
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.

Виходить 1 раз на 2 місяці

№ 6(46)/2015

ЗМІСТ

ОГЛЯДИ

Ситник І. М., Хайтович М. В. Застосування антиоксидантів
за цукрового діабету І типу 3

СУЧАСНІ АСПЕКТИ НЕЙРОФАРМАКОЛОГІЇ

Горбачева С. В., Беленичев І. Ф., Кучеренко Л. І., Бухтиярова Н. В. Глутатион-
зависимые механизмы нейропротективного действия нового метаболитотропного
препарата «Ангиолин» в условиях индукции нитрозирующего стресса *in vitro* 12

Дейко Р. Д., Штриголь С. Ю., Колобов О. О., Бездітко Н. В. Нейропротекторні
та ноотропні властивості нових циклічних дипептидів 19

Нефьодов О. О. Нейротропні ефекти антидепресантів за умов
експериментального еквівалента розсіяного склерозу 28

Самелюк Ю. Г., Беленичев І. Ф., Абрамов А. В., Бухтиярова Н. В.,
Моргунцова С. А., Павлов С. В., Каплаушенко А. Г. Дослідження
нейропротекторної активності пропіл 2-(5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1Н-
1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетімідату гідрохлориду 34

У НАУКОВИХ ЛАБОРАТОРІЯХ

Беленичев І. Ф., Литвиненко Е. С. Влияние модуляторов системы глутатиона –
селеназы и глутоксима на энергетический обмен головного мозга в условиях
экспериментального острого нарушения мозгового кровообращения 41

Бухтиярова І. П., Щокіна К. Г., Дрогвоз С. М., Іщенко О. М. Антиоксидантна дія
ралеїкіну на моделі стрептозотоцинового діабету в щурів 47

Гриб В. В., Дорошенко О. М., Заїчко Н. В., Степанюк Н. Г. Порівняльна
характеристика впливу натрієвої солі 4-(3-метил-2-оксо-2Н-[1,2,4]тріазино[2,3-с]
хіназолін-6-іл) бутанової кислоти та диклофенаку на динаміку гематологічних
показників і безпечність у щурів з ад'ювантним артритом 53

<i>Дринь Д. О., Мельник М. І., Кізуб І. В., Жолос О. В., Соловійов А. І.</i> Взаємодія каналів транзйентного рецепторного потенціалу (TRPV4) і кальцій-активованих калієвих каналів $ВК_{Ca}$ у регуляції судинного тонуусу легеневиx артерій шура	58
<i>Дронова М. Л., Суворова З. С.</i> Антимікробна активність 1-[4-(1,1,3,3-тетраметилбутил)фенокси]-3-(п-бензилгексаметиленіміній)-2-пропанолу хлориду	64
<i>Kutovyi I. M.</i> Attenuation of myocardial ischemia-reperfusion injury by imidazo[1,2-a]azepinium derivatives	70
<i>Ніженковська І. В., Романенко О. В., Седько К. В., Груша М. М., Броварець В. С., Головченко О. В.</i> Вивчення вазоактивних властивостей діетилового ефіру 5-алкіламіно-2-{п-[п-бензоіл-(4-метилбензиліден) гліцил] амінометил}-1,3-оксазол-4-іл фосфонової кислоти на ізолюваній аорті шурів	76
<i>Севрюков О. В., Волковой В. А., Колісник С. В., Ситнік К. М.</i> Визначення антиексудативної активності нових сполук у ряду похідних 5,7-дигідро-1п-піроло [2,3-d] піримідину.....	84

ПИТАННЯ ФАРМАЦЕВТИКИ, ФАРМАЦЕВТИЧНОГО РИНКУ, ФАРМАКОЕКОНОМІКИ

<i>Кузнецов И. Э.</i> Фармакоэкономический аспект применения препаратов кеторолака в терапии болевых синдромов на внегоспитальном этапе	89
---	----

РЕЦЕНЗІЇ

Рецензия академика И. М. Трахтенберга на монографию И. П. Лубяновой «Избыточное железо и патология у рабочих сварочных профессий»	98
---	----

СОДЕРЖАНИЕ	99
-------------------------	----

CONTENT	100
----------------------	-----

І. М. Ситник, М. В. Хайтович

Застосування антиоксидантів за цукрового діабету I типу

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

Ключові слова: цукровий діабет I типу, ускладнення, оксидативний стрес, антиоксиданти

Цукровий діабет (ЦД) I типу є одним з найчастіших і найтяжчих хронічних захворювань у дитячому віці. Найвища захворюваність на ЦД I типу спостерігається у віковій групі до 15 років і становить від 20 до 50 % загального числа пацієнтів з ЦД I типу [1]. Щорічний приріст в Європі показників поширеності ЦД I типу серед дітей становить 3,9 % [2]. В Україні даний показник наближається до 3,4% [1].

Гостроту проблеми визначає не лише значне поширення, але й швидкий розвиток ускладнень, які спричинюють інвалідизацію, погіршують якість життя хворих та скорочують її тривалість.

Принципи лікування специфічних ускладнень, які розроблені на основі проведених сучасних досліджень, дозволили за останні 50 років знизити прояви тяжкої нефропатії, ретинопатії та мікросудинних ускладнень [2], однак не вирішили проблему в цілому.

Факторами ризику ускладнень при ЦД I типу можуть бути: збільшений рівень глікозильованого гемоглобіну HbA_{1c}, високий індекс маси тіла, інсулінова терапія, периферичні ушкодження – ретинопатія та нефропатія [4]. Зокрема, зростання рівня HbA_{1c} на 1 % збільшує ризик серцево-судинних захворювань на 18 %, ішемічної хвороби серця – на 13 %, інсульту – на 17 %, захворювання периферичних судин – на 28 % [3]. Так, прямий контроль глікемії, HbA_{1c} не більше 7,0 %, значно знижує ризик довготривалих ускладнень ЦД I типу [2].

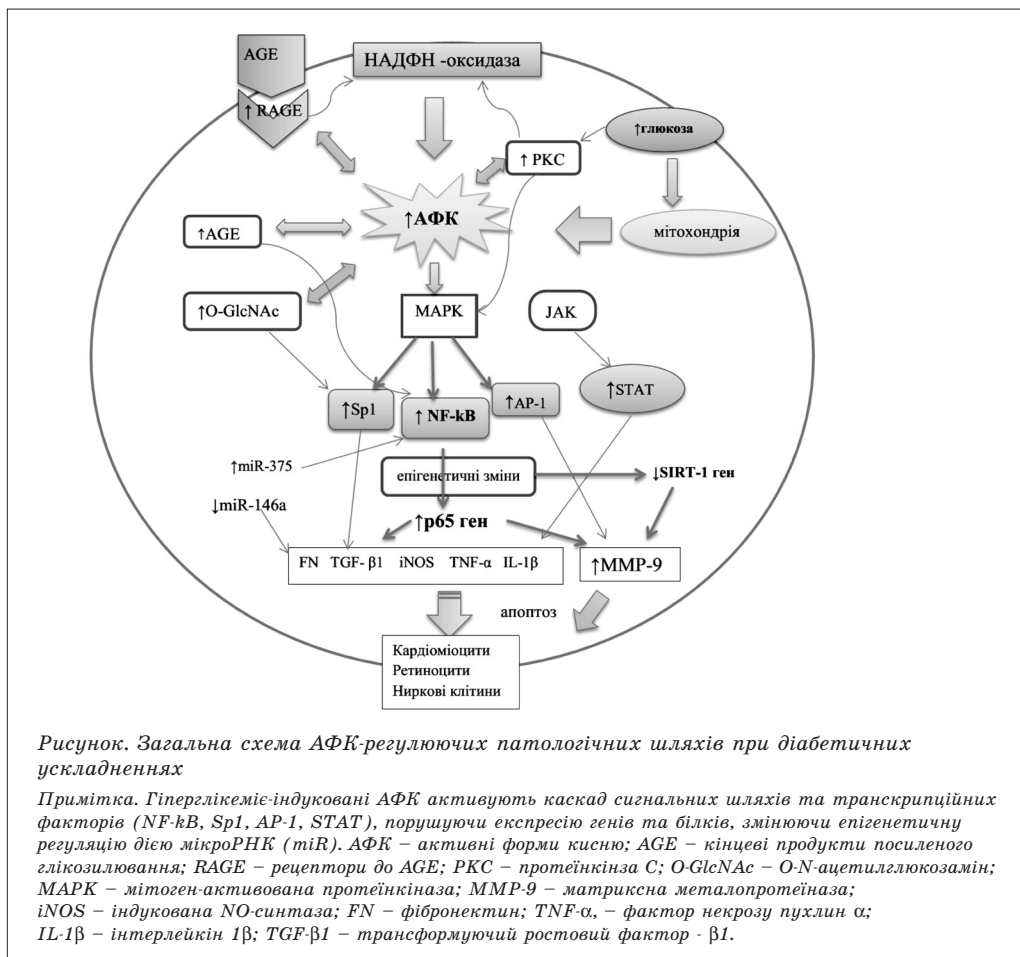
Відомо, що провідну роль у патогенезі понад 100 захворювань, включаючи серцево-судинні та ЦД, мають вільні

радикали, зокрема, токсична дія активних форм кисню (АФК) [5]. Так, окиснення глюкози призводить до утворення АФК, до яких відносять радикал-супероксид аніон ($O_2^{\cdot-}$), синглетний кисень (1O_2), пероксид водню (H_2O_2), пергідроксильний радикал ($HO_2^{\cdot}$), пероксинітрит ($ONOO^-$), оксид нітрогену (NO) та найактивніший радикал – гідроксил ($HO^{\cdot}$) [6], ініціюючи процеси окиснення та деструкції, згубні для біомолекул.

Найважливішими джерелами генерації АФК є дихальний ланцюг мітохондрій, НАДФН оксидаза, ксантиноксидаза, ліпооксигеназа, незв'язана синтаза оксиду азоту (NOS), мієлопероксидаза [7], пероксисоми [8]. Відома роль в окисному стресі (ОС) рецепторів, що активуються проліфераторами пероксисом PPAR (α , γ , та δ), які регулюють ліпідний метаболізм, глюкозний та енергетичний гомеостаз [9].

Відомо, що збільшена генерація супероксиду викликає активацію 5 основних сигнальних шляхів, включених в патогенез ускладнень ЦД, а саме: поліольного патологічного шляху; збільшеного утворення кінцевих продуктів посиленого глікозильовання (advanced glycation end products, AGE); підвищеної експресії рецепторів до AGE та їхніх активуючих лігандів; активації ізоформ протеїнкінази C (PKC); гексозамінового патологічного шляху [10]. Крім того, АФК ініціює активацію транскрипційного фактора NF- κ B, ключового регулятора антиоксидантних ферментів, які здатні ініціювати транскрипцію багатьох генів, які задіяні в апоптозі (рисунки) [11, 12].

До того ж АФК можуть викликати епігенетичні зміни (при гіперглікемії дане явище відоме як «метаболічна пам'ять»), модифікацію ядерного хро-



матину (метилування ДНК, модифікацію гістону) та дезрегуляцію мікроРНК у цитоплазмі, зумовлюючи зміну генної експресії [13]. Наприклад, деацетилювання гістону знижує експресію інформаційного регулятора SIRT1, який впливає на тривалість життя, метаболізм, стимулює інсулінову секрецію, покращує ендотеліальну функцію та зменшує прояви ОС [12, 13]. Маркери метилування ДНК 5 локусів генів ABCG1, PHOSPHO1, SOCS3, SREBF1, TXNIP асоціюються з розвитком ЦД II типу в майбутньому [14]. Інші епігенетичні регулятори, мікроРНК, впливають на генну експресію на посттрансляційному рівні шляхом гальмування рибосомної функції, дестабілізуючи мішень мРНК. Так, регуляція функції β-клітин здійснюється miR-375, miR-9, miR-96, miR-124a [15]. При діабетичній нефропатії змінюють свою експресію міРНК – miR-

25, miR-21, miR-192, miR-141, miR-200a. При ретинопатії – miR-146, miR-146a і miR-200b. Найінформативнішими міРНК при діабетичній кардіоміопатії є miR-1, miR-133, miR-499, miR-133a, miR-206, miR-208 [13, 15].

Беручи до уваги ОС, як один із ключових механізмів виникнення ЦД, широко розглядаються фармакологічні підходи, направлені саме на попередження та корекцію ОС. Активно вивчається роль антиоксидантів як в терапії ЦД I типу [16], так і в попередженні його ускладнень, зокрема, при серцево-судинних порушеннях [5, 17].

Антиоксиданти (АО) – поліфункціональні сполуки різної природи, що перешкоджають або гальмують вільнорадикальне окиснення органічних сполук молекулярним киснем, чи здатні інактивувати вільні радикали шляхом зв'язування та утворення неактивних форм.

Оскільки радикальне окиснення субстратів здійснюється через ланцюг реакцій, який включає три стадії (ініціювання, подовження та обрив ланцюга), тому АО виявляють свої ефекти декількома механізмами: через гальмування прооксидантних ферментів; утворення металічних хелатів або нейтралізацію радикалів. АО, які діють на першу та другу ланку, називають профілактичними (preventive antioxidants), вони запобігають утворенню АФК непрямою дією на стадії ініціювання. Третя група АО безпосередньо «нейтралізує» радикали, і тому їх називають ланцюг-руйнуючими (chain-breaking antioxidants), мішенню для них є стадія подовження ланцюга. Крім того, деякі АО поєднують дані ефекти, піднімаючи рівень ендогенного захисту *in vivo*, наприклад, регулюючи позитивну експресію генетичного коду супероксиддисмутази (СОД), каталази, або глутатіон-пероксидази [6].

Відомо, що рівні АФК регулюються великою кількістю ферментів і фізіологічних АО, таких як СОД, каталаза, глутатіонпероксидаза, глутатіон, тиреодоксин тощо. Первинну ланку ензиматичного захисту організму людини забезпечують СОД, яка перетворює супероксид аніон-радикал на H_2O_2 , який каталаза розщеплює до H_2O і O_2 , і глутатіонпероксидаза, що слугує відновником для пероксидів. Вторинну ланку становлять глутатіонредуктаза і глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, які безпосередньо не реагують з радикалами, проте важливі для діяльності інших ендогенних АО [18]. До неферментативних ендогенних АО належать вітаміни, кофактори ферментів, пептиди, фенольні сполуки, органічні сірковмісні сполуки тощо. Окремий клас становлять синтетичні АО – лікарські засоби антиоксидантної дії.

Класифікація антиоксидантів

За походженням, антиоксиданти поділяються на:

1. Ферментативні:

- первинні (СОД, каталаза, глутатіонпероксидаза);
- вторинні (глутатіонредуктаза і глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа).

2. Неферментативні:

- вітаміни (А, Е, С, В);
- кофактори ферментів (коензим Q10);
- фенольні сполуки (поліфеноли, біофлавоноїди);
- препарати амінокислот, білків, нуклеїнових кислот;
- пептиди й органічні сірковмісні сполуки (глутатіон, тиреодоксин);
- каротиноїди (β-каротин, лютеїн);
- субстрати вільнорадикального окиснення (ненасичені жирні кислоти);
- модулятори вільнорадикального окиснення – мікроелементи (Zn, Se, Mn).

3. Синтетичні (мультифункціональні АО – лікарські засоби).

У сучасній літературі активно вивчаються різноманітні сполуки з антиоксидантною активністю природного та синтетичного походження. В експериментальних роботах доведено антиоксидантні властивості L-аргініну [19], темполу (мембрано-проникаючого активатора СОД), куркуміну [5], L-глутаміну [20], таурину [21], натрію ферулату [22], фазудилу (селективного інгібітора Rho асоційованих протейніназ 1-го покоління) [23], ресвератролу [12], N-ацетилцистеїну [24], екстракту шавлії [25], екстракту гінкго [26], селену [27].

У терапії ЦД вивчаються АО, представлені, головним чином, вітамінами та кофакторами ферментів. Так, у клініці ЦД досліджуються протекторні властивості вітаміну С [28–30], Е [31], α-ліпоевої кислоти [32, 35], екстракту гінкго [33], убіхінону (коензиму Q10) [34]. Також обговорюється роль лінолевої кислоти, L-карнітину, ω-3 і ω-6 поліненасичених жирних кислот, вітаміну В1 у генезі ускладнень ЦД, зокрема, при кардіальній автономній нейропатії [36].

Регулярне застосування вітаміну С сприяло нормалізації рівня ендогенних АО –вітамінів А, С, Е у пацієнтів з метаболічним синдромом [28]. Метааналіз результатів, який включав 26 наглядових та 12 рандомізованих досліджень, показав позитивний ефект вітаміну С на рівень глікемії при ЦД II типу [29]. В іншому дослідженні на фоні інфузійного введення аскорбінової кислоти 20 пацієнтам з ЦД I типу

відмічалось зменшення проявів ОС і запалення, покращання ендотеліальної функції та потенціювання протекторної дії глюкагон-подібного пептиду-1 [30].

Мета-аналіз результатів [31], які включали дослідження 714 пацієнтів, показав, що споживання вітаміну Е нормалізує глікемічний контроль у пацієнтів з ЦД II типу. Але слід зазначити, що численні рандомізовані дослідження вказують на недостатність доказових даних потенційних ефектів вітамінів-антиоксидантів на рівні глюкози, HbA1c та інсулінемію при ЦД [30, 31].

Інший АО, α -ліпоева кислота виявляється безпечною та ефективною у лікуванні пацієнтів похилого віку з ЦД II типу, ускладненим гострим ішемічним інсультом [32], покращуючи стан антиоксидантного захисту, нормалізуючи рівні глюкози та ліпідів у крові, сприяючи покращанню функції β -клітин підшлункової залози. Крім того, у дослідженні [35] α -ліпоева кислота в дозі 300 мг (двічі на 1 день, протягом 4 місяців) суттєво покращувала стан субклінічної дисфункції лівого шлуночка в 15 дітей з ЦД I типу, протидіяла розвитку діабетичної кардіоміопатії, зокрема через гальмування генної експресії трансформуючого ростового фактора TGF- β , зменшення рівнів NO, TNF- α , Fas-L, MMP-2, тропоніну-I [35].

У рандомізованому, подвійно-сліпому та плацебо-контрольованому дослідженні допоміжна АО терапія убихіноном протягом 6 місяців сприяла достовірному покращанню дисбалансу між оксидантами та антиоксидантами при діабетичній ретинопатії [34].

У клінічних та експериментальних роботах доведено протекторні властивості екстракту гінкго при ЦД. Так, у дослідженні, у якому взяли участь 56 пацієнтів з ЦД II типу, у групі, яка отримувала стандартизований сухий екстракт гінкго білоба, виявилось значне зниження рівня HbA1c та покращання якості життя пацієнтів у психологічному аспекті після 9–18 місяців АО лікування [33]. В експериментальних роботах вказується на кардіопротекторні ефекти гінкго, які пояснюються прямою антирадикальною активністю та гальмуванням індукції мітохон-

дріальної пори mPTR [26]. У дослідженні на 30 щурах, у групі з експериментальним ЦД I типу ($n = 6$), введення екстракту гінкго в дозі 50 мг/кг протягом 3 тижнів протидіяло розвитку діабетичної кардіоміопатії, не поступаючись при цьому препарату-порівняння – лізіноприлу [26].

Останнім часом досліджуються АО властивості ресвератролу при серцево-судинних захворюваннях, ЦД, нейродегенеративних та онкологічних захворюваннях. Ресвератрол (3,5,4-тригідрокситрансстильбен) – поліфенольна сполука, природний фітолексин, який міститься в червоному вині. В експерименті було показано, що на фоні інтраперитонеального введення ресвератролу в дозі 10 мг/кг протягом 4 тижнів, починаючи з 5 тижня після індукції ЦД I типу, зменшувалися прояви серцевої дисфункції за рахунок підвищення генної експресії SIRT1 у діабетичних щурів та незначного зменшення запального процесу, знижуючи експресію циклооксигенази COX-1 і COX-2, NF- κ B (p65) та MMP-9, попереджуючи розвиток хронічних діабетичних ускладнень міокарда [12].

Значну увагу приділяють дослідженню синтетичного АО, N-ацетилцистеїну (НАС). Даний лікарський засіб має АО властивості, зумовлені його здатністю стимулювати синтез відновленого глутатіону. НАС знижує активність НАДФН оксидази, зменшуючи продукцію АФК, покращуючи при цьому діабет-індуковану кардіальну дисфункцію. Так, на фоні перорального введення НАС діабетичним щурам ($n = 8$) протягом 8 тижнів спостерігалось відновлення АО-захисту, зокрема рівня глутатіону, активності СОД та зниження маркерів пероксидного окиснення ліпідів. А також доведено, що підвищення активності альдегіддегідрогенази-2 під впливом даних АО покращує скорочувальну здатність лівого шлуночка [24].

Значний інтерес становить комплексний підхід до застосування АО. Так, на фоні перорального введення НАС та алопуринолу протягом 4 тижнів діабетичним щурам ($n = 7$), починаючи після першого тижня з дня індукції експериментального ЦД I типу, відмі-

чали синергічну протективну дію щодо міокарда. Усього для дослідження було взято 5 груп експериментальних тварин ($n = 35$). При цьому в групі діабетичних тварин зменшувалася постішемична зона інфаркту та знижувалася концентрація креатинін-кінази (СК-МВ) у плазмі під впливом АО. Також, на культурі міокардіоцитів було показано значне відновлення концентрації адипонектину, фосфорилування Akt, сигнального трансдуктора та активатора транскрипції 3 (STAT3), підвищуючи експресію кардіального рецептора AdipoR2 та активацію eNOS дією піддосліджуваного комплексу АО як на моделі *in vitro*, так і на моделі ЦД *in vivo* [37].

Комплекс антиоксидантів (НАС, аскорбінова кислота, α -токоферол, β -каротин, селен) в експерименті значно покращував показники кардіальної дисфункції в діабетичних щурів, зменшував апоптоз та активацію фактора NF-kB у культурі кардіальних клітин H9c2, зменшуючи експресію АФК-генеруючих ферментів, таких як ксантиноксидаза, моноаміноксидаза-А, 5-ліпооксигеназа [11]. У даному експерименті було досліджено 3 групи експериментальних тварин ($n = 36$), у групі з моделлю ЦД І типу 12 щурам протягом 12 тижнів перорально вводили комплекс АО. У ході дослідження відмічали нормалізацію ліпідного профілю, зниження рівня прозапальних цитокінів TNF- α , IFN- γ , TGF- β та IL-10. Комбінована корекція зумовила покращання функції лівого шлуночка, зменшення артеріального тиску та сприяла нормалізації співвідношення Bcl-2/Bax, що є дуже важливим для попередження діабетичної кардіоміопатії [11].

У дослідженні, у якому взяли участь 180 пацієнтів (6 груп), комбіноване антиоксидантне лікування, що включало лютеїн, вітаміни С, Е, А, B₂, рутин, цинк та селен, з ангіопротектором – екстрактом гінкго білоба, виявилось найефективнішою терапевтичною процедурою в пацієнтів з початковою стадією діабетичної ретинопатії. Даний комплекс значно зменшував макулярну товщину, покращував гостроту зору та світлочутливість, загалом відновлюючи

функціональні та морфологічні параметри сітківки [38].

Слід зазначити, що деякі одиничні роботи вказують на неефективність комбінованої АО терапії. Так, у рандомізованому, плацебо-контрольованому дослідженні, у якому брали участь 44 пацієнти, комплексне АО лікування (алопуринол, α -ліпоева кислота, нікотинамід) протягом 1 року не запобігало розвитку кардіальної автономної нейропатії в пацієнтів з ЦД І типу [39].

Відомо, що інгібітори ренін-ангіотензин-альдостеронової системи (РААС) здійснюють позитивний ефект на глюкозний метаболізм у пацієнтів з ЦД, зокрема, доведено їхню ренопротекторну дію. Так, значний нефропротекторний ефект спостерігався при синергічному застосуванні периндоприлу та катехіну в діабетичних щурів [40]. Для дослідження було взято 5 груп експериментальних тварин, при цьому виявлено значне зниження рівня мікроальбумінурії, зменшення проявів деструкції мезангіальних клітин та подоцитів порівняно з іншими групами, яким проводили монокомпонентну корекцію [40].

Комплексне застосування лозартану та L-карнітину протягом 3 місяців на тваринах з моделлю ЦД І типу показало зменшення ендотеліальної дисфункції через вплив на eNOS, що супроводжувалося покращанням судинної ендотелій-залежної релаксації на ацетилхолін, зменшенням продукції супероксиду та сироваткового малонового діальдегіду, запалення (TNF- α) та оксидативного пошкодження міокарда [41].

Експериментальними та клінічними дослідженнями підтверджено протекторні властивості телмісартану як антагоністу рецепторів ангіотензину II (АГ II) за ЦД І типу через активацію рецепторів PPAR γ та антиоксидантну дію. Телмісартан у тварин з ЦД І типу через механізми гальмування кардіального ОС, зменшення активності НАДФН-оксидази та експресії eNOS покращував структурні та функціональні показники аортальної жорсткості, ендотеліальну функцію [42].

Антиоксидантні властивості лозартану також пов'язують зі зменшенням активності НАДФН-оксидази і гіпер-

продукції супероксиду та NO, генерації пероксинітригу, гальмуванням проявів ліпопероксидації [41], попередженням окисного пошкодження ДНК [43]. Також, АО активність лозартану пояснюють гідроксиметильним фрагментом бокового ланцюга, на основі якого синтезують нові класи сполук з АО активністю, так звані АО-сартани [44].

Широко досліджуються АО властивості флавоноїдів, зокрема вивчаються похідні флавонолів при ЦД I типу [5]. Флавоноїди – група біологічно активних речовин поліфенольного характеру, які містяться у рослинній сировині у вигляді глікозидів. Найпоширенішою є група флавонолів, яка представлена, головним чином, кверцетином та його глікозидом – рутином. Механізм АО-дії біофлавоноїдів пов'язують з захватом та нейтралізацією АФК, а також впливом на роботу ферментних систем, блокуванням ксантиноксидази, НАДФН-оксидази, циклооксигенази, протеїнкінази С, у результаті чого знижується продукція супероксид-аніона та підвищується активність ферментів АО захисту, зменшуються прояви ліпопероксидації [45].

В експерименті доведено кардіопротекторні властивості рутину при ЦД I типу. У даному дослідженні було взято 3 групи тварин ($n = 24$). У дослідних тварин, які отримували рутин у дозі 8 мг/кг, спостерігали нормалізацію ліпідного профілю, зменшення маркерів окисного пошкодження міокарда (СК-МВ, LDH, AST) та проявів ліпопероксидації, підвищення активності СОД, запобігання продукції запальних факторів (TNF- α та IL-6), гальмування апоптозу кардіоміоцитів (збільшення білкової експресії Bcl-2 та, відповідно,

зниження експресії Caspase-3 і Bax), тим самим попереджуючи розвиток серцево-судинних ускладнень при ЦД I типу [45].

Виходячи з наведених даних, гіперглікемія і викликана нею генерація АФК вносять значний вклад у розвиток не лише цукрового діабету, але й тяжких ускладнень, що часто є причиною інвалідизації, погіршення якості та скорочення тривалості життя хворих. Супероксид активує каскад різних патологічних шляхів, викликаючи епігенетичні зміни, включаючи модифікацію ядерного хроматину та дезрегуляцію мікроРНК у цитоплазмі, які змінюють генну експресію.

Для корекції даних порушень широко використовуються антиоксиданти різного походження. Аналіз літературних джерел показав, що в терапії ЦД та його ускладнень частіше вивчаються вітаміни-антиоксиданти та ензиматичні кофактори як у монотерапії, так і в комбінованому лікуванні. Слід зазначити, що дані клінічних випробувань, які представлені в літературі, є досить фрагментарними і стосуються, перш за все, терапії ЦД II типу. На даний час висвітлено недостатньо доказових даних щодо ефективності комплексного лікування ЦД I типу та його ускладнень. Але численні експериментальні дослідження вказують на перспективи та ефективність впровадження комплексного антиоксидантного лікування ускладнень ЦД I типу, що дозволяє посилити терапевтичний ефект.

Таким чином, доцільно здійснювати пошук нових стратегій фармакологічної корекції окисного стресу для попередження розвитку небезпечних ускладнень при ЦД I типу.

1. Цукровий діабет I типу. Адаптована клінічна настанова, заснована на доказах 2013 // Міжнародний ендокринологічний журнал. – 2013. – № 7 (55). – С. 123–130.
2. Cameron J. F. Care of diabetes in children and adolescents: controversies, changes, and consensus / F. J. Cameron, D. K. Wherrett // Lancet. – 2015. – V. 385. – P. 2096–2106.
3. Журавльова Л. В. Ураження міокарда на фоні цукрового діабету: фокус на патогенетичні та діагностичні особливості кардіоміопатії / Л. В. Журавльова, Н. В. Сокольнікова // Ліки України. – 2013. – № 6 (172). – С. 4–8.
4. Diabetic cardiomyopathy: from pathophysiology to treatment / K. Trachanas, K. Sideris, C. Aggeli [et al.] // Hellenic J Cardiol. – 2014. – № 55. – P. 411–421.
5. Liu Q. Diabetic cardiomyopathy and its mechanisms: Role of oxidative stress and damage/ Q. Liu, S. Wang, Lu Cai // J Diabetes Invest. – 2014. – № 5. – P. 623–634.
6. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems/ J.-M. Lúa, P. H. Lin, Q. Yao, C. Chen // J Cell Mol Med. – 2010. – № 14 (4). – P. 840–860.

