою гіпотезою, розвиток захворювання зумовлений змінами структурно-функціонального стану мозолистого тіла – калозопатією. Під керівництвом професора Л. О. Громова здійснювався пошук шляхів оптимізації фармакотерапії епілепсії, депресій та психозів з урахуванням міжпівкульної асиметрії мозку та феномена толерантності до дії психотропних лікарських засобів.

Л. О. Громов – автор понад 300 публікацій, 30 винаходів, 3 монографій.

Леонід Олександрович успішно поєднував плідну науково-організаційну роботу з викладацькою діяльністю: протягом багатьох років він читав курс лекцій «Хімія лікарських засобів» на кафедрі органічної хімії Національного університету імені Т. Г. Шевченка, як лектор брав участь у роботі всіх шкіл молодих учених-фармакологів України. Професором Л. О. Громовим підготовлено плеяду учнів – 30 кандидатів та 10 докторів наук, які продовжують справу свого Вчителя на університетських кафедрах і в лабораторіях науково-дослідних центрів України, Франції, Великобританії, Японії.

Протягом багатьох років Л. О. Громов був головним токсикологом м. Києва, членом президій Асоціації фармакологів України та Асоціації нейронаук України, Європейської асоціації нейроендокринологів, членом Товариства токсикологів України, а також членом редколегій наукових журналів «Фармакологія та лікарська токсикологія», «Вісник фармакології та фармації», «Клінічна фармація», «Современные проблемы токсикологии».

У пам'яті колег та учнів Леонід Олександрович Громов лишатиметься прикладом справжнього вченого, риси якого унікально поєднувалися з надзвичайною людяністю та доброзичливістю.

*ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»,
ГО «Асоціація фармакологів України»*

СОДЕРЖАНИЕ

ОБЗОРЫ

- Шарыкина Н. И., Мешкова Н. А., Мищенко О. В., Хавич О. А.,
Кудрявцева И. Г., Пенделюк С. И.* Трансдукция митогенных сигналов
как основа создания противоопухолевых таргетных препаратов (часть I)..... 3

В НАУЧНЫХ ЛАБОРАТОРИЯХ

- Беленичев И. Ф., Кучеренко Л. И., Волчик Ю. А., Абрамов А. В.,
Бухтиярова Н. В.* Некоторые аспекты кардиопротекторного действия
нового β -адреноблокатора с NO-миметическим эффектом «Гипертрил»
на модели инфаркта миокарда..... 11
- Волощук Н. И., Таран И. В.* Гастротоксическое действие диклофенака
натрия на фоне дефицита и избытка гидроген сульфида в эксперименте 17
- Должикова Е. В., Малоштан Л. Н.* Гистоморфологические исследования
влияния новых суппозиторий вагинальных «Меланизол» на состояние
влагалища крыс на фоне экспериментального вагинита 25
- Дронов С. Н.* Детоксифицирующие свойства и острая токсичность
фиксированной комбинации низкоконцентрированного раствора гипохлорита
натрия и таурина, предназначенной для парентерального применения 32
- Жилук В. И., Мамчур В. И.* Дозозависимые эффекты метформина
и пиоглитазона по отношению к процессам обучения и хранения
условного навыка у крыс с аллоксановым диабетом 40
- Кабанова Т. А., Павловский В. И., Халимова Е. И., Ушаков И. Ю.,
Карасева Т. Л., Андронати С. А.* Анальгетические и противовоспалительные
свойства 1-метоксикарбонилметил-3-ариламинобенздиазепин-2-онов 47
- Кальчук Р. О.* Профилактическое и лечебное применение тиоцетама
для коррекции острого воспаления слизистой оболочки полости рта
при иммобилизации в эксперименте 54
- Нагорная Е. А., Кучеренко Л. И., Мазур И. А., Волуй А. В., Кузнецова Е. В.,
Ярош А. К.* Фармакокинетические параметры инъекционной формы нового
метаболитотропного препарата «Ангиолин» 60
- Очеретнюк А. А., Черешнюк И. Л., Лысенко Д. А., Прокопенко С. В.*
Исследование фрагментации ДНК в тканях легких крыс после
применения 0,9 % раствора NaCl, лактопротеина с сорбитолом
или 5 % раствора HAES-LX в остром периоде ожоговой болезни 66
- Пясковская О. Н., Бойчук И. В., Федорчук А. Г., Мельников О. Р.,
Дасюкевич О. И., Д. Л. Колесник, Соляник Г. И.* Противоопухолевое
действие дихлорацетата в отношении карциномы Эрлиха 73