7. Sugamura K. Reactive Oxygen Species in Cardiovascular Disease/ K. Sugamura, J. F. Keaney // *Free Radic Biol Med.* – 2011. – № 51 (5). – P. 978–992.
8. Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications / D. M. Kasote, S. S. Katyare, M. V. Hegde [et al.] // *International Journal of Biological Sciences.* – 2015. – V. 11. – № 8. – P. 982–991.
9. Peroxisome proliferator-activated receptors modulate cardiac dysfunction in diabetic cardiomyopathy [Електронний ресурс] / T. I. Lee, Y. H. Kao, Y. C. Chen [et al.] // *Diabetes Res Clin Pract.* – 2013. – V. 100, № 3. – P. 330–3399. – Режим доступу: <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2013.01.008>
10. Advanced glycation end products and diabetic complications [Електронний ресурс] / V. P. Singh, A. Bali, N. Singh [et al.] // *Korean J Physiol Pharmacol.* – 2014. – V. 18. – P. 1–14. – Режим доступу: <http://dx.doi.org/10.4196/kjpp.2014.18.1.1>
11. Kumar S. Multiple antioxidants improve cardiac complications and inhibit cardiac cell death in streptozotocin-induced diabetic rats [Електронний ресурс] / S. Kumar, S. Prasad, S. L. Sitasawad // *Plos one.* – 2013. – V. 8, Issue 7. – P. 1–12. – Режим доступу: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0067009>.
12. Yar A. S. The effects of resveratrol on cyclooxygenase-1 and -2, nuclear factor kappa beta, matrix metalloproteinase-9, and sirtuin 1 mRNA expression in hearts of streptozotocin-induced diabetic rats / A. S. Yar, S. Menevse , E. Alp // *Genetics and Molecular Research.* – 2011. – № 10 (4). – P. 2962–2975.
13. Togliatto G. Skewed epigenetics: an alternative therapeutic option f or diabetes complications [Електронний ресурс] / G. Togliatto, P. Dentelli, M. Felice Brizzi // *Journal of Diabetes Research.* – 2015. – V. 2015. – P. 7. – Режим доступу: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/373708>.
14. Epigenome-wide association of DNA methylation markers in peripheral blood from Indian Asians and Europeans with incident type 2 diabetes: a nested case-control study / J. C. Chambers, M. Loh, B. Lehne [et al.] // *Lancet.* – 2015. – V. 3, № 2. – P. 526–534.
15. Shantikumar S. Role of microRNAs in diabetes and its cardiovascular complications / S. Shantikumar, A. Caporali, C. Emanuelli // *Cardiovascular Research.* – 2012. – № 93. – P. 583–593.
16. Lipid peroxidation and antioxidant protection in girls with type 1 diabetes mellitus during reproductive system development / L. I. Kolesnikova, M. A. Darenskaya, N. V. Semenova [et al.] // *Medicina.* – 2015. – № 51. – P. 107–111.
17. Zatalia St. R. The role of antioxidants in the pathophysiology, complications, and management of diabetes mellitus / St. R. Zatalia, H. Sanusi // *Acta Med Indones-Indones J Intern Med.* – 2013. – V. 45. – № 2. – P. 141–147.
18. Про- та антиоксидантні системи і патологічні процеси в організмі людини / О. Г. Резніков, О. М. Полумбрік, Я. Г. Бальон [та ін.] // *Вісн. НАН України.* – 2014. – № 10. – С. 17–29.
19. Хара М. Р. Вплив L-аргініну на вегетативну регуляцію серця щурів різної статі зі стрептозоточиновим цукровим діабетом / М. Р. Хара, Н. А. Головач // *Ліки України.* – 2013. – № 2 (15). – С. 19–21.
20. L-glutamine supplementation prevents the development of experimental diabetic cardiomyopathy in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats [Електронний ресурс] / S. L. Badole, G. B. Janagam , S. M. Chaudhari [et al.] // *Plos one.* – 2014. – V. 9, Issue 3. – P. 1–7. – Режим доступу: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0092697>.
21. Taurine attenuates oxidative stress and alleviates cardiac failure in type I diabetic rats/ Guo-guang Wang, Wei Li, Xiao-hua Lu [et al.] // *Croat Med J.* – 2013. – № 54. – P. 171–179.
22. Cardioprotective effect of sodium ferulate in diabetic rats / X. Xu, H. Xiao, J. Zhao [et al.] // *Int. J. Med. Sci.* – 2012. – № 9 (4). – P. 291–300.
23. The protective effect of fasudil on the structure and function of cardiac mitochondria from rats with type 2 diabetes induced by streptozotocin with a high-fat diet is mediated by the attenuation of oxidative stress [Електронний ресурс] / R. Guo , B. Liu , S. Zhou [et al.] // *Bio Med Research International.* – 2013. – V. 2013. – P. 1–9. – Режим доступу: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/430791>.
24. Inhibition of aldehyde dehydrogenase 2 by oxidative stress is associated with cardiac dysfunction in diabetic rats / J. Wang, H. Wang, P. Hao [et al.] // *Mol. Med.* – 2011. – № 17 (34). – P. 172–179.
25. Myocardial protection by salvia miltiorrhiza injection in streptozotocin induced diabetic rats through attenuation of expression of thrombospondin-1 and transforming growth factor-β1 / J. Yu, J. Fei, J. Azad [et al.] // *The Journal of International Medical Research.* – 2012. – № 40. – P. 1016–1024.
26. Saini A. S. Protective effect and mechanism of Ginkgo biloba extract-EGb 761 on STZ-induced diabetic cardiomyopathy in rats / A. S. Saini, R. Taliyan, P. L. Sharma // *Pharmacogn Mag.* – 2014. – V.10, № 38. – P. 172–178.
27. Okatan E. N. Cardioprotective effect of selenium via modulation of cardiac ryanodine receptor calcium release channels in diabetic rat cardiomyocytes through thioredoxin system / E. N. Okatan, E. Tuncay, B. Turan // *J Nutr Biochem.* – 2013. – V. 24, № 1. – P. 2110–2118.
28. Physical activity in patients with symptoms of metabolic syndrome reduces the concentration of plasma antioxidant vitamins - protective effect of vitamin C [Електронний ресурс] / M. Godala, I. Materek-Kuśmierkiewicz, D. Moczulski [et al.] // *Pol Merkuriusz Lekarski.* – 2015. – № 38 (227). – P. 258–262. – Режим доступу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26039019>.

29. Influence of ascorbic acid supplementation on type 2 diabetes mellitus in observational and randomized controlled trials; a systematic review with meta-analysis [Електронний ресурс] / O. Tabatabaei-Malazy, S. Nikfar, B. Larijani [et al.] // J Pharm Pharm Sci. – 2014. – № 17 (4). – P. 554–582. – Режим доступу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25579434>.
30. Vitamin C further improves the protective effect of glucagon-like peptide-1 on acute hypoglycemia-induced oxidative stress, inflammation, and endothelial dysfunction in type 1 diabetes / A. Ceriello, A. Novials, E. Ortega [et al.] // Diabetes Care. – 2013. – № 36 (12). – P. 4104–4108.
31. Influence of vitamin E supplementation on glycaemic control: a meta-analysis of randomised controlled trials [Електронний ресурс] / Xu R, Zhang S, Tao A [et al.] // PLoS One. – 2014. – № 9 (4). – e95008. – Режим доступу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24740143>.
32. Zhao L. α -Lipoic acid treatment of aged type 2 diabetes mellitus complicated with acute cerebral infarction [Електронний ресурс] / L. Zhao, F. X. Hu // Eur Rev Med Pharmacol Sci. – 2014. – № 18 (23). – P. 3715–9. – Режим доступу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25535146>.
33. The effect of Ginkgo biloba and Camellia sinensis extracts on psychological state and glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus [Електронний ресурс] / L. Lasaita, A. Spadiene, N. Savickiene [et al.] // Nat Prod Commun. – 2014. – № 9 (9). – P. 1345–50. – Режим доступу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25918808>.
34. The effect of ubiquinone and combined antioxidant therapy on oxidative stress markers in non-proliferative diabetic retinopathy: A phase IIa, randomized, double-blind, and placebo-controlled study [Електронний ресурс] / A. D. Rodríguez-Carrizalez, J. A. Castellanos-González, E. C. Martínez-Romero [et al.] // Redox Rep. – 2015. – Режим доступу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26321469>.
35. Alpha-lipoic acid improves subclinical left ventricular dysfunction in asymptomatic patients with type 1 diabetes [Електронний ресурс] / S. K. Hegazy, O. A. Tolba, T. M. Mostafa [et al.] // Rev Diabet Stud. – 2013. – № 10 (1). – P. 58–67. – Режим доступу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24172699>.
36. Serhiyenko V. A. Diabetic cardiac autonomic neuropathy: Do we have any treatment perspectives? [Електронний ресурс] / V. A. Serhiyenko, A. A. Serhiyenko // World J. Diabetes. – 2015. – № 6 (2). – P. 245–258. – Режим доступу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25789106>.
37. N-acetylcysteine and allopurinol synergistically enhance cardiac adiponectin content and reduce myocardial reperfusion injury in diabetic rats [Електронний ресурс] / T. Wang, S. Qiao, S. Lei [et al.] // PLoS ONE. – 2011. – № 6 (8). – P. 1–11. – Режим доступу: <http://doi:10.1371/journal.pone.0023967>.
38. Results of the use of antioxidant and angioprotective agents in type 2 diabetes patients with diabetic retinopathy and age-related macular degeneration [Електронний ресурс] / L. K. Moshetova, I. V. Vorob'eva, I. B. Alekseev [et al.] // Vestn Oftalmol. – 2015. – № 131 (3). – P. 34–40, 42–4. – Режим доступу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26310005>.
39. Effects of triple antioxidant therapy on measures of cardiovascular autonomic neuropathy and on myocardial blood flow in type 1 diabetes: a randomised controlled trial [Електронний ресурс] / R. Pop-Busui, M. J. Stevens, D. M. Raffel [et al.] // Diabetologia. – 2013. – № 56 (8). – P. 1835–44. – Режим доступу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23740194>.
40. The comparative effects of perindopril and catechin on mesangial matrix and podocytes in the streptozotocin induced diabetic rats / S. P. Ertürkuner, M. Başar, M. Tunçdemir [et al.] // Pharmacol Rep. – 2014. – V. 66, № 2. – P. 279–287.
41. Combination therapy with losartan and L-carnitine protects against endothelial dysfunction of streptozotocin-induced diabetic rats / M. Sleem, A. Taye, M. A. E-Moselhy [et al.] // Eur J Pharmacol. – 2014. – V. 744. – P. 10–17.
42. Chaudagar K. K. Effect of telmisartan on VEGF-induced and VEGF-independent angiogenic responsiveness of coronary endothelial cells in normal and streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats / K. K. Chaudagar, A. A. Mehta // Clin Exp Hypertens. – 2014. – V. 36, № 8. – P. 557–566.
43. Losartan reduces oxidative damage to renal DNA and conserves plasma antioxidant capacity in diabetic rats [Електронний ресурс] / M. Lodovici, E. Bigagli, F. Tarantini [et al.] // Exp Biol Med (Maywood). – 2015. – Режим доступу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25710927>.
44. Losartan-antioxidant hybrids: novel molecules for the prevention of hypertension-induced cardiovascular damage / G. García, P. M. Rodríguez, R. Alajarin [et al.] // J Med Chem. – 2009. – V. 52, № 22. – P. 7220–7227.
45. Rutin alleviates diabetic cardiomyopathy in a rat model of type 2 diabetes / Y.-B. Wang, Z.-M. Ge, W.-Q. Kang [et al.] // Experimental And Therapeutic Medicine. – 2015. – № 9. – P. 451–455.

I. М. Ситник, М. В. Хайтович

Застосування антиоксидантів за цукрового діабету I типу

Цукровий діабет (ЦД) I типу – одне з найпоширеніших ендокринних захворювань. У сучасних умовах ЦД I типу вражає дітей, починаючи з раннього віку. Гостроту проблеми визначає також швидкий розвиток ускладнень, які спричинюють інвалідизацію, погіршують якість та скорочують тривалість життя пацієнтів.

Відомо, що гіперглікемія і викликана нею генерація активних форм кисню (АФК вносять значний вклад у розвиток не лише ЦД І типу, але й його ускладнень. Оксидативний стрес активує каскад різних сигнальних шляхів, включаючи поліольний; збільшує утворення кінцевих продуктів посиленого глікозилювання тощо. При цьому активується транскрипційний фактор NF-κB, індукуються або інгібуються відповідні мікроРНК, що зумовлює порушення генної експресії та епігенетичної регуляції, запуск програми апоптозу.

Активно вивчаються фармакологічні властивості різноманітних антиоксидантних сполук природного та синтетичного походження (біофлавоноїдів, ресвератролу, N-ацетилцистеїну, інгібіторів ренін-ангіотензин-альдостеронової системи тощо) як в комплексному лікуванні ЦД І типу, так і для попередження його ускладнень (зокрема, діабетичної кардіоміопатії). Вказується на перспективи комплексного антиоксидантного лікування кардіальної дисфункції. При цьому відмічено зниження активації NF-κB та зменшення апоптозу кардіоміоцитів.

Отже, доцільно розробляти нові стратегії фармакологічної корекції оксидативного стресу для попередження розвитку ускладнень при ЦД І типу.

Ключові слова: цукровий діабет І типу, ускладнення, оксидативний стрес, антиоксиданти

И. Н. Сытник, Н. В. Хайтович

Применение антиоксидантов при сахарном диабете I типа

Сахарный диабет (СД) I типа – одно из самых распространенных эндокринологических заболеваний. В современных условиях СД I типа оказывает пагубное влияние на детей, начиная с раннего возраста. Остроту проблемы определяет также стремительное развитие осложнений, которые вызывают инвалидизацию, ухудшают качество и сокращают продолжительность жизни больных.

Известно, что гипергликемия и вызванная ею генерация активных форм кислорода (АФК), вносят значительный вклад в развитие не только СД I типа, но и его осложнений. Окислительный стресс активизирует каскад различных сигнальных путей, включая полиольный, увеличивает образование конечных продуктов усиленного гликозилирования (AGE) и т. д. При этом активируется транскрипционный фактор NF-κB, индуцируются или ингибируются соответствующие микроРНК, что обуславливает нарушение генной экспрессии и эпигенетической регуляции, запуск программы апоптоза.

Активно изучаются фармакологические свойства различных антиоксидантных соединений природного и синтетического происхождения (биофлавоноиды, ресвератрол, N-ацетилцистеин, ингибиторы ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и т.д.) как в комплексном лечении СД I типа, так и в предупреждении его осложнений (в частности, диабетической кардиомиопатии). Указывается на перспективы комплексного антиоксидантного лечения кардиальной дисфункции. При этом отмечено снижение активации NF-κB и уменьшение апоптоза кардиомиоцитов.

Таким образом, целесообразно разрабатывать новые стратегии фармакологической коррекции окислительного стресса для предупреждения развития осложнений при СД I типа.

Ключевые слова: сахарный диабет I типа, осложнения, окислительный стресс, антиоксиданты

I. Sytnik, M. Khaitovych

The use of antioxidants in type I diabetes mellitus

Type I diabetes mellitus (DM) is one of the widespread endocrinological diseases; in modern conditions type I DM affects children in early years. The acuteness of this problem also determines with dramatic development of complications, causing disability, impairment the quality and reducing life expectancy of patients.

It is commonly known that hyperglycemia induced reactive oxygen species (ROS) generation make a significant contribution to type I DM progression as well as its complications. Oxidative stress activates a wide scope of signaling pathways, including polyol flux, increases formation of advanced glycation end products (AGE) etc. Moreover, transcription factor NF-κB is activated, upregulated or downregulated appropriate microRNAs, causing alteration of gene expression and epigenetic regulation, initiating apoptosis program.

Lately, the pharmacological properties of variable antioxidant compounds of nature and synthetic origin (including bioflavonoids, resveratrol, N-acetylcysteine, inhibitors of renin-angiotensin-aldosterone system etc.) for complex treatment of type 1 DM and its complications (especially diabetic cardiomyopathy) has been actively discussed. The perspectives of complex antioxidant treatment of cardiac dysfunction have been also pointed out. It has been also indicated downregulation of activated NF-κB and decreased cardiomyocytes apoptosis.

So, the search of new strategies for pharmacological correction of oxidative stress should be put into action for prevention the development of diabetic complications.

Key words: type I diabetes mellitus, complications, oxidative stress, antioxidants

Надійшла: 7 серпня 2015 р.

Контактна особа: Ситник Інна Миколаївна, аспірант, кафедра клінічної фармакології та клінічної фармації, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, вул. Шовковична, 39/1, м. Київ, 01601. Тел.: + 38 0 66 215 29 66. Електронна пошта: innasytnik10@gmail.com

С. В. Горбачева, И. Ф. Беленичев,
Л. И. Кучеренко, Н. В. Бухтиярова

Глутатион-зависимые механизмы нейропротективного действия нового метаболитотропного препарата «Ангиолин» в условиях индукции нитрозирующего стресса *in vitro*

Запорожский государственный медицинский университет

Ключевые слова: ангиолин, нейропротекция, тиол-дисульфидная система, глутатион, нитрозирующий стресс

Исследованиями последнего десятилетия раскрыта роль активных форм кислорода и азота в инициации апоптоза и некроза нейронов при ряде нейродеструктивных заболеваний [1]. Известно, что нейродеструкция ишемического генеза сопровождается развитием сложных патобиохимических каскадов в нейроне, а именно интенсификацией процессов свободно-радикального окисления, дисбалансом тиол-дисульфидной системы (ТДС), энергетическим дефицитом. По некоторым данным состояние тиол-дисульфидной системы в условиях ишемии головного мозга является определяющим фактором в развитии митохондриальной дисфункции, и как следствие, в гибели клетки [2].

Кроме того, в настоящее время показана значительная трансмиссерная, антиоксидантная, детоксикационная, антиапоптотическая роль глутатиона – основного интермедиата тиол-дисульфидной системы в физиологических процессах нейрональной клетки [3].

Однако полученные данные не систематизированы, некоторые аспекты противоречивы, что обуславливает актуальность дальнейших исследований системы глутатиона в нервных клетках. Значение глутатиона в регуляции многих защитных функций нейрона в неблагоприятных условиях определяет глутатионовое звено тиол-дисульфид-

ной системы как перспективную мишень для фармакокоррекции при патологии ЦНС. В этом отношении имеют хорошую экспериментальную рекомендацию модуляторы системы глутатиона – селеназа, ацетилцистеин, элтацин, глутатион, α -липоевая кислота [3, 4]. Научные исследования в области изыскания вторичных нейропротекторов с антиоксидантным механизмом действия указывают на перспективность производных 1,2,4-триазолил-5-тиокарбоновых кислот, обладающих метаболитотропным и антиоксидантным действием. Ярким примером является препарат «Тиотриазолин» [4]. Вышеизложенное явилось обоснованием для создания в НПО «Фарматрон» принципиально нового препарата оригинальной структуры – (S)-2,6-диаминогексановой кислоты 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоацетата («Ангиолин»), проявляющего противоишемические, эндотелиопротективные, митопротективные, антиоксидантные свойства [5]. К сожалению, до настоящего времени нет единого представления об интимных молекулярно-биохимических механизмах нейропротективного действия Ангиолина.

Цель исследования – изучение нейропротективного действия Ангиолина по влиянию на сопряженные показатели нитрозирующего стресса и системы глутатиона, а также нейроапоптоза при депривации глутатионового звена тиол-дисульфидной системы нейронов *in vitro*.

Материалы и методы. Исследования проведены в соответствии с Директивой

Европейского Союза 2010/10/63 ЕУ относительно экспериментов на животных. Для исследований *in vitro* нейроны выделяли из коры головного мозга 10-дневных крысят линии Вистар. Для получения нейронов животных декапировали и быстро извлекали мозг. Кору головного мозга отделяли от белого вещества, измельчали и переносили в раствор, содержащий 7,5 % поливинилпирролидона (ПВП), 1 % бычий сывороточный альбумин (БСА) и 10 ммоль/л CaCl_2 . Полученную суспензию фильтровали под незначительным давлением, создаваемым водоструйным насосом, на тefлоновой воронке с двумя нейлоновыми ситами – 258 мкм и 82 мкм и металлическим ситом с диаметром пор 58 мкм. После последовательного пропускания через сита клеточную суспензию наслаивали на градиент, состоящий из 6 мл 1 моль/л и 5 мл 1,75 моль/л сахарозы на 1 % бычьего сывороточном альбумине, и центрифугировали при 60 000 g 30 мин ($t + 10^\circ\text{C}$) в рефрежаторной центрифуге SIGMA 3-30K. В результате центрифугирования получали два слоя и плотный осадок. Верхний слой был представлен остатками миелиновых оболочек, второй слой состоял из глиальных и нейрональных клеток. Осадок был представлен телами нейронов со степенью чистоты 90 %. Второй слой суспендировали в среде (7,5 % ПВП, 5 % фикоλλα, 1 % бычьего сывороточного альбумина) и пропускали через сито 58 мкм, а затем наслаивали на градиент (3 мл 30 % фиколла, 6 мл 1,2 моль/л сахарозы и 5 мл 1,65 моль/л сахарозы) и центрифугировали как указано выше. Полученный в результате осадок, содержащий нейроны с примесью нейроглии и капилляров, суспендировали в 0,25 моль/л сахарозе и фильтровали через сито 58 мкм. Затем наслаивали на градиент (6 мл 1,0 моль/л и 5 мл 1,75 моль/л сахарозы) и центрифугировали как указано выше. Полученный осадок содержит 90 % нейронов. Выделенные нейрональные клетки объединяли и отмывали охлажденным физиологическим раствором ($+ 4^\circ\text{C}$) [6].

Депривацию глутатионового звена тиол-дисульфидной системы осуществ-

ляли путем введения в инкубационную среду 1-хлор-2,4-динитробензола (CDNB) – селективного ингибитора глутатион-S-трансферазы, образующего конъюгаты с глутатионом в цитозольной и митохондриальной фракциях [6]. CDNB вносили в концентрации 80 мкмоль/л с последующей инкубацией нейрональной суспензии 15, 30 и 60 мин при температуре 37°C .

Интенсивность оксидативного стресса оценивали по степени накопления маркера нитрозативного стресса – нитротирозина, который определяли иммуноферментным методом с использованием стандартного тест-набора «Nitrotyrosine ELISA Kit» («HyCult biotechnology», Нидерланды) согласно прилагаемой инструкции.

Состояние тиол-дисульфидной системы изучали по содержанию окисленного и восстановленного глутатиона и активности ферментов – глутатион-S-трансферазы (Г-S-T), глутатионредуктазы (ГР) в суспензии нейронов. Уровень окисленных и восстановленных форм глутатиона определяли флюорометрически по реакции с о-фталевым ангидридом [7]. Определение активности ГР основывалось на измерении скорости окисления NADPH, которая регистрировалась спектрофотометрически при длине волны 340 нм. Активность Г-S-T определяли по скорости образования глутатион-S-конъюгатов между восстановленной формой глутатиона и 1-хлор-2,4-динитробензолом (CDNB) [8]. Количество дегенеративно измененных клеток определяли по окраске препаратов нитритом серебра [9].

Первоначальными исследованиями нами был найден диапазон доз, в котором Ангиолин (НПО «Фарматрон», Украина) проявляет нейропротекторный эффект – 0,1–10,0 мкмоль/л. Для этого Ангиолин вносили в концентрации 0,05; 0,1; 1,0; 5,0 и 10,0 мкмоль/л в инкубационную среду за 30 мин до внесения CDNB. Препараты сравнения – Тиотриазолин («Артериум», Украина) и α -липоевую кислоту («Марбиофарм», Россия) вносили в концентрации 0,1 мкмоль/л.

Все экспериментальные данные представлены в виде среднего арифметиче-

ского (М) и стандартной ошибки репрезентативности среднего арифметического (m). Результаты исследования обработаны с использованием статистического пакета лицензионной программы «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5), а также «Microsoft Excel 2010». Статистическую обработку проводили с применением t-критерия Стьюдента и U-критерия Манна-Уитни. Для всех видов анализа статистически значимыми считали различия с уровнем значимости менее 0,05 (95 %) [10].

Результаты и их обсуждение. Внесение в суспензию нейронов CDNB приводило к депривации глутатионового звена тиол-дисульфидной системы, о чем свидетельствует дефицит восстановленных форм глутатиона при торможении активности ГР и Г-S-T. Это, в свою очередь, вызывает неконтролируемую продукцию активных форм кислорода и азота и развитие нитрозативного стресса, доказательством чего служит отмеченное повышение уровня нитротирозина в нейрональной суспензии (табл. 1).

Проведенные исследования показали, что внесение CDNB в концентрации 80 мкмоль/л приводило к повышению

маркера нитрозативного стресса – нитротирозина более чем в 2,2 раза – на 127,2 %. Кроме того, наблюдалось смещение тиол-дисульфидного равновесия в сторону окисленных тиолов, о чем свидетельствует снижение уровня глутатиона восстановленного (в 6,6 раза), и увеличение в 3 раза его окисленной формы на фоне снижения активности ключевых ферментов тиол-дисульфидной системы – Г-S-T – в 2,7 раза и ГР – в 2,3 раза по отношению к контрольным пробам на 60 мин инкубации (табл. 1).

Важно отметить, что выше описанные патобиохимические изменения приводили к усилению процессов клеточной гибели в суспензии нейронов, о чем свидетельствовало статистически достоверное ($p \leq 0,05$) повышение количества дегенеративно измененных нейронов в тесте с нитритом серебра (табл. 1).

Возможным механизмом запуска клеточной гибели нейронов, инкубированных с CDNB, является, по нашему мнению, нарушение тиол-дисульфидного равновесия и формирование митохондриальной дисфункции.

Было установлено, что дефицит глутатиона приводит к развитию нитрозативного стресса, в результате которого

Таблица 1

Показатели тиол-дисульфидной системы и количество дегенеративно измененных клеток в нейрональной суспензии после добавления CDNB,

$M \pm t$ ($n = 7$)

Показатель	Контрольная суспензия			Суспензия нейронов после инкубации с 80 мкМ CDNB		
	15 мин	30 мин	60 мин	15 мин	30 мин	60 мин
Нитротирозин, нмоль/г белка	3,60 ± 0,16	3,92 ± 0,18	4,01 ± 0,15	4,84 ± 0,47	5,05 ± 0,36	9,11 ± 0,43*
Количество дегенеративно измененных клеток в видимом поле	12,60 ± 0,99	12,90 ± 1,09	13,2 ± 1,06	17,40 ± 1,31	20,80 ± 1,03	60,60 ± 2,98*
Глутатион восстановленный, мкмоль/г белка	3,79 ± 0,11	3,75 ± 0,14	3,31 ± 0,18	3,55 ± 0,16	2,62 ± 0,18	0,50 ± 0,05*
Глутатион окисленный, мкмоль/г белка	0,13 ± 0,02	0,14 ± 0,03	0,17 ± 0,03	0,15 ± 0,02	0,21 ± 0,04	0,51 ± 0,03*
Активность Г-S-T, у. е./мг белка	28,04 ± 0,25	27,51 ± 0,73	25,73 ± 0,26	31,64 ± 0,29	24,20 ± 0,28	9,41 ± 0,18*
Активность ГР, у. е./мг белка	13,12 ± 0,19	12,30 ± 0,23	12,82 ± 0,32	13,0 ± 0,77	12,68 ± 0,19	5,48 ± 0,16*

Примечание. * $p \leq 0,01$ по отношению к контрольной суспензии.

происходит взаимодействие цитотоксических дериватов NO с алифатическими и ароматическими аминами, образуя N-нитроамины, о чем может свидетельствовать повышение содержания нитротирозина. Оксид азота взаимодействует с цистеином с образованием S-нитрозоцистеина и с глутатионом с образованием S-нитроглутатиона [4]. S-нитроглутатион является основной транспортной молекулой переноса NO [3]. Некоторыми исследованиями установлено, что транспорт NO происходит с образованием N_2O_3 , который затем нитрозилирует тиолы, еще более истощая запасы глутатиона и смещая тиол-дисульфидное равновесие [8]. Кроме того, неконтролируемый рост активных метаболитов NO приводит к окислению белков дыхательной цепи митохондрий и инактивации митохондриальной супероксиддисмутазы, что еще более истощает антиоксидантную систему нейрона [4].

С целью фармакокоррекции *in vitro* данных патологических изменений нейрона нами был использован препарат «Ангиолин». Интегральным показателем нейропротективной эффективности изучаемых лекарственных средств является их способность повышать количество выживших клеток в суспензии нейронов с добавлением CDNB.

Из рисунка видно, что наиболее эффективной концентрацией для пре-

парата является 0,1 мкмоль/л. В этой концентрации Ангиолин снижал количество дегенеративно измененных нейронов в 2,8 раза по отношению к контролю. Повышение концентрации не приводило к повышению активности препарата. Для исследования механизмов нейропротективного действия Ангиолина нами была изучена его способность в концентрации 0,1 мкмоль/л влиять на показатели антиоксидантной и тиол-дисульфидной систем в суспензии нейронов при добавлении CDNB.

Биохимическими исследованиями установлено, что введение в инкубационную среду Ангиолина в концентрации 0,1 мкмоль/л приводило к уменьшению выраженности нитрозативного стресса, о чем свидетельствует снижение содержания нитротирозина на 53,2 % (табл. 2), а также к восстановлению тиол-дисульфидного равновесия. В пользу последнего свидетельствует повышение концентрации восстановленного глутатиона (в 6,3 раза), снижение его окисленной формы (в 2 раза), повышение активности ферментов тиол-дисульфидной системы – Г-S-T и ГР на 91,9 % и 87,6 % соответственно (табл. 2).

Важно отметить, что Ангиолин статистически достоверно ($p \leq 0,05$) превышал эффекты α -липоевой кислоты и тиотриазолина относительно уровня нитротирозина, восстановленной

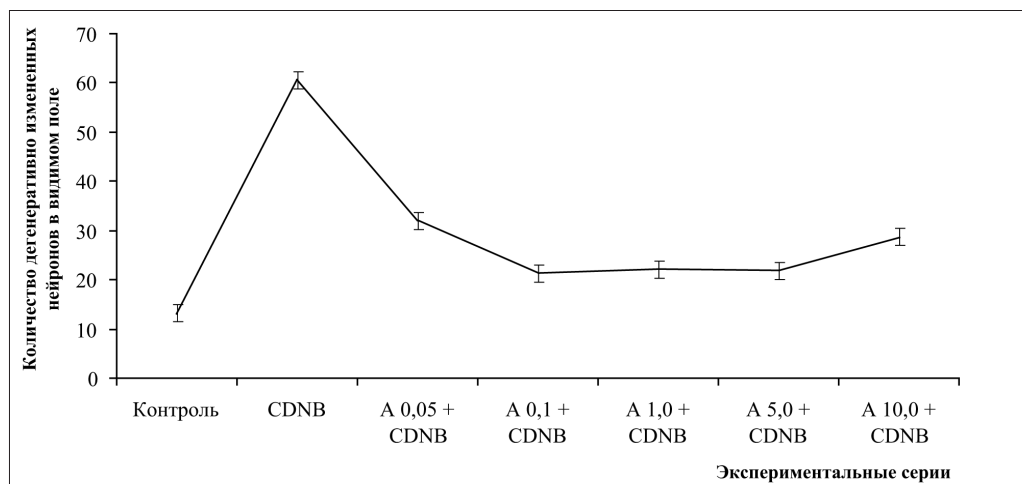


Рисунок. Количество дегенеративно измененных нейронов в нейрональной суспензии при инкубации с Ангиолином и последующим внесением CDNB

Примечание. В каждой экспериментальной серии $n = 7$; $*p \leq 0,05$ по отношению к суспензии с CDNB; А – Ангиолин в указанной дозе, мкмоль/л

Показатели антиоксидантной и тиол-дисульфидной систем в суспензии нейронов, инкубированных с Ангиолином, тиотриазолином и α -липовой кислотой и последующем внесении CDN, $M \pm m$ ($n = 7$)

Показатель	Суспензия нейронов с добавлением CDN (80 мкмоль/л)	Ангиолин (0,1 мкмоль/л) + CDN	α -липовая кислота (0,1 мкмоль/л) + CDN	Тиотриазолин (0,1 мкмоль/л) + CDN
Нитротирозин, у. е./мг белка	9,11 $\pm$ 1,43	4,26 $\pm$ 0,27* ^{&1}	7,22 $\pm$ 0,66	5,84 $\pm$ 0,37*
Глутатион восстановленный, мкмоль/г белка	0,50 $\pm$ 0,15	3,18 $\pm$ 0,27* ^{&1}	1,17 $\pm$ 0,27	2,80 $\pm$ 0,15*
Глутатион окисленный мкмоль/г белка	0,510 $\pm$ 0,089	0,250 $\pm$ 0,037* ^{&}	0,400 $\pm$ 0,075*	0,310 $\pm$ 0,028*
Активность Г-S-T, у. е./мг белка	9,41 $\pm$ 0,88	18,06 $\pm$ 1,18* ^{&}	11,74 $\pm$ 1,73	15,90 $\pm$ 0,92*
Активность ГР, у. е./мг белка	5,48 $\pm$ 1,16	10,28 $\pm$ 0,99* ^{&}	7,25 $\pm$ 1,41	9,11 $\pm$ 0,59*
Количество дегенеративно измененных клеток в видимом поле	60,60 $\pm$ 8,98	21,3 $\pm$ 1,32* ^{&1}	54,20 $\pm$ 6,87	49,40 $\pm$ 2,19* ^{&}

Примечание: * $p \leq 0,05$ по отношению к суспензии с добавлением CDN; [&] $p \leq 0,05$ по отношению к α -липовой кислоте; ¹ $p \leq 0,05$ по отношению к тиотриазолину.

формы глутатиона и количества дегенеративно измененных клеток в нейрональной суспензии (табл. 2).

Таким образом, проведенными экспериментальными исследованиями было установлено, что реализация нейропротективного действия Ангиолина связана с его позитивным влиянием на глутатионовое звено тиол-дисульфидной системы. Мы предполагаем, что выявленный механизм связан не только с антиоксидантными свойствами указанного препарата, обусловленными наличием в его структуре тиольной группы, но и с его влиянием на экспрессию белка теплового шока HSP70, регулирующего синтез глутатиона [11]. Благодаря SH-группе препарат обладает ярко выраженными восстанови-

тельными свойствами и способностью принимать от различных активных форм кислорода электроны, инактивировать свободные радикалы и сохранять уровень эндогенного глутатиона [4, 12].

Выводы

1. Установлено, что реализация нейропротективного эффекта Ангиолина связана с его позитивным влиянием на глутатионовое звено тиол-дисульфидной системы.
2. Полученные результаты раскрывают значение глутатионовой системы нейрона как важной мишени нейропротекции и могут быть теоретическим фундаментом для разработки новых фармакологических подходов к терапии ишемического инсульта.

1. Луцкий М. А. Окислительный стресс в патогенезе инсульта / М. А. Луцкий, Р. В. Тонких, А. П. Анибал // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2007. – Т. 107. – С. 37–42.
2. Mitochondrial glutathione: features, regulation and role in disease / M. Mari, A. Morales, A. Colell, C. García-Ruiz // Biochimica et Biophysica Acta – 2013. – V. 1830. – P. 3317–3328.
3. Калинина Е. В. Роль глутатиона, глутатионтрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов / Е. В. Калинина, Н. Н. Чернов, М. Д. Новичкова // Успехи биол. наук. – 2014. – Т. 54. – С. 299–348.

4. Нейропротекция и нейропластичность / И. Ф. Беленичев, В. И. Черний, Е. А. Нагорна [и др.]. – Киев : Логос, 2015. – 512 с.
5. Патент Российской Федерации № 21370492 СО7Д, А61К 31/41 и Патент Украины № 86668 МПК 200901 А61К 31/4196 № 200705865 Лизиний 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоацетат, проявляющий нейропротективное, ноотропное, кардиопротективное, эндотелиопротективное, противо-ишемическое, антиоксидантное, противовоспалительное противогипоксическое действие и обладающий низкой токсичностью / Мазур И. А., Беленичев И. Ф., Кучеренко Л. И. – Заявлено 04.06.2007. – Опубл. 20.10.2009.
6. Чекман И. С. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов / И. С. Чекман, Ю. И. Губский, И. Ф. Беленичев. – Киев : ГФЦ МОЗ Украины, 2010. – 81 с.
7. Камышников В. С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика / В. С. Камышников. – Минск, 2003. – 345 с.
8. Roger L. Lundblad. Handbook of Biochemistry and Molecular Biology, Fourth Edition/ L. Lundblad Roger, Fiona Macdonald. – CRC Press, 2010. – 1098 p.
9. Прохорова М. И. Современные методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / М. И. Прохорова. – Ленинград : Изд-во Ленинградского университета, 1982. – 272 с.
10. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – Москва : Медиасфера, 2002. – 312 с.
11. Belenichev I. F. Disturbance of HSP70 Chaperone Activity is a possible mechanism of Mitochondrial Dysfunction / I. F. Belenichev, Yu. M. Kolesnik, N. V. Bukhtiyarova // Neurochem. Journal. – 2011. – V. 5, № 4. – P. 251–256.
12. Belenichev I. F. The Thiol-Disulfide Balance and the Nitric Oxide System in the Brain Tissue of Rats Subjected to Experimental Acute Impairment of Cerebral Blood Flow: The Therapeutic Effects of Nootropic Drugs / I. F. Belenichev, S. V. Gorbacheva, N. V. Bukhtiyarova // Neurochemical Journal. – 2014. – V. 8, № 1. – P. 24–27.

С. В. Горбачова, И. Ф. Беленичев, Л. И. Кучеренко, Н. В. Бухтиярова
Глутатион-залежні механізми нейропротективної дії нового метаболітотропного препарату «Ангіолін» за умов індукції нітрозуючого стресу *in vitro*

Внесення до інкубаційної нейрональної суспензії селективного інгібітора глутатион-S-трансферази – хлор-2,4-динітробензолу призводило до депривації глутатионової ланки тиол-дисульфідної системи, про що свідчить накопичення окисленого глутатіону та дефіцит відновленої форми при гальмуванні активності ферментів його метаболізму – глутатионредуктази та глутатион-S-трансферази. Це викликало неконтрольовану продукцію активних форм кисню і розвиток нітрозативного стресу, на що вказує підвищення рівня нітротирозину більше ніж у 2,2 разу в нейрональній суспензії через 60 хв після внесення ХДНБ. Вище описані патобіохімічні зміни призводили до посилення процесів клітинної загибелі в суспензії нейронів, про що свідчило підвищення кількості дегенеративно змінених нейронів у тесті з нітритом срібла. З метою фармакологічної корекції даних патологічних змін був використаний препарат «Ангіолін». Проведеними дослідженнями встановлено, що найефективнішою концентрацією препарату є 0,1 мкмоль/л. Внесення Ангіоліну в нейрональну суспензію в цій концентрації призводило до підвищення кількості клітин, що вижили, та збереження рівня відновленого глутатіону. Більш детальними біохімічними дослідженнями показано, що введення до інкубаційного середовища Ангіоліну (0,1 мкмоль/л) призводило до зменшення вираженості нітрозативного стресу, про що свідчить зниження вмісту нітротирозину, а також відновлення тиол-дисульфідної рівноваги. Ангіолін за більшістю досліджуваних параметрів достовірно перевищував ефекти препаратів порівняння – тіотріазоліну та α -ліпоевої кислоти. Реалізація нейропротективної дії Ангіоліну пов'язана з його позитивним впливом на глутатионову ланку тиол-дисульфідної системи. Препарат сприяє реактивуванню антиоксидантних ферментів і зберігає рівень ендогенного глутатіону. У результаті структура та функції нейрональних клітин залишаються збереженими. Отримані результати розкривають значення глутатионової системи нейрона як важливої мішені нейропротективної терапії при ішемічному інсульті та є експериментальним обґрунтуванням для клінічного застосування модуляторів системи глутатіону, зокрема, препарату «Ангіолін».

Ключові слова: Ангіолін, нейропротекція, тиол-дисульфідна система, глутатион, нітрозуючий стрес

С. В. Горбачева, И. Ф. Беленичев, Л. И. Кучеренко, Н. В. Бухтиярова
Глутатион-зависимые механизмы нейропротективного действия нового метаболитотропного препарата «Ангиолин» в условиях индукции нитрозирующего стресса *in vitro*

Внесение в инкубационную нейрональную суспензию селективного ингибитора глутатион-S-трансферазы – хлор-2,4-динитробензола (CDNB) приводило к депривации глутатионового звена тиол-дисульфидной системы, о чем свидетельствует накопление окисленного глутатиона и дефи-

цит восстановленной формы при торможении активности ферментов его метаболизма – глутатионредуктазы и глутатион-S-трансферазы. Это вызвало неконтролируемую продукцию активных форм кислорода и развитие нитрозативного стресса, на что указывает повышение уровня нитротирозина более чем в 2,2 раза в нейрональной суспензии через 60 мин после внесения CDNB. Выше описанные патобиохимические изменения приводили к усилению процессов клеточной гибели в суспензии нейронов, о чем свидетельствовало увеличение количества дегенеративно измененных нейронов в тесте с нитритом серебра. С целью фармакологической коррекции данных патологических изменений был использован препарат «Ангиолин». Проведенными исследованиями установлено, что наиболее эффективной концентрацией препарата является 0,1 мкмоль/л. Внесение Ангиолина в нейрональную суспензию в этой концентрации приводило к увеличению количества выживших клеток и сохранению уровня восстановленного глутатиона. Более подробными биохимическими исследованиями показано, что введение в инкубационную среду Ангиолина (0,1 мкмоль/л) приводило к уменьшению выраженности нитрозативного стресса, о чем свидетельствует снижение содержания нитротирозина, а также восстановление тиол-дисульфидного равновесия. Ангиолин по большинству исследуемых параметров достоверно превышал эффекты препаратов сравнения – тиотриазолина и α -липоевой кислоты. Установлено, что реализация нейропротективного действия Ангиолина связана с его положительным влиянием на глутатионовое звено тиол-дисульфидной системы. Препарат способствует реактивированию антиоксидантных ферментов и сохраняет уровень эндогенного глутатиона. В результате структура и функции нейрональных клеток остаются сохраненными. Полученные результаты раскрывают значение глутатионовой системы нейрона как важной мишени нейропротективной терапии при ишемическом инсульте и могут быть теоретическим фундаментом для разработки новых фармакологических подходов к терапии с использованием модуляторов системы глутатиона, в частности, препарата «Ангиолин».

Ключевые слова: Ангиолин, нейропротекция, тиол-дисульфидная система, глутатион, нитрозирующий стресс

S. V. Gorbacheva, I. F. Belenichev, L. I. Kucherenko, N. V. Bukhtiyarova
Glutathione-dependent mechanisms of neuroprotective action of new metabolic drug «Angioline» underinduction of nitrosative stress *in vitro*

Introduction of glutathione-S-transferase – chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) selective inhibitor to the incubated neuronal suspension caused deprivation of glutathione link of thiol-disulfide system. Evidence of that is accumulation of oxidized glutathione and deficient of renovated form in case of enzymes inhibition involved in its metabolism – glutathione reductase and glutathione-S-transferase. This evoked uncontrolled reactive oxygen species production and development of nitrosative stress with an increase of nitrotyrosine level by more than 2,2 times in neuronal suspension on 60th min after CDNB introduction. These pathobiochemical changes caused the enhancement of cell death processes in neuronal suspension. That was evidenced by an increase the number of neurons with degenerative changes when testing with silver nitrite.

With the purpose of pharmacological correction of pathological changes the drug «Angioline» was used. It has been established that 0,1 μ M was the most effective drug concentration. The introduction of this Angioline concentration into the neuronal suspension caused an increase the number of survived cell and preservation of reduced glutathione level. More detailed biochemical investigation showed that Angioline administration (0,1 μ M) caused the decrease of nitrosative stress intensity. That is proved by the decrease of nitrotyrosine content and renovation of thiol-disulfide balance. Angioline according to the most of investigated parameters significantly exceeded the effects of referent drugs – thiotriazoline and -lipoic acid. It has been established that realization of Angioline neuroprotective action is connected with it positive influence on glutathione link of thiol-disulfide system. Significant antioxidant activity of the studied drug is due to the presence of thiol group in it's structure, thus it has pronounced reduction properties. The drug is able to promote reactivation of antioxidant enzymes and to maintain the level of endogenous glutathione. As the result the structure and functions of neuronal cells remain preserved.

The data obtained suggest that glutathione system of neurons is an important target for neuroprotective therapy when ischemic stroke arises and this fact may be an experimental ground for clinical application of glutathione system modulators, in particular the drug «Angioline».

Key words: Angioline, neuroprotection, thiol-disulfide system, glutathione, nitrosative stress

Надійшла: 13 липня 2015 р.

Контактна особа: Горбачова Світлана Василівна, кандидат біологічних наук, доцент, кафедра біохімії та лабораторної діагностики, Запорізький державний медичний університет.
Електронна пошта: swg18@yandex.ua

Р. Д. Дейко¹, С. Ю. Штриголь¹, О. О. Колобов², Н. В. Бездітко¹

Нейропротекторні та ноотропні властивості нових циклічних дипептидів

¹Національний фармацевтичний університет, м. Харків²ФДУП «Державний науково-дослідний інститут особливо чистих біопрепаратів ФМБА Росії», м. Санкт-Петербург, Російська Федерація

Ключові слова: гостре порушення мозкового кровообігу, нейропептиди, неврологічний дефіцит, ноотропна дія, антигіпоксична дія

Кількість хворих на «хвороби цивілізації» (атеросклероз, ожиріння, цукровий діабет тощо) невпинно зростає. Така тенденція супроводжується збільшенням числа пацієнтів з гострими порушеннями мозкового кровообігу (ГПМК), ускладненням їхнього перебігу в зв'язку з коморбідністю з іншими захворюваннями, збільшенням числа летальних наслідків, втрати працездатності та десоціалізації [1].

Гіпоксія та ішемія за ГПМК є провідними ланками ураження головного мозку (ГМ), а порушення мнестичних та когнітивних функцій – найрозповсюдженішою формою розладів вищої нервової діяльності. Таким чином, гіпоксія та ішемія ГМ є ключовими мішенями нейропротекторної терапії, а корекція мнестичної та когнітивної дисфункції – одним із першочергових завдань у реабілітації та ресоціалізації хворих на ГПМК [2].

До перспективних засобів, здатних зменшувати летальність за ГПМК та коригувати його наслідки, належать нейропептиди [3]. Зокрема, у РФ створено такий препарат циклічної структури ноопепт, активним метаболітом якого є циклопролілгліцин (ЦПГ). Відомим нейропротектором є також семакс, який має лінійну будову та призначений для інтраназального введення. Дизайн новостворених екзогенних олігопептидів полягає в циклізації ділянок ендогенних регуляторних пептидів, уведенні до їхнього складу неприродних D-форм амінокислот, відсутніх у відомих препаратах, замісників до вільних карбоксиль-

ної чи аміногрупи тощо. Така модифікація молекул підвищує їхню фармакологічну активність та забезпечує оптимальні фармакокінетичні властивості [4].

З огляду на патогенез цереброваскулярних захворювань важливо, щоб фармакодинаміка новостворених засобів поєднувала антиішемічний та антигіпоксичний компоненти та сприяла покращанню когнітивних і мнестичних функцій за ГПМК.

Об'єктом цього дослідження стала низка циклічних дипептидів (дикетопіперазинів), до складу яких увійшли тирозин, аргінін, глутамін, пролін, аланін, гліцин, фенілаланін, аспарагін [5]. Структуру вказаних нейропептидів та їхні лабораторні шифри наведено в таблиці 1.

Мета дослідження – з'ясувати вплив нових циклічних дипептидів на перебіг гіпоксичного та ішемічного ураження ГМ, а також дослідити їхні антиамнестичні властивості.

Матеріали та методи. Досліджували циклічні дипептиди (табл. 1) отримано за стандартною технологією твердофазного пептидного синтезу в ФДУП «Державний науково-дослідний інститут особливо чистих біопрепаратів ФМБА Росії» (м. Санкт-Петербург)

Таблиця 1

Структура та лабораторні шифри досліджуваних циклічних дипептидів

Лабораторний шифр	Хімічна структура
DKP-5	cyclo(Pro-Gln)
DKP-9	cyclo(Pro-Ala)
DKP-40	cyclo(Pro-Gly)
DKP-41	cyclo(Phe-Gln)
DKP-42	cyclo(Phe-Asn)
KRP(c)	cyclo(Tyr-Arg)

під керівництвом доктора біологічних наук О. О. Колобова (Договір про науково-технічну співпрацю від 18 вересня 2013 р. № 11). Дипептид DKP-40 представляє собою екзогенний ЦПГ, а олігопептиди DKP-5 та DKP-9 – його гомологи, у яких Gly замінено на Gln або Ala відповідно. Фармакологічний препарат KRP(c), на відміну від інших, є синтетичним похідним ендогенного нейропептиду неокіоторфіну [6].

Експеримент виконано на 144 білих рандомбредних мишах обох статей та 63 білих нелінійних щурах-самцях. Під час проведення експерименту тварин утримували в стандартних умовах віварію ЦНДЛ НФаУ за природнього світлового режиму «день-ніч» з вільним доступом до води та їжі [7]. Дотримувалися «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001 р.), гармонізованих з «Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, використовуваних для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.) [8].

Антигіпоксичні властивості олігопептидів досліджували на 144 білих мишах на моделі нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією (НГ) [9]. Через 0,5 год після введення досліджуваних нейропептидів та препарату порівняння пірацетаму мишей по одній вміщували до скляного резервуару об'ємом 200 см³, герметично загвинчували кришку та реєстрували час життя у хвилинах до останнього агонального дихального руху. Нейропептиди у вигляді свіжоприготованих водних розчинів вводили внутрішньоочеревинно (в/о) у дозах 10 мг/кг, 1 мг/кг або 0,1 мг/кг. Тваринам групи контролю в/о вводили 0,9 % розчин NaCl.

Для вивчення нейропротекторної активності нейропептидів DKP-40, DKP-41, DKP-42 та KRP(c) на 63 щурах моделювали ГПМК шляхом незворотної білатеральної каротидної оклюзії (БКО), наркоз – пропофол (диприван, «Fresenius Kabi», Австрія, 60 мг/кг в/о) [9, 10]. Нейропептиди вводили в/о у дозах, у яких вони виявляють максимальні антигіпоксичні властивості. У другій серії експерименту циклічні дипептиди вводили інтраназально (і/н) у дозі 0,02 мг/кг,

що за даними літератури [11] знаходиться в діапазоні доз максимальної терапевтичної активності засобів з пептидергічним механізмом дії. Для і/н введення використовували інсуліновий шприц з затупленою короткою голкою. Водні розчини вводили повільно в кожний носовий хід тварини в об'ємі 0,02 мл, візуально контролюючи всмоктування препарату. Препарат порівняння – гептапептид семакс – потужний нейропротекторний засіб, що використовується для невідкладної медичної допомоги за інсульту та як ноотропний препарат, вводили також і/н у дозі 0,02 мг/кг. Тваринам групи контрольної патології (КП) вводили 0,9 % розчин NaCl.

Протягом 96 год після відтворення БКО реєстрували летальність – інтегральний показник нейропротекторної активності, а також неврологічний дефіцит (НД), виражений у балах за шкалою McGraw Stroke Index [12].

Вплив циклічних дипептидів на мнестичні функції оцінювали в 134 мишей за тестом умовного рефлексу пасивного уникнення (УРПУ) на моделі антероградної скополамінової амнезії (скополамін 1,5 мг/кг, в/о) [9]. Через 30 хв після введення скополаміну мишей навчали умовній реакції пасивного уникнення (УРПУ), а через 24 год перевіряли її закріплення. Нейропептиди вводили в тих дозах, що й у тесті НГ. За препарат порівняння обрано класичний ноотроп пірацетам (Пірацетам, ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця»), який вводили в/о у дозах 200 або 400 мг/кг. Використання пірацетаму як референс-препарату зумовлене також наявністю пептидергічної ланки механізму реалізації його ноотропної та нейропротекторної дії [13].

Критерієм ноотропної дії фармакологічних препаратів обрано їхню антиамнестичну активність (АА), яку розраховували за формулою Баттлера [14]:

$$AA = \frac{\Delta LPI_{\Pi} - \Delta LPI_C}{\Delta LPI_I - \Delta LPI_C} \cdot 100 \%,$$

де

АА – антиамнестична активність, %;

ΔLPI_{Π} – різниця латентного періоду входу до неосвітленої камери під час

навчання та під час відтворення УРПУ для групи нейропептиду;

$\Delta\text{ЛП}_c$ – різниця латентного періоду входу до неосвітленої камери під час навчання та під час відтворення УРПУ для групи контролю амнезії (КА);

$\Delta\text{ЛП}_i$ – різниця латентного періоду входу до неосвітленої камери під час навчання та під час відтворення УРПУ для групи інтактного контролю (КІ).

Результати наведено у формі $M \pm m$. Статистичну обробку виконано з використанням t-критерію Стьюдента за нормального розподілу вибірових даних або Т-критерію Манна-Уїтні – за його відсутності. При урахуванні в альтернативній формі (наявність/відсутність ознаки) використано кутове перетворення Фішера ϕ . Статистично значущими вважали результати за $p \leq 0,05$ [15].

Результати та їх обговорення. За результатами тесту НГ (табл. 2) з'ясовано антигіпоксичні властивості досліджуваних циклічних дипептидів. Усі вони збільшують час життя мишей у гермокамері, перевершуючи пірацетам. Максимальним вказаний показник є для циклічного похідного неокіоторфіну – КРР(с), залежність ефекту від дози якого є прямою U-подібною. За антигіпоксичною активністю КРР(с) у дозі 100 мкг/кг удвічі перевершує пірацетам у дозі 400 мг/кг ($p < 0,05$).

Вплив досліджуваних циклічних дипептидів на перебіг модельного ГПМК у щурів є неоднозначним (табл. 3). З одного боку, за в/о введення вони не виявляють нейропротекторного ефекту, підвищуючи виживаність щурів тільки протягом перших 12 год постоклюзій-

Таблиця 2

Антигіпоксичні властивості циклічних дипептидів за нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією в мишей

Група, препарат	Доза, мг/кг	N	Час життя, хв	Відсоток змін до групи контролю
Контроль	-	29	22,90 ± 0,93	
Пірацетам	200	6	25,50 ± 2,21	+ 11,6
	400	7	27,10 ± 1,21*	+ 18,2
DKP-5	10	7	20,30 ± 1,34^	- 11,2
	1	5	24,10 ± 1,36	+ 5,5
	0,1	5	22,30 ± 1,43^	- 2,5
DKP-9	10	7	27,50 ± 0,79*	+ 20,1
	1	7	27,00 ± 2,32*	+ 18,1
	0,1	7	26,80 ± 2,24*	+ 17,1
DKP-40	10	5	25,60 ± 2,67	+ 11,7
	1	5	25,20 ± 1,74	+ 10,1
	0,1	5	28,90 ± 3,22*	+ 26,5
DKP-41	10	7	29,60 ± 1,21	+ 29,1
	1	5	24,90 ± 2,79	+ 8,9
	0,1	5	22,90 ± 1,73	- 0,01
DKP-42	10	6	25,70 ± 2,09	+ 12,5
	1	5	24,20 ± 1,36	+ 5,6
	0,1	5	24,50 ± 2,48	+ 7,2
KRP(с)	10	6	28,90 ± 1,71*	+ 26,1
	1	5	23,70 ± 1,60	+ 3,6
	0,1	5	32,80 ± 4,12*^	+ 43,4

Примітка. Статистично значущі відмінності ($p \leq 0,05$): *з групою контролю,

^з групою пірацетаму 400 мг/кг.

ного періоду. З іншого – при інтраназальному введенні захисна активність досліджуваних нейропептидів зростає й відповідає антигіпоксичним властивостям, виявленим в тесті НГ, протягом усього періоду спостереження (96 год). Відтак, дипептиди DKP-40 та DKP-41 за інтраназального введення удвічі підвищують виживаність щурів, а KRP(c) – утричі ($p < 0,05$), перевершуючи ефективність препарату порівняння семаксу.

Така тенденція може зумовлюватися двома факторами. По-перше, антигіпоксичний та нейропротекторний ефекти можуть реалізовуватися за посередництва різних механізмів, які, однак, не виключають можливості доповнювати одне одного в усуненні каскаду патологічних змін, що мають місце за інсульту. Як показано в роботі [15], подібна ситуація спостерігається й у інших нейропептидних засобів, що за сукупністю захисних властивостей при ГПМК виявляють потужну нейропротекторну дію. По-друге, очевидним є фармакокінетичний аспект реалізації захисного ефекту. Відомо, що за і/н введення більша частина фармакологічного препарату всмоктується в кров і деградує за участю амінопептидаз. Однак менша його частина поширюється периневральним шляхом нюхового тракту, досягає ГМ і поширюється далі окремішньо від церебрального кровообігу [17]. Ця менша частина й є фармакологічно активною фракцією

введеного і/н нейропротектора, що забезпечує стабільний захисний ефект протягом гострої фази церебральної ішемії. Перевагу інтраназального способу введення на моделі експериментального інфаркту міокарда (антиішемічна активність) показано й для лінійного нейропептиду NP-4 (Lys-Lys-Arg-Arg) у роботі [18].

Як показано на рисунках 1 та 2, досліджувані дипептиди зменшують НД, що виникає на тлі модельного ГПМК. Однак за в/о введення така їхня активність не є статистично значущою, а низький бал НД, що спостерігали наприкінці досліду, зумовлений малою кількістю тварин, що вижили. На противагу цьому за і/н введення в дозі 0,02 мг/кг усі досліджувані циклічні дипептиди статистично значущо redukують НД, перевершуючи семакс. Це відповідає зростанню інтегрального показника нейропротекторної активності за ГПМК – виживаності, що ще раз підтверджує обґрунтованість і/н застосування нейропептидів.

Таким чином, виявлений нейропротекторний ефект нових циклічних дипептидів за своєю виразністю нагадує один з перших дипептидних нейропротекторів ноопепт [19], який на відміну від зазначених оригінальних пептидів уводиться не інтраназально, а всередину.

Результати тесту УРПУ наведено в таблиці 4. Найвищу АА виявляє цикліч-

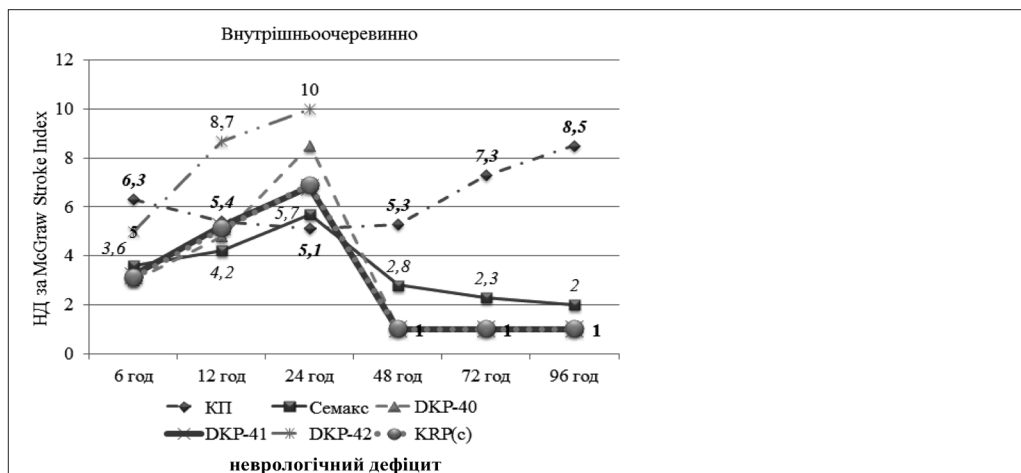
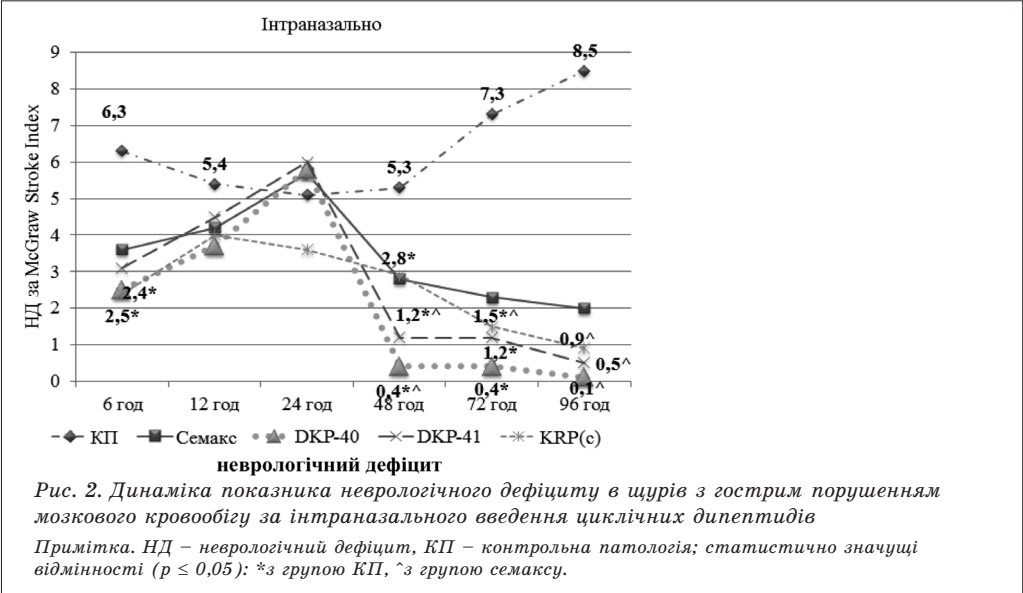


Рис. 1. Динаміка показника неврологічного дефіциту в щурів з гострим порушенням мозкового кровообігу за внутрішньоочеревинного введення циклічних дипептидів у максимальній антигіпоксичній дозі



ний дипептид DKP-41 у мінімальній з досліджуваних дозі – 0,1 мг/кг. Показник АА дипептиду сягає 61,5 % ($p < 0,05$). За цим показником DKP-41 перевершує дію пірацетаму в дозі 400 мг/кг, який виявляє АА також на достатньо високому рівні – 60 % ($p > 0,05$). Виражений ноотропний ефект чинять також дипептиди DKP-42 та DKP-9 за різних режимів дозування. АА цих дипептидів є вищою за аналогічний показник референс-препарату пірацетаму в дозі 200 мг/кг.