<i>Рыбак В. А., Малоштан Л. Н.</i> Влияние длительного применения густого экстракта фасоли на показатели углеводного обмена у крыс с метаболическим синдромом на фоне ожирения.....	80
<i>Саенко А. В.</i> Влияние натриевой соли 3-(2-оксо-3-фенил-2Н-[1,2,4]триазино[2,3-с]хиназолин-6-ил) пропановой кислоты на физическую выносливость крыс в условиях гипоксических состояний.....	85
<i>Степанюк Г. И., Почелова Е. В., Степанюк Н. Г., Коваленко С. И., Воскобойник А. Ю.</i> Актопротекторная активность солей (3-Р-оксо-2Н-[1,2,4]-триазино[2,3-с]хиназолин-6-ил)карбоновых кислот и их галогенсодержащих аналогов	90
<i>Суворова З. С.</i> Эффективность производного арилалифатических аминокспиртов на модели экспериментального онихомикоза	96

ЛИЧНОСТИ

<i>Леонид Александрович Громов</i>	103
--	-----

CONTENT

REVIEWS

- Sharykina N. I., Meshkova N. A., Mischenko O. V., Khavich O. A., Kudryavtzeva I. G., Pendeluk S. I.* Transduction of mitogenic signals as a basis for the creation of anticancer targeted agents (part I) 3

IN SCIENTIFIC LABORATORIES

- Belenichev I. F., Kucherenko L. I., Volchik Yu. A., Abramov A. V., Bukhtiyarova N. V.* Some aspects of cardioprotective activity of new β -adrenoblocker with NO-mimetic effect «Hypertril» on myocardial infarction model 11
- Voloshchuk N. I., Taran I. V.* Gastrotoxic effect of diclofenac sodium under deficiency and excess of hydrogen sulfide in experiment 17
- Dolzhikova O. V., Maloshtan L. M.* Histomorphological study of effect of new vaginal suppositories «Melanizol» on the rat's vagina under experimental vaginitis 25
- Dronov S. N.* The detoxifying properties and acute toxicity of a fixed combination of low-concentration solution of sodium hypochlorite and taurine intended for parenteral administration 32
- Zhylyuk V. I., Mamchur V. I.* Dose-dependent effects of metformin and pioglitazone in relation to process of training and conditional skill preservation in rats with alloxan diabetes 40
- Kabanova T. A., Pavlovsky V. I., Khalimova E. I., Ushakovl. Yu., Karaseva T. L., Andronati S. A.* Analgesic and anti-inflammatory properties of 1-methoxycarbonylmethyl-3-arylamino benzodiazepine-2-ones 47
- Kalchuk R. O.* Prophylactic and treatment application of thiocetam for correction of acute oral mucosa inflammation in experimental immobilization 54
- Nagornaya H. A., Kucherenko L. I., Mazur I. A., Volui A. V., Kuznetsova H. A., Yarosh A. K.* Pharmacokinetic parameters injection form of the new metabolitotropic drug «Angiolin» 60
- Ocheretniuk A. A., Cheresniuk I. L., Lysenko D. A., Prokopenko S. V.* Study of DNA fragmentation in rats' lung tissues after administration of 0,9 % NaCl solution, lactoprotein with sorbitol, or 5 % HAES-LX solution in the acute period of burn disease 66
- Pyaskovskaya O. N., Boychuk I. V., Fedorchuk A. G., Melnikov O. R., Dasyukevich O. I., Д. Л. Колесник, Solyanik G. I.* Antitumor effects of dichloroacetate against Ehrlich carcinoma 73

<i>Rybak V. A., Maloshtan L. M.</i> The influence of a prolonged use of thick beans extract on the indicators of carbohydrate metabolism in the rats with metabolic syndrome and obesity	80
<i>Saenko A. V.</i> Effect of sodium salt of 3-(2-oxo-3-phenyl-2H- [1,2,4] triazine [2,3-c] quinazolin-6-yl) propanoic acid on physical endurance of rats under hypoxic states	85
<i>Stepanyuk G. I., Pochelova E. V., Stepanyuk N. G., Kovalenko S. I., Voskoboynik A. Y.</i> An actoprotective activity of salts of (3-R-oxo-2H-[1,2,4]-triazino[2,3-c] quinazolin-6-yl) carboxylic acids and their halogen containing analogues	90
<i>Suvorova Z. S.</i> Evaluation of arylaliphatic aminopropanols derivative efficiency on the model of onychomycosis	96
PERSONALITY	103