Антиамнестична дія циклічних дипептидів є дозозалежною. Її вираже-

ність корелює зі збільшенням дози в DKP-9 та зі зменшенням – у DKP-5. Обидва дипептиди є похідними ЦПГ, проте сам екзогенний ЦПГ (DKP-40) максимальний ноотропний ефект чинить у проміжній дозі – 1 мг/кг, маючи, таким чином, обернену U-подібну залежність «доза-ефект». Подібна ситуація спостерігається й для інших дипептидів. DKP-42 і KRP(c) мають пряму U-подібну залежність «доза-ефект», DKP-41 – обернену.

Такі особливості досліджуваних пептидів вказують на притаманний пептид-ергічним засобам модулюючий вплив

Таблиця 3

Вживаність щурів з моделлю гострого порушення мозкового кровообігу за впливу циклічних дипептидів

Група, препарат	Доза, мг/кг; (шлях введення)	n	Вживаність, абс./(%)					
			6 год	12 год	24 год	48 год	72 год	96 год
КП	-	10	6/(60)	4/(40)	3/(30)	3/(30)	3/(30)	2/(20)
Семакс	0,02; (і/н)	6	6/(100)*	6/(100)*	4/(66,7)	4/(66,7)	4/(66,7)	4/(66,7)*
DKP-40	0,1; (в/о)	6	6/(100)*	6/(100)*	1/(16,7)^	1/(16,7)^	1/(16,7)^	1/(16,7)^
	0,02; (і/н)	7	7/(100)*	7/(100)*	3/(42,9)	3/(42,9)	3/(42,9)	3/(42,9)
DKP-41	10; (в/о)	6	6/(100)*	6/(100)*	2/(33,3)	2/(33,3)	2/(33,3)	2/(33,3)
	0,02; (і/н)	7	7/(100)*	7/(100)*	3/(42,9)	3/(42,9)	3/(42,9)	3/(42,9)
DKP-42	1; (в/о)	7	7/(100)*	3/(42,9)^	0	0	0	0
KRP(c)	0,1; (в/о)	7	7/(100)*	7/(100)*	3/(42,9)	3/(42,9)	3/(42,9)	3/(42,9)
	0,02; (і/н)	7	7/(100)*	7/(100)*	6/(85,7)*	5/(71,4)*	5/(71,4)*	5/(71,4)*

Примітка. КП – контрольна патологія, в/о – внутрішньоочеревинно, і/н – інтраназально; статистично значущі відмінності ($p \leq 0,05$): *з групою контролю, ^з групою семаксу.

Антиамнестичні властивості циклічних дипептидів у тесті умовного рефлексу пасивного уникнення на моделі антероградної скополамінової амнезії

Група, препарат	Доза, мг/кг	n	Показники умовної реакції пасивного уникнення			
			ЛП ₁ , с	ЛП ₂ , с	Антиамнестична активність, %	Відсоток тварин з закріпленою навичкою
Інтактний контроль (KI)	-	5	14,40 ± 3,26	156,80 ± 22,20 ^ψ	-	80,0
Контроль амнезії (KA)	-	9	23,20 ± 8,60	38,40 ± 16,70 ^{#*}	-	0*
Пірацетам	200	6	15,80 ± 5,50	89,00 ± 30,00	45,9	16,7*
	400	6	33,20 ± 4,83*	124,40 ± 26,00	60,0	50,0 ^ψ
DKP-5	10	7	15,70 ± 3,75 [#]	77,30 ± 24,30*	36,8	14,3*
	1	5	19,80 ± 7,47	22,60 ± 11,10 ^{**}	-9,2	0* [#]
	0,1	5	16,60 ± 4,98 [#]	30,80 ± 7,85* [#]	-0,3	0* [#]
DKP-9	10	7	14,90 ± 5,60 [#]	85,90 ± 22,90	44,1	28,6 * ^ψ
	1	7	30,90 ± 7,71	111,70 ± 24,10 ^ψ	51,8	57,1 ^ψ
	0,1	7	45,50 ± 17,30	130,10 ± 22,60 ^ψ	54,8	57,1 ^ψ
DKP-40	10	5	18,50 ± 4,00 [#]	31,00 ± 10,60 ^{**}	-1,6	0* [#]
	1	5	26,00 ± 6,30	89,40 ± 28,90	38,2	20,0
	0,1	5	28,20 ± 8,80	63,40 ± 31,40*	16,1	20,0
DKP-41	10	8	28,80 ± 5,08	72,50 ± 17,00*	22,8	12,5
	1	6	35,50 ± 4,03*	128,70 ± 24,03 ^ψ	61,5	50,0 ^ψ
	0,1	5	20,60 ± 13,80	64,00 ± 34,00*	22,5	20,0
DKP-42	10	7	27,30 ± 5,47	108,90 ± 20,70 ^ψ	52,4	42,3 ^ψ
	1	6	15,70 ± 7,10	74,70 ± 22,90*	34,7	0* [#]
	0,1	6	17,00 ± 3,07	105,00 ± 20,10 ^ψ	57,4	33,3* ^ψ
KRP(c)	10	6	20,30 ± 6,61	64,30 ± 28,10*	23,0	16,7
	1	5	28,40 ± 8,43	18,60 ± 5,40* [#]	-19,1	0 [#]
	0,1	6	11,00 ± 4,20	41,20 ± 20,00 ^{**}	12,2	0 [#]

Примітка. n – кількість тварин у групі; ЛП₁ – латентний період входу тварини до неосвітленої камери під час навчання; ЛП₂ – латентний період входу тварини до неосвітленої камери під час перевірки закріплення рефлексу; статистично значущі відмінності ($p \leq 0,05$): *з групою KI, ^ψз групою KA, [#]з групою пірацетаму 400 мг/кг.

на процеси нейропластичності в ГМ. Т. О. Вороніна показала, що зворотна U-подібна крива залежності ефекту від дози, зниження активності з підвищенням дози – характерні особливості механізму дії багатьох пептидергічних засобів [20]. Зокрема, ЦПГ підвищує афінітет холінореактивних структур мозку до ендогенних лігандів, забезпечуючи покращання процесів вводу інформації, її відтворення та формування пам'ятного сліду [21]. Таким чином, механізм ноотропної дії досліджуваних циклічних дипептидів може полягати в прямій або опосередкованій центральній холіноміметичній активності. Необхідно підкреслити, що, беручи до уваги здатність досліджуваних циклічних дипептидів зменшувати НД за церебральної ішемії, ця обставина дозволяє вважати їх потенціальними засобами для використання в клінічній практиці за усіма показаннями ноотропних препаратів, у тому числі при розладах когнітивних функцій органічного походження.

Таким чином, встановлено антигіпоксичний, нейропротекторний та ноотропний ефекти нових циклічних нейропептидів. З'ясувалося, що їхня активність є дозозалежною, з притаманною пептидергічним засобам кореляцією «доза-ефект». За сукупністю отриманих результатів, найперспективнішими з досліджених дипептидів є

циклізоване похідне неокіоторфіну KRP(c) та нейропептид DKP-41. Оптимальним режимом застосування нейропептидів є i/n введення в дозах 0,02–0,10 мг/кг.

Висновки

1. Досліджені циклічні дипептиди чинять антигіпоксичну дію на моделі нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією. Виявлено захисні властивості за гострого порушення мозкового кровообігу, що виявляються зменшенням летальності та редукцією неврологічного дефіциту в гострому періоді церебральної ішемії.
2. Застосування досліджуваних нейропептидів є ефективним за сколопомінової амнезії. Вони виявляють виражену ноотропну активність. Припускається їхній модулювальний вплив на центральну холінергічну трансмісію.
3. Дипептиди DKP-40, DKP-41, DKP-42 та KRP(c) характеризуються U-подібною залежністю ефекту від дози. Оптимальним шляхом їхнього застосування є інтраназальне введення.
4. За сукупністю ефектів найперспективнішими є дипептиди KRP(c) та DKP-41, які переважають за активністю препарати порівняння пірацетам та семакс. Доцільним є подальше вивчення їхньої нейротропної активності.

1. Зозуля І. С. Епідеміологія цереброваскулярних захворювань в Україні / І. С. Зозуля, А. І. Зозуля // Український медичний часопис. – 2011. – № 5 (85). – С. 38–41.
2. Острая церебральная недостаточность / Черний В. И., Ельский В. Н., Городник Г. А. [и др.] ; под ред. В. И. Черния. – [4-е изд., испр. и доп.]. – Донецк : Издатель Заславский А. Ю., 2010. – 434 с.
3. Нейропротекция: модели, механизмы, терапия ; под ред. М. Бэра; [пер. с англ. под ред. В. П. Зыкова, П. Р. Камчатнова]. – Москва : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. – 429 с.
4. Синтез и фармакологическая активность аналогов эндогенного нейропептида циклопролил-глицина / К. Н. Колясникова, М. В. Вичужанин, М. А. Константинопольский [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2012. – Т. 46, № 2. – С. 31–37.
5. Патент № 2517209 С2 Россия, МПК А61К 38/12 (2006.1) А61Р 25/28 (2006.1) Средство, обладающее ноотропным воздействием на организм / Колобов А. А., Никифорович Г. В., Прусаков А. Н., Шпень В. М.; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной активностью «Научно-производственная фирма «ВЕРТА» (RU). – Заявка 2012124942/15, 07.06.2012; заявл. 07.06.2012; опубл. 27.05.2014. – Бюл. № 15, 2014. – 7 с.
6. Изучение защитного действия новых синтетических нейропептидов при остром отравлении этанолом [Электронный ресурс] / В. Л. Рейнюк, А. А., Ховпачев, В. А. Мясников [и др.] // Биомедицинский журнал Medline.ru. – 2015. – Т. 16, Токсикология. – Режим доступа: http://www.medline.ru/public/pdf/16_036.pdf.
7. Deacon R. M. Housing, husbandry and handling of rodents for behavioral experiments / R. M. Deacon // Nature Protocols. – 2006. – В. 1. – № 2. – Р. 936–946.
8. European convention for the protection of vertebrate animals used for the experimental and other scientific purposes [Text]: European Treaty Series No. 123: Text amended according to the provi-

sions of the Protocol (ETS No. 170), as of its entry into force, on 2 December 2005. Strasbourg, 1986. – 48 p.

9. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств ; под ред. докт. мед. наук А. Н. Миронова. – Часть первая. – Москва : Гриф и К, 2012. – 944 с.
10. Штрыголь С. Ю. Модуляция фармакологических эффектов при различных солевых режимах / С. Ю. Штрыголь. – Харьков : Ависта-ВЛТ, 2007. – 360 с.
11. Долотов О. В. Механизмы действия пептида Семакс на центральную нервную систему: роль нейротрофинов : автореф. дисс. на соискание ученой степени канд. биол. наук : специальность 03.00.13 / Долотов Олег Валентинович. – Москва, 2004. – 127 с.
12. McGraw C. P. Effect of methylprednisolone on experimental cerebral infarction in the Mongolian gerbil / C. P. McGraw, D. F. Fleming Jr., J. H. Spruil // Stroke. – 1974. – V. 5. – P. 444–446.
13. Сходство цикло-пролилглицина с пираретамом по антигипоксическому и нейропротекторному эффектам / К. Н. Колясникова, Т. А. Гудашева, Г. А. Назарова [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2012. – № 9. – С. 3–6.
14. 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 // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2008. – Т. 146, № 1. – С. 65–68.
15. Гланц С. Медико-биологическая статистика ; под ред. Н. Е. Бузикашвили и Д. В. Самойлова; [пер. с англ. д. физ.-мат. н. Ю. А. Данилова]. – Москва : Практика, 1998. – 459 с.
16. Церебропротекторные свойства оригинальных пептидов, гомологичных первичной последовательности АКТГ15-18 (экспериментальное исследование) / Р. Д. Дейко, С. Ю. Штрыголь, А. А. Колобов, А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2015. – № 1, Т. 14. – С. 27–30.
17. Привалова А. М. Интраназальное введение – перспективный способ доставки лекарственных веществ в мозг / А. М. Привалова, Н. В. Гуляева, Т. В. Букреева // Нейрохимия. – 2012. – Т. 29, № 2. – С. 93–105.
18. Патент № 2356573 С2 Россия, МПК А61К 38/07 (2006.01) А61Р 9/10 (2006.1) Средство, обладающее антиишемической и антигипоксической активностью / Наволоцкая Е. В., Колобов А. А., Кампе-Немм Е. А., Липкин В. М.; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью «Научно-производственная фирма «ВЕРТА» (RU). – Заявка 2007138371/15, 17.10.2007; заявл. 17.10.2007; опубл. 27.05.2009. – Бюл. № 15, 2009. – 12 с.
19. Сравнительная активность ноопепта и пираретама на модели интрацеребральной посттравматической гематомы / К. С. Ус [и др.] // Психофармакол. биол. наркол. – 2006. – Т. 6, № 1–2. – С. 1156–1163.
20. Воронина Т. А. Роль синаптической передачи в процессах памяти, нейродегенерации и механизме действия нейротропных препаратов / Т. А. Воронина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – Т. 66, № 2. – С. 10–14.
21. Луценко В. К. Циклопролилглицин и пролинсодержащий препарат ноопепт вызывают два типа ответов мембранного потенциала синаптонейросом / В. К. Луценко, М. Н. Вуколова, Т. А. Гудашева // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2003. – № 6. – С. 656–659.

Р. Д. Дейко, С. Ю. Штрыголь, О. О. Колобов, Н. В. Бездітко **Нейропротекторні та ноотропні властивості нових циклічних дипептидів**

Досліджували антигіпоксичні, нейропротекторні та ноотропні властивості нових циклічних дипептидів (дикетопіперазинів) – DKP-5 (cyclo(Pro-Gln), DKP-9 (cyclo(Pro-Ala), DKP-40 (cyclo(Pro-Gly), DKP-41 (cyclo(Phe-Gln), DKP-42 (cyclo(Phe-Asn) та KRP(c) (cyclo(Tyr-Arg). Використано тест нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією (НГ), незворотної білатеральної каротидної оклюзії та умовного рефлексу пасивного уникнення (УРПУ) на моделі скополамінової амнезії. Дози досліджуваних дипептидів – 0,10; 1,00 та 10,00 мг/кг (внутрішньоочеревинне введення), а також 0,02 мг/кг (інтраназальне введення).

За результатами тесту НГ встановлено антигіпоксичні властивості досліджуваних нейропептидів. Найактивнішими виявилися циклічні дипептиди DKP-41 та KRP(c). Вони збільшують тривалість життя мишей у гермокамері на 29,1 і 43,4 % відповідно ($p < 0,05$), перевершуючи за активністю пірацетам.

Найвиразніший нейропротекторний ефект чинять також дипептиди DKP-41 та KRP(c). Вони підвищують виживаність щурів у гострому періоді церебральної ішемії (до 43 та 71 % відповідно) і ефективно редукують неврологічний дефіцит. Ефективна доза – 0,02 мг/кг за інтраназального введення.

Усі досліджені дипептиди чинять антиамнестичний ефект у тесті УРПУ. Подекуди активність нейропептидів перевершує активність препарату порівняння пірацетаму (DKP-41). Для всіх пептидів, окрім DKP-5 та DKP-9, залежність ефекту від дози є прямою або оберненою U-подібною.

За результатами дослідження зроблено висновок про доцільність подальшого дослідження циклічних дипептидів як антигіпоксичних, протиішемічних та ноотропних засобів. Найбільшу увагу привертають дипептиди DKP-41 та KRP(c).

Ключові слова: гостре порушення мозкового кровообігу, нейропептиди, неврологічний дефіцит, ноотропна дія, антигіпоксична дія

Р. Д. Дейко, С. Ю. Штрыголь, А. А. Колобов, Н. В. Бездетко

Нейропротекторные и ноотропные свойства новых циклических дипептидов

Исследовали антигипоксические, нейропротекторные и ноотропные свойства новых циклических дипептидов (дикетопиперазинов) – DKP-5 (cyclo(Pro-Gln), DKP-9 (cyclo(Pro-Ala), DKP-40 (cyclo(Pro-Gly), DKP-41 (cyclo(Phe-Gln), DKP-42 (cyclo(Phe-Asn) и KRP(c) (cyclo(Tyr-Arg). Использовали тест нормобарической гипоксической гипоксии с гиперкапнией (НГ), необратимой билатеральной каротидной окклюзии и условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) на модели скополаминовой амнезии. Дозы исследуемых дипептидов – 0,10; 1,00 и 10,00 мг/кг (внутрибрюшинное введение), а также 0,02 мг/кг (интраназальное введение).

По результатам теста НГ установлены антигипоксические свойства исследуемых дипептидов. Наиболее активными оказались циклические дипептиды DKP-41 и KRP(c). Они увеличивают время жизни мышей в гермокамере на 29,1 и 43,4 % соответственно ($p < 0,05$), превосходя по активности пирацетам.

Наиболее выраженный нейропротекторный эффект проявляют также дипептиды DKP-41 и KRP(c). Они повышают выживаемость крыс в остром периоде церебральной ишемии (на 43 и 71 % соответственно) и эффективно редуцируют неврологический дефицит. Эффективная доза – 0,02 мг/кг при интраназальном введении.

Все исследованные дипептиды проявляют антиамнестическое действие в тесте УРПИ. Активность некоторых (DKP-41) превышает аналогичный показатель препарата сравнения пирацетама. Все пептиды, кроме DKP-5 и DKP-9, имеют прямую или обратную U-образную зависимость эффекта от дозы.

По результатам исследования сделан вывод о перспективности дальнейшего исследования дипептидов в качестве антигипоксантных, антиишемических и ноотропных средств. Наибольшего внимания заслуживают дипептиды DKP-41 и KRP(c).

Ключевые слова: острое нарушение мозгового кровообращения, нейропептиды, неврологический дефицит, ноотропное действие, антигипоксическое действие

R. D. Deiko, S. Yu. Shtrygol', A. A. Kolobov, N. V. Bezditko

The neuroprotective and nootropic properties of new cyclic dipeptides

The antihypoxic, neuroprotective and nootropic properties of new cyclic dipeptides (diketopiperazines) – DKP-5 (cyclo(Pro-Gln), DKP-9 (cyclo(Pro-Ala), DKP-40 (cyclo(Pro-Gly), DKP-41 (cyclo(Phe-Gln), DKP-42 (cyclo(Phe-Asn) and KRP(c) (cyclo(Tyr-Arg) have been investigated. For this aim were used the tests of normobaric hypoxic hypoxia with hypercapnia (NH), irreversible bilateral carotid occlusion and conditioned reflex of passive avoidance (CRPA) on the model of scopolamine-induced amnesia. The administered doses were 0,10; 1,00 and 10,00 mg/kg (intraperitoneal administration) and also 0,02 mg/kg (intranasal (i/n) administration).

According to the results of investigation an antihypoxic activity of the studied dipeptides have been established. The most active are dipeptides DKP-41 and KRP(c). They increase the time of mice life in a hermetic chamber on 29,1 and 43,4 per cent respectively ($p < 0,05$) and exceed the activity of the comparison drug piracetam.

The most pronounced neuroprotective effect show also the dipeptides DKP-41 and KRP(c). They increase survival of rats in the acute period of cerebral ischemia (on 43 and 71 % respectively) and effectively reduce the neurological deficit. The most effectively dose is 0,02 mg/kg (i/n administration).

All investigated peptides show antiamnesic effect in conditions of CRPA test. The activity of DKP-41 exceeds piracetam action. All peptides, except DKP-5 and DKP-9, have direct or converse U-like dose-response.

In according to results of investigation have been concluded about prospects of further investigation of new dipeptides.

Key words: acute cerebral ischemic stroke, neuropeptides, neurological deficit, nootropic action, antihypoxic action

Надійшла: 22 вересня 2015 р.

Контактна особа: Дейко Роман Данилович, аспірант, магістр фармації, кафедра фармакології та лікарської токсикології, Національний фармацевтичний університет, буд. 12, вул. Мельникова, м. Харків, 61002. Тел.: +38 0 57 706 30 69. Електронна пошта: roman.deyko@mail.ru

О. О. Нефьодов

Нейротропні ефекти антидепресантів за умов експериментального еквівалента розсіяного склерозу

ДЗ «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України»

Ключові слова: біль, депресія, м'язовий тонус, розсіяний склероз, антидепресанти

Проблема розсіяного склерозу (РС) залишається актуальною в сучасній неврології. Одним з клінічних проявів хронічного запального та демієлінізуючого процесу при цьому захворюванні є порушення вищих мозкових функцій, яким до недавнього часу приділялася недостатня увага при аналізі неврологічного статусу та оцінці ефективності лікування.

Натепер більше половини хворих уже на початкових стадіях захворювання пред'являють скарги на стійкі порушення нейропсихологічних функцій (біль, інсомнія) і практично всі в тій чи іншій мірі мають психологічні проблеми (зменшення м'язової сили, дезадаптація та депресія) [1, 2]. При цьому депресія є досить частим супутником РС. До того ж більше половини пацієнтів з РС у різні періоди хвороби відчують настільки серйозні симптоми депресії, що потребують медикаментозного лікування [3].

Хворі на РС зазвичай отримують коморбідне лікування, яке включає базову гормональну терапію (зокрема, метилпреднізолоном) та корекцію супутніх проблем – нейрогенного болювого синдрому та депресії, яка потребує використання певного арсеналу лікарських засобів [4]. Сьогодні на фармацевтичному ринку України представлений ряд антидепресантів, серед яких вибір ефективного та безпечного препарату за умов РС з урахуванням базової фармакотерапії є актуальною задачею.

Мета дослідження – порівняльний аналіз впливу антидепресантів (амітриптилін, флуоксетин, триттико та

пароксетин) на формування ноцицептивної відповіді, силу м'язового тонусу та антидепресивну дію в щурів на фоні експериментального алергічного енцефаломієліту (ЕАЕ).

Матеріали та методи. Дослідження проведено в рамках науково-дослідної роботи кафедри фармакології і клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» «Системна фармакологія неопіоїдних анальгетиків та засобів медикаментозного захисту мозку в умовах патологічних станів» (ДР № 0114U000935). Експеримент проведено на 56 білих безпородних щурах масою 180–230 г, яких утримували за стандартних умов віварію ДЗ «ДМА МОЗ України» [5]. Методом випадкової вибірки щурів було розподілено на 7 груп ($n = 8$): I – інтактні тварини (пасивний контроль), II – активний контроль (ЕАЕ); III – базовий контроль (ЕАЕ + метилпреднізолон (М) у дозі 3,4 мг/кг) в/о (Метилпреднізолон-Фс, Фарма Старт, Україна); IV – ЕАЕ + М + амітриптилін 10 мг/кг в/ш (Амітриптиліну гідрохлорид-ЗН, Здоров'я народу, Україна); V – ЕАЕ + М + флуоксетин 25 мг/кг в/ш (Флуксен, Київ-медпрепарат, Україна); VI – ЕАЕ + М + триттико 40 мг/кг в/ш (Триттико, Анжеліні Франческо, Італія) та VII – ЕАЕ + М + пароксетин 8 мг/кг в/ш (Пароксин, Фарма Старт, Україна).

Для відтворення ЕАЕ використано метод введення енцефалітогенної емульсії внутрішньошкірно в подушечки пальців, у ділянки грудини чи спинки тварин, а також в основу хвоста щурів [6].

Оцінку антиноцицептивної активності антидепресантів проводили за методом електричного подразнення кореня хвоста щурів [7]. Оцінку болювої чут-

ливості здійснювали за реакцією вокалізації (центральный компонент формування ноцицептивної відповіді) у вихідному стані та на 90 хв після одноразового перорального введення досліджуваних антидепресантів. Також визначали стан м'язового тону на фоні введення зазначених засобів за умов моделюваної патології [8]. Аналіз антидепресантної активності проводили з використанням тест-моделі Порсолта (тест примусового плавання) після оцінки м'язового тону [9].

Усі отримані дані оброблено загально прийнятими в медико-біологічних дослідженнях методами статистичного аналізу з використанням стандартних пакетів комп'ютерних програм. Математична обробка включала розрахунки середніх арифметичних значень (M) та їх похибок ($\pm m$). Встановлення достовірності міжгрупових відмінностей за значеннями показника порога больового реагування проводили за допомогою параметричного t -критерію Стьюдента, критерію рангових сум Вілкоксона (Wilcoxon Rank-Sum test), критерію Манна-Уїтні та методу однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Відмінності вважали статистично достовірними при рівні $p \leq 0,05$. Перед застосуванням параметричних критеріїв проводили перевірку гіпотези про нормальний закон розподілу випадкових величин [10].

Результати та їх обговорення. Першим етапом дослідження було формування ЕАЕ: пік змін у тварин форму-

вався на 7 добу дослідження; протягом наступних 5 днів щури отримували метилпреднізолон (М) у дозі 3,4 мг/кг як базову патогенетичну терапію. За даних умов реєстрували показники ноцицептивної відповіді на поступово зростаюче електроподразнення кореня хвоста щурів у вихідному стані (5-денне введення М) та на 90 хв після введення антидепресанту.

Встановлено, що у вихідному стані за умов сформованого ЕАЕ та базової терапії метилпреднізолоном реакція на електричне подразнення хвоста у щурів усіх груп реєструвалася на рівні від $(1,35 \pm 0,12)$ (група VI) та $(1,48 \pm 0,10)$ (група V). За даних умов внутрішньо-шлунково одноразово вводили антидепресивні засоби тваринам по групах, як вказано вище.

Результати дослідження надано на рисунку 1. Показано, що анальгетичний потенціал досліджуваних засобів був достатньо високим порівняно з показниками вихідного стану. Реєстрацію реакції вокалізації проводили на 90 хв досліді після введення антидепресантів. Так, максимальну знеболюючу активність спостерігали на фоні введення флуоксетину та триттико, що відповідало збільшенню анальгетичної активності в 2,7 ($p \leq 0,05$) та 3,1 ($p \leq 0,05$) рази порівняно з показниками вихідного стану. При цьому на фоні введення амітриптиліну знеболюючий потенціал на 90 хв складав 166,2 % ($p \leq 0,05$) порівняно з показниками вихідного стану. Також зареєстровано помірну

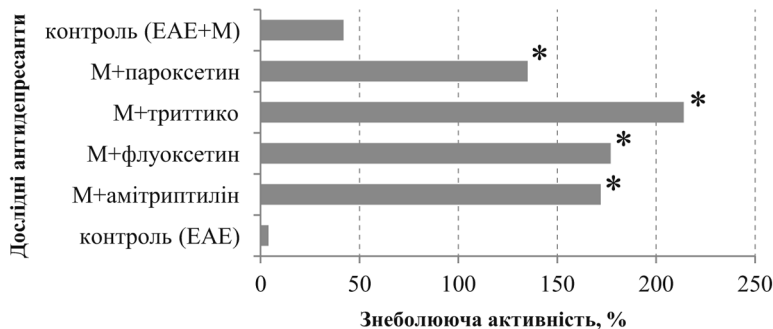


Рис. 1. Антиноцицептивний потенціал антидепресантів у щурів за умов експериментального алергічного енцефаліту та застосування метилпреднізолону й антидепресантів

Примітка. * $p \leq 0,05$ відносно показників вихідного стану.

М'язовий тонус у щурів за умов експериментального алергічного енцефаліту, застосування метилпреднізолону та антидепресантів, $M \pm m$

Дослідна група	Час утримування тварин на стрижні, що обертається, с		
	Вихідний стан	12 доба	17 доба
Експериментальний алергічний енцефаломієліт (активний контроль)	12,00 $\pm$ 2,20	4,50* $\pm$ 1,40	0,60* $\pm$ 0,70
Експериментальний алергічний енцефаломієліт + метилпреднізолон (базовий контроль)	9,50 $\pm$ 1,25	1,87* $\pm$ 0,65	1,77* $\pm$ 0,23
Експериментальний алергічний енцефаломієліт + метилпреднізолон + амітриптилін	10,60 $\pm$ 1,50	3,40* $\pm$ 0,80	2,20* $\pm$ 0,70
Експериментальний алергічний енцефаломієліт + метилпреднізолон + флуоксетин	13,62 $\pm$ 1,71	2,87* $\pm$ 0,93	5,12 $\pm$ 1,65
Експериментальний алергічний енцефаломієліт + метилпреднізолон + триттико	10,87 $\pm$ 1,40	2,75* $\pm$ 0,56	4,62 $\pm$ 1,37
Експериментальний алергічний енцефаломієліт + метилпреднізолон + пароксетин	11,50 $\pm$ 2,25	2,87* $\pm$ 0,90	5,00 $\pm$ 0,75

Примітка. * $p \leq 0,05$ відносно показників вихідного стану.

знеболюючи дію в групі базового контролю (III) на фоні 5-денного введення М (+ 39,2 %) відносно показників вихідного стану ($p \geq 0,05$).

За умов ЕАЕ у тварин реєстрували м'язовий тонус у вихідному стані, а також на 12 та 17 добу формування процесів демієлінізації. У вихідному стані час, протягом якого щури «зависали» на спеціальному стрижні (показник м'язової сили), становив від (9,50 $\pm$ 1,25) с (група III) до (13,62 $\pm$ 1,71) (група V). При цьому вже на 12 добу розвитку демієлінізації спостерігали зменшення м'язового тонусу в середньому в 1,5–2,5 разу для всіх досліджуваних груп (таблиця).

Встановлено, що на фоні 5-денного введення метилпреднізолону одноразове введення амітриптиліну не викликало змін сили м'язів: так, тварини були спроможні утримуватися на стрижні, що обертається, лише протягом (2,2 $\pm$ 0,7) с.

Показано, що більш виражена динаміка щодо зміцнення м'язового тонусу була зареєстрована на фоні введення флуоксетину та пароксетину: час, протягом якого щури висіли на стрижні,

збільшувався на 78,4 % ($p \leq 0,05$) та 74,21 % ($p \leq 0,05$) порівняно з показниками на 12 добу експерименту.

Також спостерігали посилення м'язового тонусу після застосування флуоксетину, триттико та пароксетину порівняно з показниками групи базового контролю (ЕАЕ + М) на 12 добу експерименту: + 189,3 % ($p \leq 0,05$), + 161,01 % ($p \leq 0,05$) та + 182,5 % ($p \leq 0,05$) відповідно.

Аналіз антидепресивної дії дослідних засобів за допомогою тесту Порсолта дозволив встановити, що в групі активного контролю (ЕАЕ) час іммобілізації (завмирання тварин у воді за примусового плавання) був найвищим: (209,4 $\pm$ 11,9) с (рис. 2), що відповідало високому рівню тривожності та занепокоєння. При використанні антидепресантів час іммобілізації зменшувався для групи амітриптиліну на 27,75 % ($p \leq 0,05$), для флуоксетину на 33,43 % ($p \leq 0,05$), для триттико на 48,05 % ($p \leq 0,05$) та для пароксетину на 46,7 % ($p \leq 0,05$).

При порівнянні часу іммобілізації на фоні використання антидепресантів з

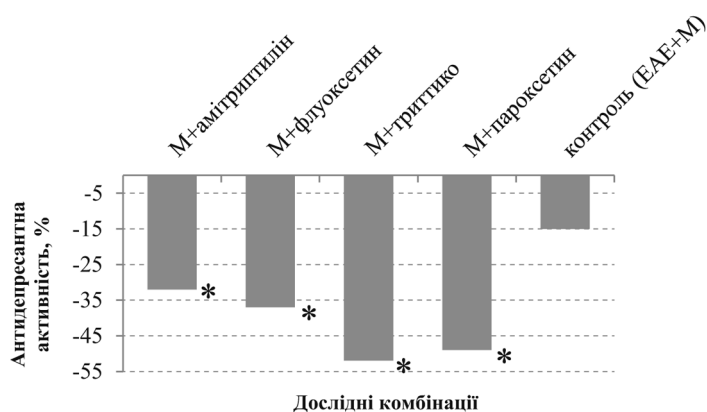


Рис. 2. Зміни часу імобілізації в щурів з експериментальним алергічним енцефалітом на тлі фармакотерапії метилпреднізолоном та введення антидепресантів

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

показниками базового контролю (ЕАЕ + метилпреднізолон) показано, що для груп триттико та пароксетину він був нижчий у 1,7 ($p \leq 0,05$) та у 1,6 разу ($p \leq 0,05$) відповідно.

Отже, досліджені антидепресанти проявили достатній рівень протитризовної та антидепресивної дії в щурів з модельованим експериментальним розсіяним склерозом на тлі фармакотерапії метилпреднізолоном.

Висновки

1. У тварин з моделлю РС (на фоні застосування метилпреднізолону) максимальну знеболюючу активність спостерігали за умов введення флуоксетину та триттико, що відповідає збільшенню анальгетичного потенціалу в 2,7 ($p \leq 0,05$) та 3,1 разу ($p \leq$

0,05) порівняно з показниками вихідного стану.

2. За умов сформованого експериментального еквівалента розсіяного склерозу реєструється достовірне посилення м'язового тону на фоні введення флуоксетину (на 78,4 %) та пароксетину (на 74,21 %) порівняно з показниками групи тварин активного контролю (патологія без лікування).
3. За умов моделювання патологічного стану антидепресивну активність у різному ступені проявляють усі досліджені засоби. Найперспективнішими за знеболюючою, антидепресивною активністю та здатністю посилювати м'язовий тонус за умов ЕАЕ з урахуванням базової гормональної терапії метилпреднізолоном є триттико та пароксетин.

1. Гусев Е. И. Рассеянный склероз / Е. И. Гусев, Т. Л. Демина, А. Н. Бойко. – Москва : Нефть-газ, 1997. – С. 190–230.
2. Ackerman K. D. Immunologic response to acute psychological stress in MS patients and controls / K. D. Ackerman, M. Martino, R. Heyman // J. Neuroimmunol. – 1996. – V. 68. – P. 85–94.
3. Strober L. B. Depression in multiple sclerosis: The utility of common self-report instruments and development of a disease-specific measure / L. B. Strober, P. A. Arnett // J. Clin Exp Neuropsychol. – 2015. – V. 37 (7). – P. 722–732.
4. Сергеев В. В. Психические расстройства у больных с демиелинизирующими заболеваниями нервной системы / В. В. Сергеев, З. А. Скударнова // Неврозоподобные состояния: сб. научн. трудов. – Смоленск, 1988. – С. 43–46.
5. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожемякін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайретдинова. – Київ : ВД «Авіцена», 2002. – 155 с.
6. Нефьодов О. О. Моделювання та оцінка перебігу експериментального алергічного енцефаломієліту / О. О. Нефьодов, В. Й. Мамчур, Ю. В. Харченко // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Вип. 4, Т. 2 (114). – С. 205–208.
7. Brune K. Mode of action peripheral analgesic / K. Brune, K. Lanz // Arzneimittel – Forsch. – 1984. – V.34, № 9a. – P. 1060–1065.
8. Калуев А. В. Стресс, тревожность и поведение. Актуальные проблемы моделирования тревожного поведения у животных / А. В. Калуев. – Киев, 1998. – 95 с.

9. Разработка методики оценки физической выносливости мелких лабораторных животных для изучения адаптогенной активности некоторых лекарственных препаратов / Каркищенко В. Н., Капанадзе Г. В., Деньгина С. Е., Станкова Н. В. // Биомедицина. – 2011. – № 1. – С. 72–74.
10. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – Киев : «Морион», 2001. – 408 с.

О. О. Нефьодов

Нейротропні ефекти антидепресантів за умов експериментального еквівалента розсіяного склерозу

Розсіяний склероз є найпоширенішим демієлінізуючим захворюванням, яке вражає переважно осіб молодого працездатного віку (16–45 років) і швидко призводить до інвалідизації. Когнітивні й емоційно-афективні порушення в більшості хворих проявляються погіршенням найважливіших психічних функцій (уваги, пам'яті). При цьому понад половина хворих уже на початкових стадіях захворювання пред'являють скарги на стійкі порушення нейропсихологічних функцій (біль, інсомнія) і практично всі мають психологічні проблеми (зменшення м'язової сили, дезадаптація та депресія).

Мета дослідження – порівняльний аналіз впливу антидепресантів (амітриптиліну, флуоксетину, триттико та пароксетину) на формування ноцицептивної відповіді, силу м'язового тону та оцінка їхньої антидепресивної активності в щурів на фоні моделювання експериментального алергічного енцефаломієліту (ЕАЕ).

Максимальну знеболюючу активність спостерігали на фоні введення флуоксетину та триттико, що відповідало збільшенню анальгетичного потенціалу в 2,7 ($p \leq 0,05$) та 3,1 разу ($p \leq 0,05$) відповідно порівняно з показниками вихідного стану. При цьому на фоні введення амітриптиліну знеболюючий потенціал на піку активності складав 166,2 % ($p \leq 0,05$) порівняно з показниками вихідного стану.

У тварин усіх експериментальних груп на 12 добу формування демієлінізації спостерігали зменшення м'язового тону в середньому в 1,5–2,5 разу. Показано, що більш виражена динаміка щодо зміцнення м'язового тону була зареєстрована на фоні введення флуоксетину та пароксетину: збільшення часу, протягом якого щури утримувалися на стрижні, що обертається, складало відповідно 78,40 ($p \leq 0,05$) та 74,21 % ($p \leq 0,05$) порівняно з показниками 12 доби експерименту.

У групі ЕАЕ (активного контролю) час іммобілізації (завмирання тварин у воді при примусовому плаванні) був найвищий: ($209,4 \pm 11,9$) с, що відповідало високому рівню тривожності та занепокоєння. При використанні антидепресантів час іммобілізації зменшувався для групи амітриптиліну на 27,75 % ($p \leq 0,05$), для флуоксетину на 33,43 % ($p \leq 0,05$), для триттико на 48,05 % ($p \leq 0,05$) та для пароксетину на 46,70 % ($p \leq 0,05$).

Таким чином, найперспективнішими за знеболюючою та антидепресивною дією, а також за здатністю збільшувати м'язовий тонус у тварин з експериментальним еквівалентом розсіяного склерозу з урахуванням базової гормональної терапії метилпреднізолоном є триттико та пароксетин.

Ключові слова: біль, депресія, м'язовий тонус, розсіяний склероз, антидепресанти

А. А. Нефедов

Нейротропные эффекты антидепрессантов в условиях экспериментального эквивалента рассеянного склероза

Рассеянный склероз является наиболее распространенным демиелинизирующим заболеванием, которое поражает преимущественно лиц молодого трудоспособного возраста (16–45 лет) и быстро приводит к инвалидизации. Когнитивные и эмоционально-аффективные нарушения у большинства больных проявляются ухудшением важнейших психических функций (внимания, памяти). В то же время более половины больных уже на начальных стадиях заболевания предьявляют жалобы на стойкие нарушения нейропсихологических функций (боль, инсомния) и практически все в той или иной степени имеют психологические проблемы (уменьшение мышечной силы, дезадаптация и депрессия).

Цель исследования – сравнительный анализ влияния антидепрессантов (амитриптилина, флуоксетина, триттико и пароксетина) на формирование ноцицептивного ответа, мышечный тонус и оценка их антидепрессивного действия у крыс на фоне экспериментального аллергического энцефаломиелимита (ЭАЭ).

Максимальную обезболивающую активность наблюдали на фоне введения флуоксетина и триттико, что соответствовало увеличению анальгетической активности в 2,7 ($p \leq 0,05$) и 3,1 раза ($p \leq 0,05$) по сравнению с показателями исходного состояния. При этом на фоне введения амитриптилина обезболивающий потенциал на пике активности (90 мин) составлял 166,2 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с показателями исходного состояния.

К 12 суткам формирования демиелинизации наблюдалось уменьшение мышечного тонуса в среднем в 1,5–2,5 раза у животных всех исследуемых групп. Показано более выраженное увеличение мышечного тонуса на фоне введения флуоксетина и пароксетина: увеличение времени, в течение которого крысы удерживались на вращающемся стержне, составило 78,40 ($p \leq 0,05$) и 74,21 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с показателями 12 суток эксперимента.

В группе активного контроля время иммобилизации (замирание животных в воде при принудительном плавании) было высоким: $(209,4 \pm 11,9)$ с, что соответствует высокому уровню тревожности и беспокойства. При использовании антидепрессантов время иммобилизации уменьшалось для группы амитриптилина на 27,75 % ($p \leq 0,05$), для флуоксетина на 33,43 % ($p \leq 0,05$), для триттико на 48,05 % ($p \leq 0,05$) и для пароксетина на 46,70 % ($p \leq 0,05$).

Таким образом, наиболее перспективными по обезболивающему и антидепрессивному действию, а также по способности увеличивать мышечный тонус у животных с экспериментальным эквивалентом рассеянного склероза с учетом базовой гормональной терапии метилпреднизолоном являются триттико и пароксетин.

Ключевые слова: боль, депрессия, мышечный тонус, рассеянный склероз, антидепрессанты

O. O. Nefedov

Neurotropic effects of antidepressants in condition of the experimental equivalent of multiple sclerosis

Multiple sclerosis is the most common demyelinating disease that affects mainly working age young people (16–45 years) and quickly leads to disability. Cognitive and emotional-affective disorders, in the most patients manifested as slowdown and the uniformity of the most important mental functions (attention, memory). At the same time, more than half of the patients on the early stages of the disease complain of persistent violations of neuropsychological functions (pain, insomnia) and almost everyone have psychological problems (decrease in muscle strength, exclusion and depression).

The aim of the work was comparative analysis of the effects of antidepressants administration (amitriptyline, fluoxetine, paroxetine and trytiko) on the formation of nociceptive response, muscle tone and strength of antidepressant effect in rats under experimental allergic encephalomyelitis (EAE).

It was established that the analgesic potential of the investigated drugs was higher as compared to those at the initial state. Registration of vocalization reaction was conducted for 90 min after antidepressants administration. Thus, the maximum analgesic activity was observed after administration of fluoxetine and trytiko, which corresponded to an increase analgesic activity by 2,7 ($r \leq 0,05$) and 3,1 ($r \leq 0,05$) times compared to those of the initial state. Analgesic potential of amitriptyline at 90 min after administration (the peak activity was 166,2 % ($r \leq 0,05$)) as compared to the initial state. Also registered a moderate analgesic effect of passive control group (II) against the background of 5-day introduction M (+ 39,2 % ($r \geq 0,05$)) relative to that of the initial state, but the data are not credible and had character trends.

In the animals with simulated pathology EAE were recorded changes in muscle tone in the initial state, and the 12th and 17th day of the process of demyelination development. It has been shown that at 12th day of pathology formation decreased muscle tone average of 1,5–2,5 times for all investigated groups. It has been shown more pronounced dynamics to strengthen muscle tone at 17th day after fluoxetine and paroxetine administration: an increase in time during which the rat hung on rods was 78,40 % ($r \leq 0,05$) and 74,21 % ($r \leq 0,05$) compared with those at 12th day of the experiment.

When assessing the antidepressant action of drugs in the Porsolt test we determined that in animals of active control group (EAE) immobilization time (fading animals in the water at the forced swimming) was the highest: $(209,4 \pm 11,9)$ s, which corresponds to a high level of anxiety and concern. When using antidepressants immobilization time decreased in amitriptyline group to 27,75 % ($r \leq 0,05$), fluoxetine – to 33,43 % ($r \leq 0,05$), trytiko – to 48,05 % ($r \leq 0,05$) and paroxetine – to 46,70 % ($r \leq 0,05$).

Thus, trytiko and paroxetine are the most promising drugs on the analgesic and antidepressant effects, as well as on the ability to increase muscle tone in animals with experimental equivalent of multiple sclerosis, taking into account the basic hormonal therapy with methylprednisolone.

Key words: pain, depression, muscle tone, multiple sclerosis, antidepressants

Надійшла: 9 вересня 2015 р.

Контактна особа: Нефедов Олександр Олександрович, доцент, кафедра фармакології і клінічної фармакології, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», буд. 9, вул. Дзержинського, м. Дніпропетровськ, 49044. Тел.: + 38 0 93 779 32 79. Електронна пошта: nefedov2406@gmail.com

Ю. Г. Самелюк, І. Ф. Беленічев, А. В. Абрамов, Н. В. Бухтіярова,
С. А. Моргунцова, С. В. Павлов, А. Г. Каплаушенко

Дослідження нейропротекторної активності пропіл 2-(5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1Н-1,2,4- тріазол-3-ілтіо)ацетімідату гідрохлориду

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: 1,2,4-тріазол, ацетімідати, нейропротекторна активність

Останніми роками відзначається ріст поширеності судинних захворювань, у тому числі гострих порушень мозкового кровообігу. Ішемічне ураження головного мозку супроводжується важкими неврологічними розладами, такими як порушення когнітивних, моторних, вербальних та інших функцій ЦНС [1–4]. Щорічно в світі переносять інсульт близько 6 млн осіб. Спостерігається збільшення поширеності інсульту в осіб працездатного віку – до 65 років. Згідно з міжнародними епідеміологічним дослідженням (World Development Report), у світі від інсульту щорічно вмирає 4,7 млн осіб. У більшості країн інсульт посідає 2–3 місце в структурі загальної смертності населення, в Україні – друге, поступаючись лише кардіоваскулярній патології. Інсульт посідає перше місце як причина стійкої втрати працездатності. Серед усіх видів інсультів переважають ішемічні ураження мозку [5].

При ішемічному ураженні мозку в результаті зменшення мозкового кровотоку відбувається порушення функції дихального ланцюга мітохондрій та енергетичного обміну, глутаматна «ексайтотоксичність», порушення іонного гомеостазу клітини з підвищенням внутрішньоклітинного вмісту іонів кальцію, лактат-ацидозом, активацією внутрішньоклітинних ферментів, підвищенням синтезу NO, розвитком оксидативного стресу, експресією генів, аноксичною деполяризацією мембран і смертю клітини [1–7].

Тому пошук засобів фармакологічної корекції цих порушень, а також пре-

паратів, що знижують ступінь нейродегенерації при ішемії мозку, є актуальним завданням сучасної фармакології.

Нині активно проводиться пошук нових церебропротекторів серед речовин, що впливають на глутамат- і ГАМК-ергічні системи, антагоністів кальцію та оксиду азоту, антиоксидантів, нейропептидів, інгібіторів експресії прозапальних цитокінів і антагоністів IL-1 β - рецепторів, нейротрофічних факторів [1, 2, 4–11].

Дослідниками протягом останніх років встановлено, що за умов ішемії головного мозку АФК за допомогою активації редокс-чутливих каскадів синтезу факторів ядерної транскрипції білка посилюють експресію прозапальних цитокінів, беруть участь у формуванні локального запального осередку в головному мозку, тим самим посилюючи явища набряку й набухання головного мозку, ініціюють явища апоптозу та некрозу [1, 6, 7, 10]. Таким чином, доцільним є включення до комплексної терапії мозкових інсультів препаратів, що переривають вільно-радикальний каскад, ініціювання запальних реакцій, мають протективну дію відносно ендотеліоцитів мікроциркуляторного русла.

Сьогодні в клінічну практику впроваджено антиоксиданти нейропротектори – тіотриазолін, мексидол, емоксипін, троллокс, мелатонін, селеназа, препарати глутатіону [1, 6].

Мета дослідження – вивчити нейропротективну дію нової сполуки, похідного 1,2,4-тріазол-3-тіону, а саме: пропіл 2-(5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1Н-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетімідату гідрохлориду порівняно з базовим нейропротектором і ноотропом – пірацетамом.

Ю. Г. Самелюк, І. Ф. Беленічев, А. В. Абрамов, Н. В. Бухтіярова,
С. А. Моргунцова, С. В. Павлов, А. Г. Каплаушенко

Дослідження нейропротекторної активності пропіл 2-(5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1Н-1,2,4- тріазол-3-ілтіо)ацетімідату гідрохлориду

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: 1,2,4-тріазол, ацетімідати, нейропротекторна активність

Останніми роками відзначається ріст поширеності судинних захворювань, у тому числі гострих порушень мозкового кровообігу. Ішемічне ураження головного мозку супроводжується важкими неврологічними розладами, такими як порушення когнітивних, моторних, вербальних та інших функцій ЦНС [1–4]. Щорічно в світі переносять інсульт близько 6 млн осіб. Спостерігається збільшення поширеності інсульту в осіб працездатного віку – до 65 років. Згідно з міжнародними епідеміологічним дослідженням (World Development Report), у світі від інсульту щорічно вмирає 4,7 млн осіб. У більшості країн інсульт посідає 2–3 місце в структурі загальної смертності населення, в Україні – друге, поступаючись лише кардіоваскулярній патології. Інсульт посідає перше місце як причина стійкої втрати працездатності. Серед усіх видів інсультів переважають ішемічні ураження мозку [5].

При ішемічному ураженні мозку в результаті зменшення мозкового кровотоку відбувається порушення функції дихального ланцюга мітохондрій та енергетичного обміну, глутаматна «ексайтотоксичність», порушення іонного гомеостазу клітини з підвищенням внутрішньоклітинного вмісту іонів кальцію, лактат-ацидозом, активацією внутрішньоклітинних ферментів, підвищенням синтезу NO, розвитком оксидативного стресу, експресією генів, аноксичною деполяризацією мембран і смертю клітини [1–7].

Тому пошук засобів фармакологічної корекції цих порушень, а також пре-

паратів, що знижують ступінь нейродегенерації при ішемії мозку, є актуальним завданням сучасної фармакології.

Нині активно проводиться пошук нових церебропротекторів серед речовин, що впливають на глутамат- і ГАМК-ергічні системи, антагоністів кальцію та оксиду азоту, антиоксидантів, нейропептидів, інгібіторів експресії прозапальних цитокінів і антагоністів IL-1 β - рецепторів, нейротрофічних факторів [1, 2, 4–11].

Дослідниками протягом останніх років встановлено, що за умов ішемії головного мозку АФК за допомогою активації редокс-чутливих каскадів синтезу факторів ядерної транскрипції білка посилюють експресію прозапальних цитокінів, беруть участь у формуванні локального запального осередку в головному мозку, тим самим посилюючи явища набряку й набухання головного мозку, ініціюють явища апоптозу та некрозу [1, 6, 7, 10]. Таким чином, доцільним є включення до комплексної терапії мозкових інсультів препаратів, що переривають вільно-радикальний каскад, ініціювання запальних реакцій, мають протективну дію відносно ендотеліоцитів мікроциркуляторного русла.

Сьогодні в клінічну практику впроваджено антиоксиданти нейропротектори – тіотриазолін, мексидол, емоксипін, троллокс, мелатонін, селеназа, препарати глутатіону [1, 6].

Мета дослідження – вивчити нейропротективну дію нової сполуки, похідного 1,2,4-тріазол-3-тіону, а саме: пропіл 2-(5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1Н-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетімідату гідрохлориду порівняно з базовим нейропротектором і ноотропом – пірацетамом.

Матеріали та методи. Експериментальну частину виконано на білих щурах лінії Вістар обох статей масою 180–230 г. Усі тварини, що отримані з розплідника ПП «Біомодельсервіс» (м. Київ), перебували на стандартному раціоні харчування віварію, за природної зміни дня та ночі. Усі експериментальні процедури та оперативні втручання здійснювали відповідно до «Положення про використання тварин в біомедичних дослідженнях».

Досліди проводили на щурах з моделлю гострого порушення мозкового кровообігу, викликаного двосторонньою перев'язкою загальних сонних артерій, під етамінал-натрієвим наркозом (40 мг/кг), з використанням хірургічного доступу шляхом виділення сонних артерій і одномоментного накладання на них шовкової лігатури [12, 13]. Для вивчення дії досліджуваної сполуки окремим групам (по 20 тварин у кожній групі) тварин вводили (пропіл 2-(5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1Н-1,2,4-тріазол-3-ілтію) ацетімідату гідрохлорид внутрішньошлунково в дозі 50 мг/кг, пірацетам (препарат порівняння) – 500 мг/кг внутрішньошлунково за допомогою металевого зонда на 1 % крохмального слизу протягом усього терміну спостереження (1 раз на 1 добу протягом 4 діб).

Для оцінки тяжкості ішемічного ушкодження головного мозку та ефективності фармакокорекції проводили біохімічні дослідження на 4 добу експерименту. Для цього через 1 год після останнього введення препаратів щурів декапітували під легким ефірним наркозом та вилучали головний мозок, швидко видаляли кров, відділяли його від мозкової оболонки та досліджувані шматочки розміщували в рідкому азоті. Потім їх подрібнювали в рідкому азоті до порошкоподібного стану та гомогенізували при температурі + 2 °С у 10-разовому об'ємі середовища наступного складу (у ммоль/л): сахарози – 250, трис-НСІ-буфера – 20, ЕДТА – 1 (рН 7,4). При температурі + 4 °С методом диференціального центрифугування на рефрижераторній центрифугі Sigma 3-30k (Німеччина) виділяли мітохондріальну та постмітохондріальну фракцію, яку зливали та зберігали при

температурі - 80 °С [6] до проведення біохімічних досліджень.

Для оцінки інтенсивності оксидативного стресу в тканинах головного мозку визначали маркери окисної модифікації білка – альдегідфенілгідразони (АФГ) і карбоксифенілгідразони (КФГ). Також визначали стабільні метаболіти NO за рівнем нітратів і активність NO-синтази (NOS). Стан антиоксидантної системи оцінювали за активністю супероксиддисмутази (СОД), каталази, глутатіонпероксидази (ГПР).

Визначення активності СОД проводили за методикою, описаною Чеварі та співавт. [14]. СОД конкурує з нітросинім тетразолієм (НСТ) за супероксидразикали, які утворюються внаслідок аеробної взаємодії НАДН і феназінметасульфату (ФМС). У результаті цієї реакції НСТ відновлюється до гідразинтетразолію. У присутності СОД відсоток відновлення НСТ змінюється.

Активність СОД виражали в у.о./мг білка·хв.

Активність каталази визначали спектрофотометрично [15] та виражали в мкат/мг білка.

Активність ГПР визначали спектрофотометрично за методикою [16] та виражали в мкмоль GSH/мг білка·хв.

Стабільні метаболіти NO визначали за рівнем нітратів у реакції Грісса [12], активність NOS визначали за різницею між швидкістю окиснення НАДР, реєстрованою флюорометрично, у двох паралельних зразках, що не містить та містить інгібітор NOS-N-нітро-L-аргінін [13]. Активність NOS виражали в нмоль/мг·хв.

Показники окисної модифікації білка в тканинах головного мозку визначали за методом В. Halliwell [12, 17]. При взаємодії окиснених амінокислотних залишків з 2,4-динітрофенілгідразоном (2,4-ДНФГ) утворюються 2,4-динітрофенілгідразони – альдегідфенілгідразони та карбоксилфенілгідразони. Для альдегідфенілгідразонів спектр поглинання зареєстрований при довжині хвилі 274 нм, а для карбоксилфенілгідразонів – при 363 нм. Уміст виражали в у. о./г білка.

Концентрацію білка оцінювали за методом Бредфорда.

Неврологічний дефіцит у тварин визначали за шкалою stroke - index CP McGrow [12, 18, 19]. Важкість стану визначали за сумою відповідних балів: до 3 балів – легкий ступінь, від 3 до 7 балів – середній ступінь і від 7 балів і вище – важкий ступінь. Відзначали парези, паралічі кінцівок, тремор, манежні рухи, птоз, положення на боці; рухливість як прояв неврологічного дефіциту оцінювали за часом утримування щурів на стрижні (діаметром 15 см), що обертається (швидкість 3 об/хв). Тварин тестували щодня, вираховували суму балів.

Результати дослідження оброблені з застосуванням статистичного пакета ліцензійної програми «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5), а також «SPSS 16.0», «Microsoft Excel 2003». Аналіз нормальності розподілу оцінювали за критеріями Колмогорова-Смирнова (D) и Lilliefors, а також Shapiro-Wilk (W), якому віддавали перевагу. Також як критерії узгодження оцінювали величину асиметрії та ексцесу розподілу даних. Для всіх видів аналізу статистично значимими вважали різницю при $p < 0,05$ (U-критерій Манна-Уїтні).

Результати та їх обговорення. Двостороння перев'язка загальних сонних артерій викликала важкі неврологічні

зміни у тварин: паралічі, парези, птоз, з максимальним проявом на 4 добу. У цей термін спостереження в групі нелікованих тварин середній бал за шкалою С. Р. McGrow становив 16,5, що відповідає важкому ступеню неврологічної симптоматики (табл. 1). На 4 добу в контрольній групі вижило 30 % тварин. Уведення щурам з ішемічним інсультом досліджуваної сполуки пропіл 2-(5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1Н-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетімідату гідрохлориду призводило до появи достовірного нейропротективного ефекту. Так на 1 і 4 добу експерименту середній бал у цій групі становив 8,11 і 9,5 відповідно, а летальність зменшилася до 4 діб на 30 % порівняно з контролем. Варто відзначити, що введення тваринам з ішемічним інсультом пропіл 2-(5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1Н-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетімідату гідрохлориду зменшувало наростання проявів неврологічного дефіциту інсульту в гострий період інсульту (з 1 по 4 добу). Так, якщо в групі контролю середній бал за шкалою Stroke-index збільшився на 7,1 бала, то в групі тварин, які отримували курсом пропіл 2-(5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1Н-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетімідат гідрохлорид, цей показник склав 1,39 бала. Пірацетам за силою нейропротективного ефекту поступався досліджуваній сполуці.

Таблиця 1

Показники неврологічного дефіциту та виживаності тварин за умов ішемічного інсульту та впливу досліджуваної сполуки

Група тварин	Неврологічний дефіцит за шкалою С. Р. McGrow, бал		Кількість тварин, що вижили, %
	1 доба	4 доба	4 доба
Ішемічний інсульт (контроль)	9,70 ± 1,41	16,80 ± 1,88	30 (6/20)
Ішемічний інсульт + пропіл 2-(5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1Н-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетімідат гідрохлорид, 50 мг/кг	8,11 ± 1,72*	9,50 ± 1,35* ¹	60* (6/10)
Ішемічний інсульт + Пірацетам, 500 мг/кг	9,00 ± 1,32	13,50 ± 1,28*	50* (5/10)
Несправжньо оперовані тварини	0,10 ± 0,02	0	100 (7/7)

Примітка. У чисельнику – кількість тварин, що вижили на 4 добу експерименту, у знаменнику – кількість оперованих тварин на 1 добу, * $p < 0,05$ відносно групи контролю, ¹ $p < 0,05$ відносно групи пірацетаму.

Біохімічні дослідження показали, що двостороння перев'язка загальних сонних артерій призводить до типових біохімічних проявів ішемічних порушень – депресії антиоксидантної системи, розвитку оксидативного стресу і гіперпродукції NO на 4 добу експерименту (табл. 2, 3).

Важливою ланкою нейропротективної дії пропіл 2-(5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1Н-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетімі-

дату гідрохлориду виявилася його антиоксидантна дія. Сполука чинила інгібуючий вплив на реакції оксидативного стресу, а саме на окиснювальну модифікацію білка (ОМБ). Подібна дія характерна для таких антиоксидативнейропротекторів як тіотриазолін, мексидол та селеназа [1, 7]. Окиснювальна модифікація білків, з нашої точки зору та на думку інших авторів [1, 11, 20, 21], призводить до зниження функції

Таблиця 2

Показники окисної модифікації білка й системи NO у головному мозку тварин на 4 добу після ішемічного інсульту та застосування досліджуваної сполуки

Група тварин	Стабільні метаболіти NO, мкмоль/г білка	NO-синтаза нмоль/мг • хв	Альдегідфенілгідразони, у. о./г білка	Карбоксифенілгідразони, у. о./г білка
Несправжньо оперовані тварини	6,30 ± 0,74	10,40 ± 0,43	0,730 ± 0,051	0,570 ± 0,020
Ішемічний інсульт (контроль)	31,70 ± 3,50	28,70 ± 2,60	3,080 ± 0,022	1,780 ± 0,130
Ішемічний інсульт + пропіл 2-(5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1Н-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетімідат гідрохлорид, 50 мг/кг	15,60 ± 1,02 ^{*1}	18,20 ± 1,20 ^{*1}	1,810 ± 0,110 ^{*1}	1,140 ± 0,080 ^{*1}
Ішемічний інсульт + пірацетам, 500 мг/кг	27,50 ± 1,91 [*]	26,40 ± 3,80	2,550 ± 0,250 [*]	1,520 ± 0,177

Примітка. Тут і в табл. 3: ^{*}р < 0,05 відносно групи контролю, ¹р < 0,05 відносно групи пірацетаму.

Таблиця 3

Активність антиоксидантних ферментів у головному мозку щурів на 4 добу після моделювання ішемічного інсульту та застосування досліджуваної сполуки

Група тварин	Супероксиддисмутаза, у. о./мг білка • хв	Каталаза, мкат/мг білка	Глутатіонпероксидаза, мкмоль/мг білка • хв
Несправжньо оперовані тварини	201,50 ± 11,60	12,56 ± 0,87	78,40 ± 5,82
Ішемічний інсульт (контроль)	97,20 ± 7,61	4,62 ± 0,34	31,30 ± 2,55
Ішемічний інсульт + пропіл 2-(5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1Н-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетімідат гідрохлорид, 50 мг/кг	157,30 ± 10,70 ^{*1}	7,10 ± 0,37 [*]	51,30 ± 2,00 [*]
Ішемічний інсульт + пірацетам, 500 мг/кг	112,50 ± 15,70	5,20 ± 0,20 [*]	34,70 ± 4,41

білків у ланцюгу переносників електронів, активності АТФ, вибірковості дії транспортних пор. Зміна Red/Ox – потенціалу мітохондріальної мембрани може відображатися на дисфункції каскаду дихального ланцюга нейрональної клітини. Вищезазначені зміни, у кінцевому результаті, призводять до порушення секреторної, інкреторної, транспортної функції нейрона, та як наслідок – до розвитку когнітивного дефіциту [1]. Відомо, що під дією АФК у клітині відбувається активація експресії редокс-чутливих генів, багато з яких є необхідними для захисту клітин від токсичних ефектів окиснювального стресу. Так, за умов нормальної концентрації кисню в навколишньому середовищі клітини (нормоксія) під дією АФК відбувається в основному активація c-Jun, ATF-2-факторів транскрипції, а за умов окиснювального стресу – переважно факторів JunB та c-Fos [6, 10]. Активація саме цих факторів транскрипції за умов гіперпродукції АФК пояснюється тим, що JunB та c-Fos містять у своїх ДНК- зв'язуючих доменах високочутливі до АФК залишки цистеїну. Окиснення їхніх SH-груп призводить до зворотної інактивації AP-1 та NF-kB. Крім того, окиснення білкових макромолекул рецепторів, іонних каналів призводить до порушення генерації, передачі та розпізнавання нервового імпульсу, порушення функціональної активності нейронів та в кінцевому підсумку – до розвитку неврологічного та когнітивного дефіциту [1, 11, 20]. За умов моделювання ішемічного інсульту нами було виявлено підвищення альдегідних (АФГ) та карбоксильних (КФГ) продуктів ОМБ у тканинах мозку щурів на 4 добу. Уведення щурам з ішемічним інсультом пропіл 2-(5-(3,4,5-триметоксибеніл)-1H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетімідату гідрохлориду призводило до достовірного зниження маркерів окиснювальної модифікації білка – АФГ та КФГ. За ступенем зниження АФГ і КФГ пропіл 2-(5-(3,4,5-триметоксибеніл)-1H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетімідат гідрохлорид достовірно перевершував пірацетам. Останнім часом з'явилися роботи, у яких переконливо доведено роль

NO у патогенезі нейродеструктивних захворювань. Значна роль в гіперпродукції NO належить індукцибельній NO-синтазі, яка експресується під дією факторів транскрипції- JunB; c-Fos; AP-1, АФК та прозапалювальних цитокінів IL-1B [1, 22].

У цьому дослідженні було встановлено, що ішемічний інсульт призводить до активації NO-синтази та гіперпродукції NO на 4 добу, про що свідчить значне підвищення в головному мозку щурів активності цього ферменту, умісту стабільних метаболітів NO-нітратів. Пероральне введення експериментальним тваринам пропіл 2-(5-(3,4,5-триметоксибеніл)-1H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетімідату гідрохлориду призводило до нормалізації цих показників. Подібний ефект сполуки, на нашу думку, може бути одним з механізмів її антиоксидантної та в подальшому нейропротективної дії, тому що від співвідношення внутрішньоклітинних концентрацій NO та АФК залежить характер дії сполук на процеси, пов'язані з регуляцією апоптозу в нейрональній клітині. Так, за умов, сприятливих накопиченню пероксинітрату (ONOO⁻), NO стимулює апоптоз, що пов'язано передусім з активацією кінази JNK, факторів p53 и Вах, вивільненням цитохрому С з мітохондрій та подальшою активацією каспаз [1, 2, 11]. Механізм антиоксидантної дії пропіл 2-(5-(3,4,5-триметоксибеніл)-1H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетімідату гідрохлориду, на наш погляд, пов'язаний зі здатністю тіольної групи утворювати з цитотоксичними дериватами NO нітротіольні сполуки та таким чином гальмувати реакції нітрозативного стресу, а також зі здатністю триметоксибенілу бути скаведжером первинних алкоксильних та пептидних радикалів [10].

Висновки

1. Застосування пропіл 2-(5-(3,4,5-триметоксибеніл)-1H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетімідату гідрохлориду в дозі 50 мг/кг внутрішньощлунково тваринам з експериментальним ішемічним інсультом призводить до достовірного нейропротективного та антиоксидантного ефекту.

2. Застосування пропіл 2-(5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1Н-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетімідату гідрохлориду в гострий період ішемічного інсульту сприяє зменшенню летальності тварин та вираженості неврологічного дефіциту за шкалою С. Р. McGrow.
 3. Пропіл 2-(5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1Н-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетімідат гідрохлорид за умов ішемічного інсульту викликає підвищення активності антиоксидантних ферментів – СОД, каталази та ГПР на фоні зниження маркерів окиснювальної модифікації білка та зниження активності NOS в ішемізованому головному мозку.
 4. Пропіл 2-(5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1Н-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетімідат гідрохлорид за силою нейропротективної та антиоксидантної дії достовірно перевищує активність референтного препарату вторинної нейропротекції – пірацетаму.
1. Беленичев И. Ф. Рациональная нейропротекция / И. Ф. Беленичев, В. И. Черный, Ю. М. Колесник. – Донецк : Издатель Заславский А. Ю., 2009. – 262 с.
 2. Болдырев А. А. Роль активных форм кислорода в жизнедеятельности нейрона / Болдырев А. А. // Успехи физиол. наук. – 2003. – Т. 34, № 3. – С. 21–34.
 3. Вьюшина А. В. Перекисное окисление белков сыворотки крови у крыс, селективных по скорости выработки условного рефлекса активного избегания, в норме и при стрессе / Вьюшина А. В., Герасимова И. А., Флеров М. А. // Бюлл. exper. биол. и мед. – 2002. – Т. 133, № 3. – С. 286–288.
 4. Горбунов Н. В. Активация образования окиси азота, опосредованная метаболитами глутаматными рецепторами в первичных культурах клеток – зерен мозжечка / Горбунов Н. В. // Бюлл. exper. биол. и мед. – 1995. – № 7. – С. 40–48.
 5. Мазур И. А. К вопросу создания препаратов нейропротективного действия / Мазур И. А., Беленичев И. Ф. // Вісн. фармакол. та фармац. – 2006. – № 4. – С. 28–36.
 6. Гусев Е. И. Ишемия головного мозга / Е. И. Гусев, В. И. Скворцова. – Москва : Медицина, 2001. – 328 с.
 7. Attenuation of acute and chronic damage following traumatic brain injury in copper, zinc-superoxide dismutase transgenic mice / Mikava S., Kinouchi H., Kami H. [et al.] // J. Neurosurg. – 1996. – V. 85. – P. 885–891.
 8. Турпаев К. Т. Активные формы кислорода и регуляция экспрессии генов / Турпаев К. Т. // Биохимия. – 2002. – Т. 67, № 3. – С. 339–352.
 9. Поварова О. В. Влияние фенил-*t*-бутилнитрона, мексидола и ноогутилы на зону поражения мозга и память крыс после окклюзии средней мозговой артерии / Поварова О. В., Гаритова Т. Л., Каленикова Е. И. // Экспер. и клин. фармакол. – 2004. – Т. 67, № 1. – С. 3–6.
 10. Церебропротективные эффекты антиоксидантов при нейродеструктивных нарушениях, обусловленных токсическим действием кислородных радикалов / Дунаев В. В., Губский Ю. И., Беленичев И. Ф. [и др.] // Современные проблемы токсикологии. – 2004. – № 1. – С. 7–14.
 11. Packer L. Oxidative stress and Aging / L. Packer. – Oxford : Clarendon Press, 1995. – 426 p.
 12. Чекман И. С. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов / Чекман И. С., Губский Ю. И., Беленичев И. Ф. // Методические рекомендации. – Киев : ГФЦ МЗ Украины, 2010. – 81 с.
 13. Доклинические исследования лекарственных средств / под ред А. В. Стефанова. – Киев : ГФЦ МЗ Украины, 2000. – 540 с.
 14. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и методы ее определения в биологическом материале / Чевари С., Чаба И., Сеней Й. // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 678–681.
 15. Королюк М. А. Способ определения активности каталазы / Королюк М. А. // Лаб. Дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
 16. Беленичев И. Ф. Изменение активности глутатионпероксидазы у больных с окклюзионными поражениями сосудов зрительного нерва / Беленичев И. Ф., Максименко С. Ф. // Офтальмол. журн. – 1996. – № 3. – С. 150–153.
 17. Halliwell B. Free radicals in biology and medicine / B. Halliwell, J. M. Gutteridge. – Oxford : Clarendon Press, 1985. – 346 p.
 18. Дьюсбери Р. Изучение поведения животных / Р. Дьюсбери. – Москва : Наука, 1980. – 376 с.
 19. McGrow C. P. Experimental Cerebral Infarction Effects of Pentobarbital in Mongolian Gerbils / McGrow C. P. // Arch. Neurol. – 1977. – V. 34, № 6. – P. 334–336.
 20. Halliwell B. Molecular Biology of free Radicals in Human Diseases / B. Halliwell. – London : St. Lucia: OICA, 1999. – 410 p.
 21. Scott B. Oxidative stress, oxidants and antioxidants / Scott B., Auroma O. // Exp. Physiol. – 1999. – V. 8, № 6. – P. 291–295.
 22. Chiueh C. The neurobiology of NO and OH / C. Chiueh. – N. Y. : Acad. Sci., 2004. – 265 p.

**Ю. Г. Самелюк, І. Ф. Беленічев, А. В. Абрамов, Н. В. Бухтіярова,
С. А. Моргунцова, С. В. Павлов, А. Г. Каплаушенко**

**Дослідження нейропротекторної активності пропіл 2-(5-(3,4,5-триметокси-
феніл)-1Н-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетімідату гідрохлориду**

Останніми роками збільшується поширеність судинних захворювань, у тому числі гострих порушень мозкового кровообігу. Ішемічне ураження головного мозку супроводжується важкими неврологічними розладами, такими як порушення когнітивних, моторних, вербальних та інших функцій ЦНС. Сьогодні в клінічну практику впроваджено антиоксиданти нейропротектори – тіотриазолін, мексидол, емоксипін, троллокс, мелатонін, селеназа, препарати глутатіону.

Мета дослідження – вивчити нейропротективну дію нової сполуки, похідного 1,2,4-тріазол-3-тіону, а саме: пропіл 2-(5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1Н-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетімідату гідрохлориду порівняно з базовим нейропротектором і ноотропом – пірацетамом.

Застосування пропіл 2-(5-(3,4,5-триметоксифеніл)-1Н-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетімідату гідрохлориду тваринам з експериментальним ішемічним інсультом демонструє нейропротективний ефект, значно перевершуючи дію пірацетама: зменшується летальність тварин та вираженість неврологічних порушень у гострий період ішемічного інсульту, а також призводить до гальмування оксидативного стресу, підвищення активності антиоксидантних ферментів та сприяє нормалізації в системі NO.

Ключові слова: 1,2,4-тріазол, ацетімідати, нейропротекторна активність

**Ю. Г. Самелюк, И. Ф. Беленичев, А. В. Абрамов, Н. В. Бухтиярова,
С. А. Моргунцова, С. В. Павлов, А. Г. Каплаушенко**

Исследование нейропротекторной активности пропил 2-(5-(3,4,5-триметоксифенил)-1h-1,2,4-триазол-3-илтио)ацетимидата гидрохлорида

В последние годы увеличивается распространенность сосудистых заболеваний, в том числе острых нарушений мозгового кровообращения. Ишемическое поражение головного мозга сопровождается тяжелыми неврологическими расстройствами, такими как нарушение когнитивных, моторных, вербальных и других функций ЦНС. На сегодняшний день в клиническую практику внедрены антиоксиданты нейропротекторы – тиотриазолин, мексидол, эмоксипин, троллокс, мелатонин, селеназа, препараты глутатиона.

Цель исследования – изучить нейропротекторное действие нового соединения, производного 1,2,4-триазол-3-тиона, а именно, пропил 2-(5-(3,4,5-триметоксифенил)-1Н-1,2,4-триазол-3-илтио)ацетимидата гидрохлорида по сравнению с базовым нейропротектором и ноотропом – пирацетамом.

Применение пропил 2-(5-(3,4,5-триметоксифенил)-1Н-1,2,4-триазол-3-илтио)ацетимидата гидрохлорида животным с экспериментальным острым нарушением мозгового кровообращения демонстрирует нейропротективный эффект, значительно превосходящий действие пирацетама: уменьшается летальность и выраженность неврологических нарушений в острый период ишемического инсульта, а также происходит торможение оксидативного стресса, повышается активность антиоксидантных ферментов и отмечается нормализация в системе NO.

Ключевые слова: 1,2,4-триазол, ацетимидаты, нейропротекторная активность

**Yu. G. Sameluk, I. F. Belenichev, A. V. Abramov, N. V. Bukhtiyarova,
S. A. Morguntsova, S. V. Pavlov, A. G. Kaplaushenko**

**Study of neuroprotective activity of propyl 2-(5-(3,4,5- trimethoxyphenyl)-
1h-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetimidate hydrochloride**

The prevalence of cardiovascular diseases, including acute cerebral circulatory disorders have increased in recent years. Ischemic brain damage is usually associated with severe neurological disorders, such as impaired cognitive, motor, verbal and other CNS functions. The neuroprotective antioxidants such as Thiotriazoline, Emoxypine, Trolox, Melatonin, Glutathione have been introduced in clinical practice.

The purpose of this research was to study the neuroprotective effect of the new derivative of 1,2,4-triazole-3-thione, namely the propyl 2-(5-(3,4,5- trimethoxyphenyl)-1H-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetimidate hydrochloride and to compare obtained results with the base neuroprotective nootropic drug Piracetam.

Administration of propyl 2-(5-(3, 4, 5- trimethoxyphenyl)-1H-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetimidate hydrochloride to rats with experimental ischemic stroke demonstrated neuroprotective effect namely decreasing mortality and neurological disorders in the acute period of ischemic stroke, inhibition of oxidative stress, increasing the activity of antioxidant enzymes and normalization in the NO system. The new compound significantly exceeded in strength the neuroprotective effect of Piracetam.

Key words: 1,2,4-triazole, acetimidate, neuroprotective activity

Надійшла: 17 липня 2015 р.

Контактна особа: Самелюк Ю. Г., асистент, кафедра фізикоїдної хімії, Запорізький державний медичний університет, буд. 26, пр-т Маяковського, м. Запоріжжя, 69035. Тел.: + 38 0 612 33 61 97. Електронна пошта: sameluk@bk.ru

И. Ф. Беленичев, Е. С. Литвиненко

Влияние модуляторов системы глутатиона – селеназы и глутоксима на энергетический обмен головного мозга в условиях экспериментального острого нарушения мозгового кровообращения

Запорожский государственный медицинский университет

Ключевые слова: модуляторы системы глутатиона, селеназа, глутоксим, энергетический обмен, головной мозг, церебральная ишемия

За последние 20 лет произошли поистине революционные открытия в нейробиологии, нейрофизиологии и нейрофармакологии, которые привели к полной реструктуризации и реорганизации знаний в этой области и к иному пониманию нейропротекции. Появились понятия нейротрофичность, нейропластичность, эндогенная нейропротекция. За этот период тенденция к поиску препаратов с нейропротективными свойствами среди структурных аналогов эндогенных нейропротекторов возросла с огромной скоростью [1, 2]. Через призму эндогенной нейропротекции стали рассматриваться многие защитные белки, факторы транскрипции, антиоксиданты, в частности, система глутатиона [3, 4]. Система глутатиона принимает участие в реализации целого ряда важнейших физиологических процессов: детоксикации и антиоксидантной защиты; в биохимических превращениях витаминов С, Е, липоевой кислоты и убихинона; в регуляции тиол-дисульфидного равновесия; в процессе транспорта аминокислот; в поддержании восстановленной среды клетки; в регуляции углеводного, липидного и энергетического обмена, в поддержании оптимального состояния и функций мембран митохондрий; оказывает регулирующее влияние на синтез белков теплового шока (HSP); принимает участие в реализации механизмов программируемой клеточной гибели [5]. В этой связи в качестве перспективных нейропротекто-

ров рассматриваются не только глутатион восстановленный и его структурные аналоги, но факторы небелковой природы, регулирующие систему глутатиона [1]. Анализ данных литературы показывает, что подавляющее число работ посвящено описанию различных аспектов действия восстановленного глутатиона – антиоксидантного, противоишемического, гепато-, нейро- и кардиопротективного [1–5]. Очень мало экспериментальных работ, посвященных нейропротективному действию окисленного глутатиона и механизму его действия [6–8]. В работах, посвященных модуляторам Se-зависимой глутатионпероксидазы – селениту натрия, Se-метионину, Se-глутатиону при ишемии головного мозга и сердца, описаны только антиоксидантные аспекты их действия [9–11]. До настоящего времени нет единого представления о влиянии глутатиона и интермедиатов на энергетический метаболизм нервной ткани при ишемии и его вклада в суммарный нейропротективный эффект. Ряд авторов отмечает наличие у выбранных нами препаратов прямого митопротекторного действия, они защищают мембраны митохондрий от повреждающего действия свободных радикалов, препятствуют открытию гигантской митохондриальной поры, тем самым могут способствовать восстановлению энергопродуцирующих способностей этих клеточных органелл [1, 7, 8].

Цель исследования – изучение энерготропного действия глутоксима и селеназы в условиях острого нарушения мозгового кровотока (ОНМК) по таким показателям: АТФ, АМФ, АДФ, лактат, пируват, малат, энергетический заряд (ЭЗ), энергетический потенциал

(ЭП), индекс фосфорилирования (ИФ), термодинамический контроль дыхания (ТКД).

Материалы и методы. Экспериментальная часть выполнена на самцах монгольских песчанок (*Meriones unguiculatus*) массой 60–80 г. Животных, по 5 особей в клетке, содержали на стандартном рационе питания и питья с 12-часовым циклом смены света/темноты на протяжении всего эксперимента. Исследования на животных проводили в соответствии с Директивой Европейского Союза 2010/10/63 EU. Экспериментальные группы формировали по 10 особей одинакового веса в группе. Согласно с программой исследования, использовали общепринятую в данное время модель экспериментального острого нарушения мозгового кровообращения – необратимую одностороннюю перевязку общей сонной артерии. Операцию выполняли под тиопенталовым наркозом (40 мг/кг), путем хирургического доступа выделяли общую сонную артерию и накладывали на нее шелковую лигатуру. Для изучения действия препаратов животным с ОНМК (по типу ишемического инсульта) вводили селеназу (Biosyn Arzneimittel GmbH) – 50 мкг/кг (10 животным) [17] и глутоксим (ЗАО «ФАРМА-ВАМ») – 50 мг/кг [1] (10 животным) в течение всего срока наблюдения (4 суток). Препараты вводили внутривентриально 1 раз в 1 сутки. Животным контрольной группы на протяжении эксперимента внутривентриально вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме. Животным группы сравнения по той же схеме вводили пираретам (ООО «НИКО») – 500 мг/кг. По окончании эксперимента животных наркотизировали тиопенталом натрия (40 мг/кг), декапитировали, вскрывали черепную коробку и извлекали головной мозг. Мозг промывали в 0,25 моль/л сахарозном буфере (pH 7.4), охлажденном до температуры 2 °C и измельчали в 10-кратном объеме (содержание белка 0,8–1,0 г/л) этого же буфера в гомогенизаторе Silent Crusher S (фирмы Heidolph) [12]. Грубую часть гомогената удаляли путем центрифугирования при температуре 4 °C на центрифуге Eppendorf-5804R в течение 20 мин.

Полученный материал использовали для проведения биохимических методик. Общий белок определяли биуретовым методом. Для оценки процессов углеводно-энергетического обмена и окисления в цикле Кребса в гомогенате мозга определяли уровень адениловых нуклеотидов (АТФ, АДФ, АМФ) методом тонкослойной хроматографии [12], а также пируват модифицированным методом Умбрайт [13], лактат и малат ферментативным методом [12, 13]. Показатели ЭЗ, ЭП, ИФ, ТКД рассчитывали по общепринятым формулам [12]. Анализ нормальности распределения оценивали по критериям Колмогорова-Смирнова (D) и Shapiro-Wilk (W). Полученные данные были проанализированы вариационно-статистическим методом с использованием критерия Стьюдента (t). Все результаты представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее значение, m – ошибка среднего, p – уровень значимости. Для всех видов анализа статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Результаты обработаны с применением лицензионной программы «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., №AXXR712D833214FAN5).

Результаты и их обсуждение. Моделирование ОНМК приводило к типичным ишемическим нарушениям энергетического метаболизма мозга – энергодефициту, активации гликолиза, дискоординации в цикле Кребса (табл. 1) [14]. Отмечалось значительное снижение уровней АТФ на 60,8 % и АДФ на 42,5 % к 4 суткам эксперимента. Уровень АМФ в группе контроля отличался от уровня в группе ложнопериоперированных животных – был выше на 91,7 %, что дополнительно усиливает агрессивные последствия оксидативного стресса в постишемической зоне [15]. Применение селеназы и глутоксима при ОНМК привело к повышению содержания АТФ и АДФ по сравнению с контрольными значениями – глутоксима на 105,49 и 65,12 % соответственно ($p < 0,05$), селеназы на 81,31 и 30,43 % соответственно ($p < 0,05$). Применение пираретама привело к повышению уровня АТФ на 63,73 %, значения АМФ не были статистически значимыми по сравнению с группой контроля.

**Уровень адениловых нуклеотидов в гомогенате головного мозга
монгольских песчанок при церебральной ишемии
и применении глутоксида и селеназы, $M \pm t$**

Группа животных	АТФ, мкмоль/г ткани	АДФ, мкмоль/г ткани	АМФ, мкмоль/г ткани
Ложно оперированные животные, n = 10	2,32 ± 0,09	0,40 ± 0,02	0,12 ± 0,01
Ишемия (контроль), n = 10	0,91 ± 0,05	0,23 ± 0,02	0,23 ± 0,01
Ишемия + глутоксим 50 мг/кг, n = 10	1,87 ± 0,11*	0,38 ± 0,03*	0,12 ± 0,01*
Ишемия + селеназа 50 мкг/кг, n = 10	1,65 ± 0,12*	0,30 ± 0,04*	0,13 ± 0,01*
Ишемия + пирацетам 500 мг/кг, n = 9	1,49 ± 0,12*	0,27 ± 0,04	0,16 ± 0,01

Примечание. Тут и в табл. 2, 3: *изменения статистически значимы по отношению к группе контроля ($p < 0,05$).

На основании полученных результатов и для более полного понимания глубины энергетического дисбаланса в условиях ОНМК были рассчитаны следующие показатели: ЭЗ, ЭП, ИФ и ТКД (табл. 2). В группе контрольной патологии показатель ЭЗ был снижен на 15,9 % по отношению к ЛО, что говорит о превалировании энергопотребительных над энергообразующими процессами, что в конечном итоге ведет к гибели клеток головного мозга в условиях энергодефицита. Курсовое введение модуляторов тиол-дисульфидной системы (ТДС) повышает уровень ЭЗ на 17,56 % для глутоксида и на 16,21 % – селеназы по отношению к не леченым животным. Значение этого показателя в экспериментальных группах превышает таковой в группе референс препарата. К 4 суткам эксперимента выявлено резкое снижение ЭП в контрольной группе (на 32,75 %), что свидетельствует о снижении активности дыхательной цепи митохондрий. Применение исследуемых препаратов в экспериментальных группах способствовало коррекции митохондриальной дисфункции и повышению ЭП (глутоксим на 26,15 %, селеназа на 41,00 %), что может свидетельствовать о способности исследуемых препаратов предупреждать снижение скорости дыхания митохондрий [12]. В группе пирацетама отличия не были статистически значимыми. Аналогичным образом складывается ситуация в отношении ИФ и ТКД. ИФ, отображающий отношение АТФ к сумме АДФ и АМФ, снижен в

контрольной группе на 55,82 % в сравнении с интактной группой, что подтверждает выраженность нарушений энергетического гомеостаза у животных с ОНМК. В группах животных, получавших исследуемые препараты, ИФ значительно выше чем в группе контрольной патологии (глутоксим на 89,84 %, селеназа на 94,41 %), что свидетельствует о наличии у исследуемых препаратов способности корректировать дисбаланс в системе АТФ-АДФ-АМФ. Курсовое введение исследуемых препаратов привело к повышению индекса ТКД (глутоксим на 216 %, селеназа на 130 %) в сравнении с группой контрольной патологии, который ниже на 69,96 %, чем в группе ЛО к 4 суткам эксперимента. Низкий уровень ТКД в группе контрольной патологии, по нашему мнению, свидетельствует об усилении разобщения процессов окисления и фосфорилирования в электронно-транспортной цепи митохондрий, что согласуется с данными литературы [12]. Способность исследуемых препаратов корректировать уровни адениловых нуклеотидов и соотношение АТФ/АДФ+АМФ в условиях острой церебральной ишемии приводит к повышению ТКД.

Исследование показателей энергетического обмена (табл. 3) в группе контроля подтверждает наличие в головном мозге животных с ОНМК энергодефицита и лактат-ацидоза: уровень лактата повысился на 285,71 % на фоне снижения содержания пирувата и малата на 50,00 %. Применение модуляторов

Параметры энергообмена в гомогенате головного мозга монгольских песчанок при церебральной ишемии и применении глутоксима и селеназы, $M \pm t$

Группа животных	Энергетический заряд	Энергетический потенциал	Индекс фосфорилирования	Термодинамический контроль дыхания
Ложно оперированные животные, n=10	$0,88 \pm 0,14$	$5,80 \pm 0,31$	$4,46 \pm 0,53$	$3,33 \pm 0,23$
Ишемия (контроль), n = 10	$0,74 \pm 0,12$	$3,90 \pm 0,17$	$1,97 \pm 0,53$	$1,00 \pm 0,15$
Ишемия + глутоксим 50 мг/кг, n = 10	$0,87 \pm 0,11^*$	$4,92 \pm 0,22^*$	$3,74 \pm 0,51^*$	$3,16 \pm 0,21^*$
Ишемия + селеназа 50 мкг/кг, n = 10	$0,86 \pm 0,13$	$5,50 \pm 0,25^*$	$3,83 \pm 0,52^*$	$2,30 \pm 0,23^*$
Ишемия + пирацетам 500 мг/кг, n = 9	$0,84 \pm 0,11^*$	$4,20 \pm 0,31$	$3,04 \pm 0,51$	$2,50 \pm 0,53$

системы глутатиона привело к увеличению синтеза АТФ за счет интенсификации аэробных путей окисления глюкозы, о чем свидетельствует повышение уровня малата (глутоксим на 147,36 %; селеназа на 52,63 %) и пирувата (глутоксим на 68,18 %; селеназа на 50 %). Содержание лактата при этом снижается на 40,74 % в группе, получавшей глутоксим, и на 37,03 % группе, получавшей селеназу по сравнению с контролем. Применение пирацетама к 4 суткам эксперимента увеличивало концентрацию лактата на 51,85 % относительно контрольной группы, тем самым усиливая проявления лактат-ацидоза, что согласуется с результатами исследований [2–4].

Энерготропное действие модуляторов системы глутатиона можно объяснить прямым митопротекторным действием

с наличием выраженного антиоксидантного механизма (восстановление тиольных групп белков митохондриальной мембраны, процесс S-глутатионилирования) и действием через пентозо-фосфатный шунт [1, 6]. Кроме того, глутоксим опосредованно через подавление экспрессии провоспалительных факторов – IL-1B, TNF- α , возможно, способен тормозить сигнальные пути митоптоза и формирование митохондриальной дисфункции [1]. Селеназа опосредованно через ГПР и реакции S-глутатионилирования [7–9] защищает мембраны митохондрий от повреждающего действия свободных радикалов, тормозя шокное открытие гигантской митохондриальной поры и, тем самым, восстанавливает энергопродуцирующие способности этих клеточных органелл [1].

Таблица 3

Показатели энергетического метаболизма в гомогенате головного мозга монгольских песчанок при церебральной ишемии и применении глутоксима и селеназы, $M \pm t$

Группа животных	Лактат, мкмоль/г ткани	Пируват, мкмоль/г ткани	Малат, мкмоль/г ткани
Ложно оперированные животные, (n = 10)	$2,10 \pm 0,10$	$0,44 \pm 0,08$	$0,38 \pm 0,03$
Ишемия (контроль), (n = 10)	$8,10 \pm 0,18$	$0,22 \pm 0,02$	$0,19 \pm 0,01$
Ишемия + глутоксим 50 мг/кг, (n = 10)	$4,80 \pm 0,12^*$	$0,37 \pm 0,02^*$	$0,47 \pm 0,02^*$
Ишемия + селеназа 50 мкг/кг, (n = 10)	$5,1 \pm 0,28^*$	$0,33 \pm 0,02^*$	$0,29 \pm 0,04^*$
Ишемия + пирацетам 500 мг/кг, (n = 9)	$12,30 \pm 0,41^*$	$0,30 \pm 0,02^*$	$0,20 \pm 0,02$

Выводы

1. Курсовое введение модуляторов системы глутатиона – селеназы (50 мкг/кг · сут) и глутоксима (50 мг/кг · сут) животным с ОНМК приводит на 4 сутки эксперимента к повышению содержания АТФ и АДФ на фоне снижения АМФ в головном мозге, уменьшает дисбаланс в системе адениловых нуклеотидов, указывая на уменьшение энергетического дефицита в ишемизированном головном мозге.

2. Курсовое введение модуляторов системы глутатиона – селеназы и глутоксима животным с ОНМК способствует нормализации окисления в цикле Кребса (повышение малата) и уменьшению лактат-ацидоза (снижение лактата) на фоне повышения пирувата.

3. Модуляторы системы глутатиона – селеназа и глутоксим по влиянию на основные показатели энергетического обмена головного мозга (АТФ, АМФ, АДФ, лактат, пируват, малат, ЭЗ, ЭП, ИФ, ТКД) превосходят пирацетам.

1. Нейропротекция и нейропластичность / И. Ф. Беленичев, В. И. Черний, Е. А. Нагорная [и др.]. – Киев : Логос, 2015. – 510 с.
2. Гомазков О. А. Нейрохимия ишемических и возрастных патологий мозга / О. А. Гомазков. – Москва : Высшая школа, 2003. – 200 с.
3. Современные представления о механизмах патогенеза повреждений мозга и нейропротекторной терапии / Шанько Ю. Г., Танин А. Л., Наледько А. Н. [и др.] // ARS MEDICA. – 2009. – № 3 (13). – С. 97–105.
4. Исайкин А. И. Патогенетические аспекты терапии ишемического инсульта / Исайкин А. И. // Трудный пациент. – 2010. – Т. 8, № 4. – С. 27–30.
5. Novel Role for Glutathione S-Transferase as a Regulator of Protein S-Glutathionylation Following Oxidative and Nitrosative Stress / Danyelle M. Townsend, Yefim Manevich, Lin He. [et al.] // J. Biological chemistry. – 2008. – P. 1–23.
6. Трансактивация рецептора эпидермального фактора роста окисленным глутатионом и его фармакологическим аналогом глутоксим в клетках A 431 / Бурова Е. Б., Василенко К. П., Антонов В. Г., Никольский Н. Н. // Доклады академии наук. – 2005. – Т. 404, № 1. – С. 1–3.
7. NOV-002, a Glutathione Disulfide Mimetic, as a Modulator of Cellular Redox Balance/ Danyelle M. Townsend, Lin He [et al.] // Cancer Res. – 2008. – V. 68, № 8. – P. 2870–2877.
8. Townsend Danyelle M. Pharmacology of a mimetic of glutathione disulfide, NOV-002 / Danyelle M. Townsend, Kenneth D. Tew // Biomedicine & Pharmacotherapy. – 2008. – P. 1–4.
9. Selenium-containing Amino Acids as Direct and Indirect Antioxidants / Aldwin Suryo Rahmanto, Michael J. Davies // Life. – 2012. – № 64 (11). – P. 863–871.
10. Selenium preserves mitochondrial function, stimulates mitochondrial biogenesis, and reduces infarct volume after focal cerebral ischemia / Suresh L. Mehta, Santosh Kumari, Natalia Mendelev, P Andy Li // BMC Neuroscience. – 2012. – № 12 (3). – P. 45–50.
11. Буй Тхи минь Тху. Фармакологическая характеристика селеносодержащих соединений (обзор) / Буй Тхи Минь Тху // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. / Пятигорск. ГФА. – Пятигорск, 2007. – Вып. 62. – С. 448–450.
12. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов: методические рекомендации / Чекман И. С., Губский Ю. И., Беленичев И. Ф. [и др.]. – Киев, 2010. – 81 с.
13. Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике: в 2 т / В. В. Алексеев; под ред. А. И. Карпищенко. – Т. 2. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 792 с.
14. Антиоксиданти: клініко-фармакологічний аспект / Чекман І. С., Беленічев І. Ф., Горчакова Н. О. [та ін.] // Український медичний часопис. – 2014. – Т. I/II, № 1 (99). – С. 22–28.
15. Рациональная нейропротекция / Беленичев И. Ф., Черний В. И., Колесник Ю. М. [и др.]. – Донецк : Издатель Заславский А. Ю., 2009. – 262 с.
16. Изучение глутатиона и ферментов его метаболизма у больных старших возрастных групп с хронической церебральной ишемией / Кулинский В. И., Колесниченко Л. С., Шпрах В. В. [и др.] // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2005. – Т. 1 (39). – С. 63–65.
17. Литвиненко Е. С. Модуляция активности сопряженных систем NO/глутатион в ишемизированном головном мозге экспериментальных животных препаратом селеназа в различных дозах / Литвиненко Е. С., Беленичев И. Ф. // Вестник новых медицинских технологий. – 2015. – Т. 22, № 1. – С. 33–38.

І. Ф. Беленічев, Е. С. Литвиненко

Вплив модуляторів системи глутатіону – селенази та глутоксиму на енергетичний обмін головного мозку за умов експериментального гострого порушення мозкового кровообігу

На моделі необоротної односторонньої оклюзії загальної сонної артерії в монгольських піщанок вивчені енергетичні властивості модуляторів системи глутатіону – глутоксиму та селенази за умов гострого порушення мозкового кровообігу (ГПМК). За умов ГПМК (за типом ішемічного інсульту) на

4 добу експерименту спостерігали значне зниження вмісту АТФ, АДФ, малату та пірувату на тлі підвищення вмісту лактату і АМФ у гомогенаті головного мозку тварин. Відзначено різке зниження індексів енергетичного гомеостазу головного мозку (ЕП, ЕЗ, ТДК, ІФ) на 4 добу після моделювання ішемії, що підтверджує порушення енергетичного метаболізму в контрольній групі. Відзначено, що селеназа в дозі 50 мкг/кг і глутоксим у дозі 50 мг/кг призводять до підвищення вмісту АТФ на тлі підвищення АДФ і зниження АМФ. На тлі корекції глутоксिमом (50 мг/кг) і селеназою (50 мкг/кг) виявлено нормалізацію окиснення в циклі Кребса (підвищення малату) і зменшення лактат-ацидозу (зниження лактату) на тлі підвищення пірувату. Проведені дослідження підтверджують здатність у досліджуваних препаратів вирівнювати дисбаланс у системі аденилових нуклеотидів (підвищення ЕП, ЕЗ, ІФ, ТДК). За впливом на показники енергетичного метаболізму головного мозку селеназа і глутоксим статистично значимо перевершували пірацетам. На нашу думку, цю дію досліджуваних препаратів пов'язано з їхніми мітопротективним і антиоксидантним механізмами дії.

Ключові слова: модулятори системи глутатіону, селеназа, глутоксим, енергетичний обмін, головний мозок, церебральна ішемія

И. Ф. Беленичев, Е. С. Литвиненко

Влияние модуляторов системы глутатиона – селеназы и глутоксима на энергетический обмен головного мозга в условиях экспериментального острого нарушения мозгового кровообращения

На модели необратимой односторонней окклюзии общей сонной артерии у монгольских песчанок изучены энерготропные свойства модуляторов системы глутатиона – глутоксима и селеназы в условиях острого нарушения мозгового кровотока (ОНМК). В условиях ОНМК (по типу ишемического инсульта) на 4 сутки эксперимента наблюдается значительное снижение содержания АТФ, АДФ, малата и пирувата на фоне повышения содержания лактата и АМФ в гомогенате головного мозга животных. Отмечено резкое снижение индексов энергетического гомеостазу головного мозга (ЭП, ЭЗ, ТДК, ИФ) на 4 сутки после моделирования ишемии, что подтверждает нарушение энергетического метаболизма в контрольной группе. Отмечено, что селеназа в дозе 50 мкг/кг и глутоксим в дозе 50 мг/кг приводят к повышению содержания АТФ на фоне повышения АДФ и снижения АМФ. На фоне коррекции глутоксिमом (50 мг/кг) и селеназой (50 мкг/кг) выявлена нормализация окисления в цикле Кребса (повышение малата) и уменьшение лактат-ацидоза (снижение лактата) и повышение пирувата. Проведенные нами исследования подтверждают способность у исследуемых препаратов выравнивать дисбаланс в системе адениловых нуклеотидов (повышение ЭП, ЭЗ, ИФ, ТДК). По влиянию на показатели энергетического метаболизма головного мозга селеназа и глутоксим статистически значимо превосходили пирацетам. По нашему мнению, данное действие исследуемых препаратов связано с их митопротективным и антиоксидантным механизмами действия.

Ключевые слова: модуляторы системы глутатиона, селеназа, глутоксим, энергетический обмен, головной мозг, церебральная ишемия

I. F. Belenichev, E. S. Lytvynenko

Effect of glutathione system modulators selenase and glutoxime on the energy metabolism of the brain in experimental stroke

The energotropic properties of glutathione system modulators-glutoxime and selenase in conditions of acute cerebral blood flow(stroke) were studied. An irreversible unilateral occlusion of carotid artery in Mongolian gerbils on day 4 of the experiment produced significant decrease in the content of both ATP and ADP, pyruvate and malate in brain fissue accompanied by increased AMP and lactate. A sharp decrease of brain energy homeostasis parameters (energetic charge, energetic potential, thermodynamic breath control, phosphorylation index) on the 4th day after ischemia were shown, confirming significant violations of energy metabolism in the control group. It is noted that administration of selenase in dose 50 µg/kg and glutoxime in dose 50 mg/kg led to increasing of the content of ATP and ADP, and to decreasing of AMP content as compared to control group ($p \geq 0,05$) on the 4th day of the experiment. As the result of correction with glutoxime (50 mg/kg) and selenase (50 µg/kg) it was shown the restoration of Krebs cycle functioning and an inhibition of anaerobic glycolysis in the brain (increasing levels of malate ,pyruvate and decreasing of lactate level). Our studies have confirmed the ability of experimental drugs to restore the balance in the adenylic nucleotides system (energetic charge, energetic potential, thermodynamic breath control, phosphorylation index increasing). Glutoxime and selenase were superior ($p \geq 0,05$) as compared to group treated with the piracetam. In our opinion, this effect of drugs are due to its ability to prevent mitochondrial dysfunction and its antioxidant action.

Key words: glutathione system modulators, selenase, glutoxime, energy metabolism, brain, cerebral ischaemia

Надійшла: 27 липня 2015 р.

Контактна особа: Беленічев І. Ф., Запорізький державний медичний університет, буд. 26, пр-т Маяковського, м. Запоріжжя, 69035.

І. П. Бухтіярова, К. Г. Щокіна, С. М. Дроговоз, О. М. Іщенко

Антиоксидантна дія ралейкіну на моделі стрептозотоцинового діабету в щурів

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: стрептозотоциновий діабет, антиоксидантна дія, ралейкін

Цукровий діабет (ЦД) посідає одне з перших місць у структурі ендокринних захворювань. Його небезпідставно називають фатумом тисячоліття [1, 2]. До того ж це захворювання з року в рік прогресує і молодшає. Сьогодні в світі на ЦД хворіє понад 170 млн осіб, а на думку експертів, кількість таких хворих до 2025 року збільшиться до 300 млн [2]. У 2012 році в Україні зареєстровано понад 1 млн хворих на ЦД, що складає близько 2 % від усього населення країни, у тому числі 10–15 % припадає на інсулінзалежний ЦД [1]. Висока медична та соціальна значущість ЦД потребує високоєфективного та безпечного лікування.

Незважаючи на великий арсенал сучасних антидіабетичних засобів, постійно проводиться пошук нових схем лікування та лікарських препаратів, здатних виявляти нормалізуючий вплив одночасно на декілька патогенетичних ланок захворювання.

Так, згідно з сучасними уявленнями, універсальним механізмом, причетним до біохімічних порушень, індукованих гіперглікемією, є оксидативний стрес [3]. Доведено, що гіперглікемія може індукувати розвиток оксидативного стресу безпосередньо в панкреатичних β -клітинах на мітохондріальному рівні внаслідок посиленого внутрішньоклітинного метаболізму глюкози [2–4]. Оксидативний стрес є однією з причин дисфункції та деструкції β -клітин. Останнє обґрунтовує доцільність застосування антиоксидантів у комплексній терапії ЦД. На особливу увагу заслуговують антидіабетичні препарати, які поряд з гіпоглікемічною дією мають антиоксидантні властивості, а також здатні зберігати цілісність β -клітин [2].

Останніми роками досліджуються цитокінові механізми розвитку ЦД в експерименті та клініці. Відомо, що значну роль у розвитку ЦД має інтерлейкін-1 (ІЛ-1), який пригнічує стимульовану глюкозою секрецію інсуліну, порушує нормальну структуру острівців Лангерганса, сприяє деструкції β -клітин та індукує їхній апоптоз [4]. Крім того, ІЛ-1 виявляє потужну цитотоксичну дію на β -клітини за рахунок утворення вільних радикалів [6]. Існує чимало даних щодо ролі рецепторних антагоністів ІЛ-1 у корекції ЦД [4, 6–8].

Мета дослідження – визначення антиоксидантних властивостей оригінального рекомбінантного антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну за умов низькодозового стрептозотоцинового діабету в щурів.

Матеріали та методи. Для відтворення модельної патології щурам-самцям, яких 4 тижні до відтворення моделі діабету утримували на високожировому раціоні харчування, вводили внутрішньочеревинно стрептозотозин («Sigma», США) у дозі 40 мг/кг маси тіла протягом 5 діб. Методику відтворення стрептозотоцинового діабету описано в Методичних рекомендаціях з доклінічного вивчення лікарських засобів [5]. Рекомбінантний антагоніст рецепторів ІЛ-1 ралейкін отримано в Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП (РФ).

Як референс-препарати було обрано метформін (діаформін виробництва ВАТ «Фармак», табл. 0,5 г) та анакінру (Кінерет виробництва «Swedish Orphan Biovitrum» (Швеція), пор. р/і 100 мг). Вибір препаратів порівняння зумовлений тим, що метформін є еталонним гіпоглікемічним препаратом, який входить до стандартів лікування ЦД обох типів [9], а анакінра – рекомбінантний антагоніст рецепторів ІЛ-1 з доведеною гіпоглікемічною та антиоксидантною

активністю, який є аналогом досліджуваного препарату [7, 8].

В експерименті було використано 43 білих безпородних щура-самця масою 230–280 г, яких було розподілено на 5 груп, а саме: перша – група інтактного контролю (7 тварин), друга – група контрольної патології (6 тварин), третя – група, тварини якої на тлі модельної патології отримували ралейкін (7 щурів), четверта – щури, ліковані метформіном, п'ята – тварини, яким вводили анакінру.

Досліджувані препарати вводили в лікувальному режимі упродовж 14 діб, починаючи з 2 доби після останнього введення стрептозотоцину: ралейкін – підшкірно в дозі 7 мг/кг, анакінру – підшкірно в дозі 8 мг/кг, метформін – внутрішньошлунково в дозі 30 мг/кг [7–9].

Наступного дня після останнього введення препаратів тварин виводили з експерименту, у стані евтаназії вилучали печінку, підшлункову залозу та збирали кров для біохімічних досліджень.

У гомогенаті печінки визначали активність глутатіонпероксидази (ГПО) та глутатіон-S-трансферази (Г-S-T) (за методом В. М. Моина), глутатіонредуктази (ГР) (за методом P. Z. Wendell), у гомогенаті пішлункової залози – активність глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази [10–13].

Активність глутатіонпероксидази вимірювали спектрофотометрично при $\lambda = 340$ нм у середовищі наступного складу: 50 ммоль/л K^+ , Na^+ -фосфатний буфер (pH 7,4), 1 ммоль/л ЕДТА, 0,15 ммоль/л НАДФН, 1 ммоль/л відновленого глутатіону, 3 ммоль/л азиду натрію, 0,8 ммоль/л H_2O_2 , а також 0,5 Од/мл глутатіонредуктази дріжджів за температури 37 °С. Активність виражали в ммоль НАДФН /хв · мг білка [13]. Активність глутатіонредуктази визначали спектрофотометрично за зниженням НАДФН у середовищі наступного складу: 50 ммоль/л K^+ -фосфатний буфер (pH 7,4), 1 ммоль/л ЕДТА, 0,16 ммоль/л НАДФН, 1 ммоль/л окисненого глутатіону за температури 37 °С. Активність виражали в ммоль НАДФН /хв · мг білка, приймаючи коефіцієнт

екстинкції за $6,22 \cdot 10^3$ моль⁻¹ · см⁻¹ [11]. Активність глутатіон-S-трансферази визначали за швидкістю утворення кон'югату в реакції з 1-хлор-2,4-динітробензолом, який характеризується максимумом поглинання при довжині хвилі 340 нм [11, 12].

У сироватці крові визначали вміст ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) (за методом І. Д. Стальної, Г. Т. Гарішвілі), концентрацію неестерифікованих жирних кислот (НЕЖК) (фотоколориметрично); у гомогенаті печінки – уміст відновленого глутатіону (ВГ) (за методом E. Beutler et al.) [5, 10].

Під час проведення досліджень дотримувалися принципів біоетики, законодавчих норм і вимог згідно з положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.).

У разі обліку результатів у вигляді середня $\pm$ стандартна помилка статистичну достовірність міжгрупових відмінностей оцінювали за t-критерієм Стьюдента з поправкою Бонфероні.

Результати та їх обговорення. Обрана експериментальна модель є абсолютною інсуліновою недостатністю прямого β -цитотоксического генезу та призводить до розвитку інсулін-залежного ЦД з вираженим автоімунним компонентом [5, 14].

Як відомо, оксидативний стрес, що є одним з патогенетичних чинників ЦД, супроводжується зниженням активності глутатіон-залежної ланки захисної системи. Основним антиоксидантним ферментом у більшості клітин організму є глутатіонпероксидаза [15, 16]. Тому важливо було дослідити стан основного захисного ферменту мітохондрій глутатіонпероксидаза та сполучених з ним глутатіонредуктази та глутатіон-S-трансферази на тлі модельного діабету в щурів.

Як свідчать дані таблиці 1, у тварин групи контрольної патології активність глутатіонпероксидази в гомогенаті печінки та пішлункової залози

Таблиця 1

Активність глутатіон-залежних антиоксидантних ферментів у печінці та підшлунковій залозі щурів зі стрептозотоциновим діабетом (29 доба) за впливу ралейкіну, нмоль НАДФН/хв · мг білка ($M \pm m$)

Група тварин	Печінка				Підшлункова залоза	
	Глутатіон-пероксидаза	Глутатіон-редуктаза	Глутатіон-S-трансфераза	Уміст відновленого глутатіону, ммоль/г	Глутатіон-пероксидаза	Глутатіон-редуктаза
Інтактний контроль (n = 7)	141,0 ± 11,2	63,7 ± 4,6	582,7 ± 53,4	3,76 ± 0,22	8,2 ± 0,4	6,2 ± 0,3
Діабет (контрольна патологія) (n = 6)	78,6 ± 7,4*	46,5 ± 4,1*	1073,6 ± 54,5*	1,76 ± 0,12*	4,0 ± 0,2*	3,0 ± 0,2*
Діабет + ралейкін, 7 мг/кг (n = 7)	131,7 ± 9,2**	65,6 ± 4,8**	626,1 ± 34,6**	2,91 ± 0,15*/**	8,3 ± 0,3**	5,6 ± 0,3**
Діабет + метформін, 30 мг/кг (n = 7)	95,8 ± 5,1*	51,1 ± 4,6	764,4 ± 27,6*/**	2,19 ± 0,15*	7,6 ± 0,4**	4,8 ± 0,3*/**
Діабет + анакінра, 8 мг/кг (n = 6)	132,5 ± 7,6**	57,0 ± 3,6	641,9 ± 30,1**	2,74 ± 0,16*/**	8,5 ± 0,3**	5,5 ± 0,3**

Примітка. Тут і в табл. 2: статистично значущі відмінності ($p \leq 0,05$): *до групи інтактного контролю; **до групи контрольної патології, #до метформіну; n – кількість тварин у кожній групі.

була знижена в 1,8 та 2,1 разу відповідно, глутатіонредуктази – у 1,4 та 2,1 разу, що свідчить про розлади глутатіон-залежної захисної системи організму. Активність глутатіон-S-трансферази в гомогенаті печінки щурів збільшилася в 1,8 разу, що, імовірно, пов'язане з дисліпідемією, що спостерігається за умов використаної моделі, та відповідним надлишковим надходженням жирнокислотних субстратів та їхніх гідроперекисів до печінки [9, 15].

Застосування досліджуваних речовин сприяло нормалізації активності глутатіон-залежних ферментів у печінці та підшлунковій залозі. Так, під впливом ралейкіну активність глутатіонпероксидази в гомогенаті печінки достовірно підвищилася в 1,7 разу, активність глутатіонредуктази – у 1,4 разу, глутатіон-S-трансферази – знизилася в 1,7 разу, активність глутатіонпероксидази в гомогенаті підшлункової залози підвищилася в 2,1 разу, вміст глутатіонредуктази підшлункової залози – у 1,9 разу порівняно з показниками тварин групи контрольної патології.

Активність вищезазначених ферментів на тлі ралейкіну достовірно не відрізнялася від відповідних показників групи інтактного контролю. Введення анакінри сприяло достовірному збільшенню активності глутатіонпероксидази в гомогенаті печінки в 1,7 разу, при цьому активність глутатіон-S-трансферази знизилася в 1,7 разу порівняно з групою контрольної патології. Активність ГР у гомогенаті печінки збільшилася в 1,2 разу, але ці зміни не були достовірними. Активність глутатіонпероксидази в гомогенаті підшлункової залози на тлі анакінри достовірно виросла в 2,1 разу, глутатіонредуктази підшлункової залози – у 1,8 разу. Застосування метформіну призводило до достовірного зниження активності глутатіон-S-трансферази в гомогенаті печінки в 1,4 разу, збільшення активності глутатіон-залежних ферментів у гомогенаті підшлункової залози, а саме, активності глутатіонпероксидази – у 1,9 разу, глутатіонредуктази – в 1,6 разу. Інші зміни на тлі метформіну не були достовірними. Ймовірно, це пов'язане з властивістю метформіну окиснювати тіолові групи [16], а також

з метаболічними перетвореннями за участю глутатіон-S-трансферази.

У сироватці крові тварин групи контрольної патології зафіксовано достовірне підвищення вмісту ТБК-активних продуктів у 2,7 разу, концентрації НЕЖК – у 2,2 разу, у гомогенаті печінки – зниження вмісту відновленого глутатіону в 2,1 разу порівняно з відповідними показниками тварин групи інтактного контролю (табл. 1, 2). Відомо, що зростання в плазмі крові концентрації неестерифікованих жирних кислот не тільки порушує толерантність до вуглеводів, але й може призводити до підвищення продукції вільних радикалів [17]. Посиленню оксидативного стресу за умов ЦД сприяє не тільки гіперглікемія, але й гіперінсулінемія. Остання активує симпатичну нервову систему, що спричиняє підвищення рівня катехоламінів, неестерифікованих жирних кислот, індукцію процесів вільнорадикального окиснення [3, 17].

На тлі ралейкіну рівень ТБК-активних продуктів у сироватці крові тварин достовірно знизився в 2,6 разу, концентрація НЕЖК – у 1,8 разу порівняно з відповідними показниками тварин групи контрольної патології. Під дією анакінри рівень ТБК-активних продуктів у сироватці крові щурів достовірно знизився в 2,5 разу, концентрація неестерифікованих жирних кислот зменшилася в 1,9 разу. Усі показники достовірно не відрізнялися від відповідних показників групи інтактного контролю. Під впливом метформіну вміст ТБК-активних продуктів достовірно знизився в 2,0 разу, концен-

трація неестерифікованих жирних кислот – у 1,4 разу, але ці показники достовірно відрізнялися від показників тварин групи інтактного контролю.

Уміст відновленого глутатіону в гомогенаті печінки тварин під впливом ралейкіну достовірно виріс у 1,7 разу, на тлі анакінри – у 1,6 разу порівняно з показником тварин групи контрольної патології. Метформін не виявив достовірного позитивного впливу на цей показник.

За нормалізуючим впливом на активність глутатіон-залежних антиоксидантних ферментів у печінці та підшлунковій залозі, вміст ТБК-активних продуктів, відновленого глутатіону і неестерифікованих жирних кислот ралейкін і анакінра переважали дію метформіну. Достовірних відмінностей у дії ралейкіну та анакінри не спостерігали.

Отримані результати дослідження підтверджують наявність взаємозв'язку між розвитком оксидативного стресу та зниженням активності системи антиоксидантного захисту. Одним з важливих факторів деструкції β-клітин при прогресуванні ЦД, який призводить до прогресуючого зниження їхньої маси й далі – до абсолютної інсулінової недостатності, є надмірне утворення активних форм кисню. Результати дослідження антиоксидантних ферментів у підшлунковій залозі свідчать, що їхня активність була значно нижчою, ніж у печінці, що співпадає з даними літератури та доводить небезпеку незворотних змін підшлункової залози під впливом оксидативного стресу [15].

Таблиця 2

Уміст продуктів ПОЛ та неестерифікованих жирних кислот у сироватці крові щурів зі стрептозотоциновим діабетом (29 доба) за впливу ралейкіну, (М ± m)

Група тварин	ТБК-активні продукти, мкмоль/л	Неестерифіковані жирні кислоти, ммоль/л
Інтактний контроль (n = 7)	3,00 ± 0,22	0,43 ± 0,13
Діабет (контрольна патологія) (n = 6)	8,21 ± 0,43*	0,95 ± 0,10*
Діабет + ралейкін (n = 7)	3,20 ± 0,21***	0,52 ± 0,12***
Діабет + метформін (n = 7)	4,03 ± 0,30*/**	0,70 ± 0,05*/**
Діабет+ анакінра (n = 6)	3,30 ± 0,21**	0,53 ± 0,11**

Висновки

1. На моделі стрептозотоцин-індукованого діабету в щурів введення ралейкіну сприяло достовірному підвищенню активності глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, глутатіон-S-трансферази та рівня відновленого глутатіону в гомогенаті печінки, а також активності глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази в гомогенаті підшлункової залози експериментальних тварин порівняно з відповідними показниками в групі контрольної патології.
2. На тлі ралейкіну спостерігали достовірне зниження вмісту ТБК-активних

продуктів та неестерифікованих жирних кислот у сироватці крові щурів порівняно з відповідними показниками в групі контрольної патології.

3. На моделі стрептозотоцинового діабету в щурів ралейкін виявив виражену антиоксидантну дію: відновлювалася активність глутатіон-залежної ланки антиоксидантної системи експериментальних тварин та зменшувалася концентрація продуктів ПОЛ.
4. За антиоксидантною активністю на тлі стрептозотоцинового діабету в щурів ралейкін не поступався рекомбінантному антагоністу рецепторів ІЛ-1 анакінрі та перевищував метформін.

1. Дедов И. И. Сахарный диабет – опаснейший вызов мировому сообществу / И.И. Дедов // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2012. – № 1. – С. 7–13.
2. Эпидемиология сахарного диабета и прогноз его распространенности / Ю. И. Сунцов, Л. Л. Болотская, О. В. Маслова [и др.] // Сахарный диабет. – 2011. – № 1. – С. 15–18.
3. Baynes J. W. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes / J. W. Baynes // Diabetes. – 1991. – V. 40, № 4. – P. 405–412.
4. Mechanisms of pancreatic β -cell death in type 1 and type 2 diabetes. Many differences, few similarities / М. Сноп, N. Welsh, J. C. Jonas [et al.] // Diabetes. – 2005. – V. 54, Suppl. 2. – P. S97–S107.
5. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. ; за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – Київ : Авіцена, 2001. – 528 с.
6. Björjesson A. Altered proinsulin conversion in rat pancreatic islets exposed long-term to various glucose concentrations or interleukin-1beta / A. Björjesson, C. Carlsson // J Endocrinol. – 2007. – V. 192 (2). – P. 381–387.
7. Щокіна К. Г. Органотропні ефекти рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 (експериментальне дослідження) : Дис. докт. фарм. наук : 14.03.05 – фармакологія / Щокіна К. Г. – Харків, 2011. – 440 с.
8. Treatment with Anakinra Improves Disposition Inde But Not Insulin Sensitivity in Nondiabetic Subjects with the Metabolic Syndrome: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study / E. J. P. van Asseldonk, R. Stienstra, T. B. Koenen [et al.] // J. Clin Endocrinol Metab. – 2011. – V. 96, № 7. – P. 2119–2126.
9. Шумейко О. Г. Експериментальне обґрунтування застосування екстракту з мідії чорноморської (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) у комплексній терапії цукрового діабету : Дис. канд. мед. наук : 14.01.14 – ендокринологія / Шумейко О. Г. – Харків, 2009. – 153 с.
10. Лабораторные методы исследования в клинике : справочник / В. В. Меньшиков, Л. Н. Делекторская, Р. П. Золотницкая [и др.] ; под ред. В. В. Меньшикова. – Москва : Медицина, 1997. – 368 с.
11. Ферментативные механизмы торможения перекисного окисления липидов в различных отделах головного мозга / А. М. Герасимов, Л. А. Королева, О. С. Брусов [и др.] // Вопр. мед. химии. – 1976. – Т. 2, № 11. – С. 89–94.
12. Habig W. H. Glutathione-S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation / Habig W. H., Pabst M. J., Jacoby W. B. // J. Biol. Chem. – 1974. – V. 249, № 22. – P. 7130–7139.
13. Sies H. A role of mitochondrial glutathione peroxidase in modulating mitochondrial oxidations in liver / H. Sies, K. M. Mooss // Eur. J. Biochem. – 1978. – V. 84, № 2. – P. 377–383.
14. Protective effect of boldine on oxidative mitochondrial damage in streptozotocin-induced diabetic rats / Y. Y. Jang, J. H. Song, Y. K. Shin [et al.] // Pharmacol. Res. – 2000. – V. 42, № 4. – P. 361–371.
15. Effect of selenium- and glutathione-enriched yeast supplementation on a combined atherosclerosis and diabetes hamster model / G. A. Agbor, J. A. Vinson, S. Patel [et al.] // J. Agric. Food Chem. – 2007. – V. 55, № 21. – P. 8731–8736.
16. The antidiabetic effects of cysteinyl metformin, a newly synthesized agent, in alloxan- and streptozotocin-induced diabetic rats / Z. Liu, J. Li, Z. Zeng [et al.] // Chem. Biol. Interact. – 2008. – V. 173, № 1. – P. 68–75.
17. Foley J. E. Rationale and application of fatty acid oxidation inhibitors in treatment of diabetes mellitus / J. E. Foley // Diabetes Care. – 1992. – V. 15, № 7. – P. 773–784.

І. П. Бухтіярова, К. Г. Щокіна, С. М. Дрогвоз, О. М. Іщенко

Антиоксидантна дія ралейкіну на моделі стрептозотоцинового діабету в щурів

Цукровий діабет (ЦД) посідає одне з перших місць у структурі ендокринних захворювань. Незважаючи на великий арсенал сучасних антидіабетичних засобів, постійно проводиться пошук нових схем

лікування та лікарських препаратів, здатних виявляти нормалізуючий вплив одночасно на декілька патогенетичних ланок захворювання. Особливу увагу привертають антидіабетичні препарати, які поряд з гіпоглікемічною дією мають антиоксидантні властивості, а також здатні зберігати цілісність β -клітин.

У статті наведено результати дослідження антиоксидантних властивостей оригінального рекомбінантного антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну за умов низькодозового стрептозотоцинового діабету в щурів. Отримані дані підтверджують важливу роль оксидативного стресу в розвитку ЦД І типу. Результати дослідження антиоксидантних ферментів у підшлунковій залозі (ПЗ) свідчать, що їхня активність значно нижча, ніж у печінці, що співпадає з даними літератури та доводить небезпеку незворотних змін ПЗ під впливом оксидативного стресу. Визначено, що за умов стрептозотоцинового діабету в щурів ралейкін виявив виражений антиоксидантний ефект, сприяючи відновленню активності складових глутатіон-залежної ланки антиоксидантної системи експериментальних тварин та знижуючи концентрацію продуктів ПОЛ. За нормалізуючим впливом на вищезазначені показники ралейкін не поступається рекомбінантному антагоністу рецепторів ІЛ-1 анакінрі з доведеною антидіабетичною активністю та перевищує метформін.

Ключові слова: стрептозотоциновий діабет, антиоксидантна дія, ралейкін

И. П. Бухтиярова, Е. Г. Щекина, С. М. Дрогвоз, А. М. Ищенко
Антиоксидантное действие ралейкина на модели стрептозотоцинового диабета у крыс

Сахарный диабет (СД) занимает одно из первых мест в структуре эндокринных заболеваний. Несмотря на большой арсенал современных противодиабетических средств, постоянно проводится поиск новых схем лечения и лекарственных препаратов, способных оказывать нормализующее влияние одновременно на несколько патогенетических звеньев заболевания. Особого внимания заслуживают противодиабетические препараты, которые наряду с гипогликемическим действием обладают антиоксидантными свойствами, а также способны сохранять целостность β -клеток.

В статье приведены результаты исследования антиоксидантных свойств оригинального рекомбинантного антагониста рецепторов ИЛ-1 ралейкина в условиях низкодозового стрептозотоцинового диабета у крыс. Полученные данные подтверждают важную роль оксидативного стресса в развитии СД I типа. Результаты исследования антиоксидантных ферментов в поджелудочной железе (ПЖ) свидетельствуют, что их активность значительно ниже, чем в печени, что совпадает с данными литературы и доказывает опасность необратимых изменений ПЖ под влиянием оксидативного стресса. Установлено, что в условиях стрептозотоцинового диабета у крыс ралейкин обнаружил выраженный антиоксидантный эффект, способствуя восстановлению активности составляющих глутатион-зависимого звена антиоксидантной системы экспериментальных животных и снижая концентрацию продуктов ПОЛ. По нормализующему влиянию на вышеупомянутые показатели ралейкин не уступает рекомбинантному антагонисту рецепторов ИЛ-1 анакинре с доказанной антидиабетической активностью и превышает метформин.

Ключевые слова: стрептозотоциновый диабет, антиоксидантное действие, ралейкин

Buhtiyarova I. P., Shchokina K. G., Drogozov S. M., Ischenko A. M.
Antioxidant action of raleukin on the model of streptozotocine diabetes in rats

Diabetes mellitus (DM) holds one of the first places in the structure of endocrine diseases. Despite the large arsenal of modern antidiabetic agents, the search for new treatments and medications that can have a normalizing effect simultaneously on multiple pathogenetic links of the disease constantly being. Particularly noteworthy anti-diabetic drugs, which along with hypoglycemic action have antioxidant properties and are able to maintain the integrity of the β -cells.

The article presents the results of a study of antioxidant properties of the original recombinant receptor antagonist IL-1 raleukin on the model of low-dose streptozotocine diabetes in rats. These results confirm the important role of oxidative stress in the development of type I diabetes. Results of the study of antioxidant enzymes in the pancreas indicate that their activity is considerably lower than in the liver, consistent with literature data proves the danger of irreversible changes of pancreas under the oxidative stress. It was found pronounced antioxidant effect of raleukin under conditions of streptozotocine diabetes in rats, contributing to restore the active component of glutathione-dependent antioxidant system of experimental animals and reducing the concentration of lipid peroxidation products. By normalizing effect on the above indicators raleukin does not yield recombinant receptor antagonist IL-1 anakinra with proven anti-diabetic activity and is more effective than metformin.

Key words: streptozotocine diabetes, antioxidant action, raleukin

Надійшла: 23 вересня 2015 р.

Контактна особа: Бухтіярова Ірина Петрівна, кандидат фармацевтичних наук, доцент, кафедра управління та економіки фармації, Донецький національний медичний університет імені Максима Горького. Тел.: + 38 0 93 787 65 07. Електронна пошта: irbuxtik@mail.ru

В. В. Гриб¹, О. М. Дорошенко², Н. В. Заїчко¹, Н. Г. Степанюк¹

Порівняльна характеристика впливу натрієвої солі 4-(3-метил-2-оксо-2Н-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл) бутанової кислоти та диклофенаку на динаміку гематологічних показників і безпечність у щурів з ад'ювантним артритом

¹Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова

²Київська національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика

Ключові слова: натрієва сіль 4-(3-метил-2-оксо-2Н-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл) бутанової кислоти, диклофенак, ад'ювантний артрит, гематологічні показники

Наявність у нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ) низки побічних ефектів (гастро-, нефро- та гепатотоксичності) значно обмежує їхнє широке застосування в клініці [1, 2]. Тому сьогодні ведеться інтенсивний пошук нових молекул з протизапальною та анальгетичною дією, придатних для створення на їхній основі більш безпечних НПЗЗ [3, 4].

У зв'язку з цим привернули увагу похідні (3-*R*-2-оксо-2Н-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл) карбонових кислот (синтезовані у Запорізькому державному медичному університеті під керівництвом професора С. І. Коваленка), серед яких виявлено сполуки зі знеболюючим, антиоксидантним, протигіпоксичним та протипіщемічним ефектами. У найбільшій мірі ці властивості притаманні натрієвій солі 4-(3-метил-2-оксо-2Н-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл) бутанової кислоти (сполука DSK-38) [5, 6].

Комплекс фармакологічних ефектів, притаманних цій речовині, дає підставу передбачати наявність у неї лікувальної дії при ад'ювантному артриті (АА), що й стало підставою для проведення даного дослідження.

Мета дослідження – охарактеризувати вплив сполуки DSK-38 на перебіг ад'ювантного артриту в щурів за динамікою гематологічних показників та її безпечність порівняно з диклофенаком.

Матеріали та методи. Дослідження проведено на 42 нелінійних щурах-самцях масою 140–205 г, розподілених на 6 груп по 7 особин у кожній: 1 – інтактний контроль (14 доба); 2 – інтактний контроль (28 доба); 3 – щури з АА без лікування (контрольна патологія, евтаназія на 14 добу); 4 – щури з АА без лікування (контрольна патологія, евтаназія на 28 добу); 5 – щури з АА, ліковані сполукою DSK-38 (2 мг/кг, внутрішньочеревинно (в/о)); 6 – щури з АА, ліковані референтним препаратом диклофенаком (4 мг/кг, в/о). Дози обох речовин дорівнювали 1/2 їх ЕД₅₀ за попереднім дослідженням [7]. АА моделювали шляхом одноразового субплантарного введення 0,1 мл повного ад'юванта Фрейнда (Thermoscientific, USA). Лікування проводили з 14 по 28 день експерименту.

Величину лікувальної дії досліджуваних речовин оцінювали за змінами показників ШОЕ, кількості гемоглобіну та формених елементів крові. Гематологічний аналіз крові проводили на автоматичному гемоаналізаторі Erma PCS-210 (Японія). Для гематологічних досліджень брали зразки цільної венозної крові з К₂ЕДТА. Кров зі згустками чи ознаками гемолізу для дослідження не використовували. Про безпечність досліджуваних речовин судили за показниками летальності тварин та виразковим індексом [8].

Цифрові дані обробляли методом варіаційної статистики з визначенням *t*-критерію Ст'юдента [9]. Вірогідними вважали зміни показників при $p \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. У групах нелікованих щурів з АА виявлено значні порушення показників периферичної крові в обидва терміни експерименту. Особливо це позначилося на величині показника ШОЕ, який збільшився на 14 та 28 добу експерименту більше ніж у 4 рази відносно інтактних тварин (таблиця).

Така динаміка показника ШОЕ, згідно з даними літератури [10], вказує на наявність в організмі нелікованих щурів з АА активного запального процесу. Підтвердженням цього було також вірогідне зростання (приблизно у 3 рази) показника кількості лейкоцитів.

При цьому кількість лімфоцитів на 14 добу спостереження практично не змінилась, а на 28 добу експерименту збільшилася відносно здорових щурів на 10 % ($p < 0,05$). Водночас у нелікованих тварин в обидва терміни дослідження мало місце вірогідне зниження в периферичній крові кількості моноцитів відповідно на 29,0 та 61,3 %. Кількість гранулоцитів, навпаки, дещо зросла на 29,5 % ($p < 0,05$) та 8,6 % ($p > 0,05$) відповідно. Разом з цим у нелікованих щурів з АА на 28 добу експерименту спостерігали ознаки анемії, на що вказувало вірогідне зменшення в периферичній крові кількості еритроцитів (на 12 %) та вмісту гемоглобіну (на 33 %) відносно інтактних тварин.

Зазначена динаміка гематологічних показників – прискорення ШОЕ, лейкоцитоз та анемія, згідно з даними літератури [10, 11], може бути ознакою в нелікованих щурів з АА аутоімунного запального процесу, викликаного ад'ювантом Фрейнда.

Курсове лікування щурів з АА сполукою DSK-38, подібно до диклофенаку, сприяло зменшенню запальної реакції. Свідченням цьому була позитивна динаміка більшості гематологічних показників. Перш за все, наприкінці експерименту на тлі сполуки DSK-38 та диклофенаку мало місце вірогідне зниження (2,8 і 2,0 разу відповідно) показника ШОЕ відносно нелікованих тварин. Однак його величина в обох випадках залишалася вірогідно вищою від показника інтактних щурів. За ефективністю в даному випадку спо-

Таблиця

Динаміка показників периферичної крові щурів з ад'ювантним артритом за впливу сполуки DSK-38 та диклофенаку, $M \pm m$

№ групи	Умова дослідження	ШОЕ, мм/год	Лейкоцити, $10^9/\text{л}$	Лімфоцити, %	Моноцити, %	Гранулоцити, %	Еритроцити, $10^{12}/\text{л}$	Гемоглобін, г/л
1	Інтактні щури, 14 доба ($n = 7$)	$5,57 \pm 0,48$	$6,57 \pm 0,51$	$71,16 \pm 2,44$	$12,26 \pm 0,86$	$16,6 \pm 1,64$	$6,36 \pm 0,58$	$162,0 \pm 3,62$
2	Інтактні щури, 28 доба	$5,83 \pm 0,40$	$6,93 \pm 0,75$	$69,90 \pm 1,67$	$13,90 \pm 0,48$	$16,2 \pm 1,24$	$6,78 \pm 0,29$	$158,0 \pm 6,87$
3	Ад'ювантний артрит, 14 доба (контроль, $n = 7$)	$25,30 \pm 2,04^{*1}$	$22,00 \pm 0,70^{*1}$	$69,80 \pm 5,78$	$8,70 \pm 2,57^{*1}$	$21,5 \pm 3,71$	$6,47 \pm 0,28$	$131,0 \pm 9,15^{*1}$
4	Ад'ювантний артрит, 28 доба (контроль, $n = 7$)	$26,50 \pm 1,36^{*2}$	$18,50 \pm 1,29^{*2}$	$77,10 \pm 0,82^{*2}$	$5,38 \pm 0,44^{*2}$	$17,6 \pm 1,14$	$5,97 \pm 0,2^{*2}$	$106,0 \pm 6,53^{*2}$
5	Ад'ювантний артрит + сполука DSK-38 ($n = 7$)	$9,57 \pm 0,65^{*2,4,6}$	$6,91 \pm 0,76^{*4,6}$	$71,50 \pm 2,77^{*4}$	$13,50 \pm 1,56^{*4}$	$15,0 \pm 2,42$	$7,10 \pm 0,19^{*4}$	$156,0 \pm 2,34^{*4}$
6	Ад'ювантний артрит + диклофенак ($n = 6$)	$13,17 \pm 0,95^{*2,4,5}$	$12,73 \pm 0,81^{*4,5}$	$68,5 \pm 2,96^{*4}$	$15,2 \pm 0,53^{*4}$	$16,4 \pm 2,64$	$7,2 \pm 0,24^{*4}$	$153,0 \pm 3,88^{*4}$

Примітка. $^{*}p \leq 0,05$ відносно групи, позначеною цифрою біля зірочки.

лука DSK-38 вірогідно переважала еталонний антифлогістик (таблиця).

На послаблення запального процесу в щурів з АА, лікованих сполукою DSK-38 та диклофенаком, вказувало також зниження лейкоцитозу. При цьому сполука DSK-38 вірогідно переважала еталонний НПЗЗ: концентрація лейкоцитів під їх впливом вірогідно зменшилася наприкінці експерименту на 62,6 та 31,2 % відповідно відносно нелікованих тварин. Слід зазначити, що на тлі похідного хіназоліну, на відміну від диклофенаку, показник кількості лейкоцитів у периферичній крові щурів практично не відрізнявся від показника здорових тварин, у той час, як під дією еталонного антифлогістика він залишався вірогідно більшим на 83,7 % від показника інтактних щурів. На тлі дії сполуки DSK-38, як і диклофенаку, спостерігали нормалізацію в крові вмісту лімфоцитів та моноцитів без суттєвих змін кількості гранулоцитів. Вірогідне зростання на тлі сполуки DSK-38 та диклофенаку показників кількості еритроцитів та гемоглобіну в крові свідчило про усунення ознак анемії (таблиця).

У групі щурів з АА, лікованих сполукою DSK-38, була відсутня летальність, у той час як на тлі диклофенаку одна тварина (14,3 % від загальної кількості щурів у групі) загинула від перфоративної виразки шлунка. Виразковий індекс у групі тварин, лікованих сполукою DSK-38, становив 0,04 проти 0,60 у щурів, які отримували диклофенак, тобто був у 15 разів меншим. Ці дані свідчать про більшу безпечність сполуки DSK-38 порівняно з еталонним НПЗЗ щодо шлунково-кишкового тракту.

Таким чином, на підставі результатів проведеного дослідження можна зазначити, що курсове введення щурам з АА сполуки DSK-38 сприяє нормалізації порушених гематологічних показників подібно до диклофенаку – ШОЕ, кількості лейкоцитів (у тому числі лімфоцитів та моноцитів), еритроцитів та вмісту гемоглобіну в периферичній крові тварин. Це може бути ознакою наявності в сполуки DSK-38, як і в диклофенаку, достатньо виразної протизапальної дії на моделі артриту в щурів. За ступенем терапевтичного

ефекту за АА сполука DSK-38 співставлялася, а часом і переважала еталонний НПЗЗ, зокрема, за нормалізуючим впливом на показники ШОЕ та кількості лейкоцитів у крові.

Недостатня ефективність диклофенаку при АА цілком узгоджується з даними літератури [12, 13] про те, що на тлі класичних НПЗЗ, у тому числі диклофенаку, разом з ослабленням запалення в суглобах, у крові можуть зберігатись, а інколи й погіршуватись гематологічні та біохімічні показники запальної реакції, що, імовірно, є віддзеркаленням спроможності препаратів даної групи викликати дистрофічні та деструктивні зміни у внутрішніх органах, зокрема, у шлунку, нирках та печінці.

Сполуку DSK-38 можна віднести до більш безпечних речовин, ніж диклофенак, відносно ШКТ, що, імовірно, пов'язано з наявністю в сполуки DSK-38, на відміну від еталонного антифлогістика, протиішемічного ефекту [5], як одного з захисних факторів від ушкодження ШКТ.

Результати проведеного дослідження вказують на перспективність поглибленого вивчення фармакологічних властивостей та безпечності сполуки DSK-38 як потенційного НПЗЗ, конкурентоспроможного з диклофенаком.

Висновки

1. Курсове введення щурам з експериментальним артритом сполуки DSK-38 (2 мг/кг, в/о) подібно до диклофенаку (4 мг/кг, в/о) викликає ознаки протизапальної дії за динамікою гематологічних показників.
2. Наприкінці курсу лікування на тлі дії сполуки DSK-38 та диклофенаку мало місце вірогідне зниження ШОЕ в 2,8 та 2,0 разу та концентрації лейкоцитів у крові на 62,6 та 31,2 % відповідно відносно нелікованих тварин. Водночас спостерігали нормалізацію в крові концентрації лімфоцитів і моноцитів без суттєвих змін кількості гранулоцитів.
3. Сполука DSK-38 є більш безпечною речовиною, ніж диклофенак, відносно кишково-шлункового тракту: показник летальності тварин у групі становив 0 % та 14,3 %, відповідно, виразковий індекс – 0,04 та 0,60.

1. Каратеев А. Е. Применение НПВП: Схематический подход / А. Е. Каратеев // Острые и неотложные состояния в практике врача. – 2012. – № 2 (3). – С. 14–16.
2. Нестероїдні протизапальні препарати: їх ефективність і доступність, прийнятність для пацієнта. Фармаконадгляд за безпекою застосування (монографія) / І. С. Чекман, О. П. Вікторов, Н. О. Горчакова [та ін.]. – Київ : Поліграф Плюс, 2011. – 118 с.
3. Литвиненко Г. Л. Пошук та експериментальне вивчення потенційних НПЗЗ серед похідних бензофурану, 1,5-дигідропірол-2-онів та [2,3-д]піримідин-6-карбонових кислот: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук ; спец. 14.03.05 «Фармакологія» / Литвиненко Ганна Леонідівна; ОНМУ. – Одеса, 2014. – 20 с.
4. Порівняльна оцінка анальгетичної дії похідних 4-оксо(аміно)хіназоліну, диклофенаку натрію та кеторолаку на моделі оцтовокислих корчів / А. І. Юрченко, Г. І. Степанюк, С. І. Коваленко, К. П. Шабельник // Клінічна фармакологія та фармакотерапія захворювань у світі доказової медицини: Мат. 7-ї Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнародною участю з клінічної фармакології. – Вінниця, 2013. – С. 135–136.
5. Оцінка церебропротекторної дії похідних (3-*R*-2-оксо-2Н-[1,2,4]тріазино[2,3-с]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.
6. Скринінг анальгетичної активності в ряду похідних (3-*R*-2-оксо-2Н-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл) карбонових кислот / Г. І. Степанюк, Н. Г. Черноіван, С. І. Коваленко [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – № 1 (20). – С. 52–55.
7. Порівняльна оцінка анальгетичного ефекту похідного хіназоліну (сполука DSK-38) та диклофенаку на моделі вісцерального болю / Н. Г. Черноіван, В. В. Гриб, О. М. Дорошенко, Г. І. Степанюк // Клінічна фармація: 20 років в Україні: Мат. Національного конгресу. – Харків, 2013. – С. 236–237.
8. Доклинические исследования лекарственных средств: Методические рекомендации; Стефанов А. В. (ред.). – Киев : Авиценна, 2002. – 528 с.
9. Лапач С. Н. Статистика в науке и бизнесе: Практ. руководство / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – Киев : Морион, 2002. – 640 с.
10. Камышников В. С. О чем говорят медицинские анализы?: Справочное пособие / В. С. Камышников. – Минск : Белорусская наука, 2001. – 189 с.
11. Мелехов М. Г. Влияние никотина на параметры клеточного иммунитета у крыс с адьювант-индуцированным артритом / М. Г. Мелехов, Т. К. Люкова, Т. И. Арефьева // Рос. физиол. журн. – 2006. – Т. 92, № 7. – С. 799–805.
12. Джузенова Б. С. Сравнительная оценка эффективности преднизолона и современных нестероидных противовоспалительных препаратов (вольтарена и индометацина) в терапии острого ревматизма / Джузенова Б. С. // Тер. архив. – 1981. – Т. 53, № 7. – С. 114–118.
13. Ишанкулова Б. А. Влияние ибупрофена при различных путях его введения на течение адьювантного артрита у белых крыс / Б. А. Ишанкулова, Г. Я. Медник // Вопр. клиники, патогенеза и терапии сердечно-сосудистой системы. – Душанбе, 1981. – С. 37–39.

В. В. Гриб, О. М. Дорошенко, Н. В. Заїчко, Н. Г. Степанюк

Порівняльна характеристика впливу натрієвої солі 4-(3-метил-2-оксо-2Н-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл) бутанової кислоти та диклофенаку на динаміку гематологічних показників і безпечність у щурів з ад'ювантним артритом

Мета дослідження – охарактеризувати вплив натрієвої солі 4-(3-метил-2-оксо-2Н-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл) бутанової кислоти (сполуки DSK-38) на перебіг ад'ювантного артриту в щурів за динамікою гематологічних показників та її безпечність порівняно з диклофенаком.

Встановлено, що курсове введення щурам з експериментальним артритом сполуки DSK-38 (2 мг/кг, в/о) подібно до диклофенаку (4 мг/кг, в/о) сприяє зменшенню ознак запальної реакції. На це вказувало вірогідне зниження на тлі обох речовин ШОЕ, нормалізація показників умісту формених елементів крові, усунення ознак анемії. При цьому за ступенем лікувального ефекту при ад'ювантному артриті сполука DSK-38 була співставною, а подекуди й переважала еталонний антифлогістик, зокрема, за спроможністю нормалізувати показники ШОЕ та кількості лейкоцитів. За показниками ульцерогенності сполука DSK-38 виявилася більш безпечною речовиною порівняно з диклофенаком.

Результати проведеного дослідження вказують на перспективність поглибленого вивчення фармакологічних властивостей та безпечності сполуки DSK-38 як потенційного НПЗЗ, конкуренто-спроможного з диклофенаком.

Ключові слова: натрієва сіль 4-(3-метил-2-оксо-2Н-[1,2,4]тріазино[2,3-с]хіназолін-6-іл) бутанової кислоти, диклофенак, ад'ювантний артрит, гематологічні показники

В. В. Гриб, Е. Н. Дорошенко, Н. В. Заичко, Н. Г. Степанюк
Сравнительная характеристика влияния натриевой соли 4-(3-метил-2-оксо-2Н-[1,2,4]триазино[2,3-с]хиназолин-6-ил) бутановой кислоты и диклофенака на динамику гематологических показателей и безопасность у крыс с адьювантным артритом

Цель исследования – охарактеризовать влияние натриевой соли 4-(3-метил-2-оксо-2Н-[1,2,4]триазино[2,3-с]хиназолин-6-ил) бутановой кислоты (соединения DSK-38) на течение адьювантно-го артрита у крыс по динамике гематологических показателей и ее безопасность по сравнению с диклофенаком.

Установлено, что курсовое введение крысам с экспериментальным артритом соединения DSK-38 (2 мг/кг, внутривбрюшинно, в/б), также как и диклофенака (4 мг/кг, в/б), способствует ослаблению признаков воспалительной реакции. На это указывали статистически значимое снижение на фоне обоих веществ СОЭ, нормализация показателей содержания форменных элементов в крови, устранение признаков анемии. При этом по степени лечебного эффекта при адьювантном артрите соединение DSK-38 было сопоставимо, а иногда и превышало эталонный антифлогистик, в частности, по способности нормализовать показатели СОЭ и количества лейкоцитов. По показателям ulcerогенности соединение DSK-38 оказалось более безопасным веществом по сравнению с диклофенаком.

Результаты проведенного исследования указывают на перспективность углубленного изучения фармакологических свойств и безопасности соединения DSK-38 как потенциального НПВС, конкурентоспособного с диклофенаком.

Ключевые слова: натриевая соль 4-(3-метил-2-оксо-2Н-[1,2,4]триазино[2,3-с]хиназолин-6-ил) бутановой кислоты, диклофенак, адьювантный артрит, гематологические показатели

V. V. Grib, E. N. Doroshenko, N. V. Zaichko, N. G. Stepanyuk
Comparative characteristics of the sodium salt of of 4-(3-methyl-2-oxo-2H-[1,2,4] triazino [2,3-c] quinazolin-6-yl) butyric acid (compound DSK-38) and diclofenac effects on hematological parameters and safety in rats with adjuvant arthritis

The aim of study was to characterize the effect of the sodium salt of 4-(3-methyl-2-oxo-2H-[1,2,4] triazino[2,3-c] quinazolin-6-yl) butyric acid (compound 38-DSK) on the course of adjuvant arthritis in rats by the dynamics of hematological parameters and safety compared with diclofenac.

It was founded that the course administration of compound DSK-38 (2 mg/kg i/p) as diclofenac (4 mg/kg i/p) to rats with experimental arthritis promotes to reduce symptoms of the inflammatory response. This is indicated by a statistically significant decrease of erythrocyte sedimentation rate on the background of both substances, normalization of blood cells count, eliminating the symptoms of anemia. By degree of therapeutic effect under adjuvant arthritis the compound DSK-38 was equal or superior the reference antiphlogistics, in particular, by the ability to normalize such parameters as erythrocyte sedimentation rate and white blood cell count.

The results of the study point to the prospect of in-depth study of the pharmacological properties and safety DSK-38 as a potential NSAID, competitive compered to diclofenac.

Key words: sodium salt of of 4-(3-methyl-2-oxo-2H- [1,2,4] triazino [2,3-c] quinazolin -6-yl) butyric acid (compound DSK-38), diclofenac, adjuvant arthritis, hematological parameters

Надійшла: 9 вересня 2015 р.

Контактна особа: Степанюк Наталія Георгіївна, доктор медичних наук, доцент, кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет імені Пирогова, буд. 56, вул. Пирогова, м. Вінниця, 21018. Тел.: + 38 0 67 737 75 84.
Електронна пошта: pharmacology@vnmu.edu.ua

Д. О. Дринь¹, М. І. Мельник², І. В. Кізуб²,
О. В. Жолос^{1,3}, А. І. Соловйов²

Взаємодія каналів транз'єнтного рецепторного потенціалу (TRPV4) і кальцій-активованих калієвих каналів (BK_{Ca}) у регуляції судинного тонусу легеневиx артерій щура

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка

²ДУ «Інститут фармакології та токсикології Національної академії медичних наук України», м. Київ

³Інститут фізіології імені О. О. Богомольця Національної академії наук України, м. Київ

Ключові слова: іонні канали, канали транз'єнтного рецепторного потенціалу, TRPV4, кальцій-активовані калієві канали, р'анодинові рецептори, гладенькі м'язи, легеневі артерії

У судинах експресуються декілька представників суперсімейства неселективних Ca²⁺-проникних катіонних (НСКК) TRP-каналів (канали транз'єнтного рецепторного потенціалу), зокрема, підродина ванілоїдних рецепторів TRPV. TRP-канали – це полімодальні сенсорні та рецептор-керовані канали клітин, що за кількістю різних підтипів у клітинах організму ссавців поступаються лише потенціал-залежним калієвим каналам. Ці канали опосередковують неоптенціалзалежний вхід Ca²⁺ та відповідні функції, що забезпечують комунікацію між м'язовими клітинами та ендотелієм судин. Вони регулюються та активуються великою кількістю стимулів, як фізичних (температура, тиск, механічні стимули, зміна осмотичності та pH), так і хімічних (ліпіди, вторинні посередники тощо). Таким чином, у збудливих і незбудливих типах клітин вони відповідають за такі фізіологічні функції, як ноцицепція, відчуття змін осмотичності та термічного болю, секреція, проліферація, рецептор-керований вхід кальцію, регуляцію альвеол, міграційний рух клітин, редокс-сенсору, м'язове скорочення, сприйняття кислого, солодкого та гіркого смаку тощо [1–3].

TRP-канали класифікують за гомологією послідовностей амінокислот на шість підродин: TRPC («canonical»), TRPM («melastatin»), TRPV («vanilloid»), TRPA («ankyrin»), TRPML («mucolipin»), TRPP («polycystin»). Усі канали мають будову, подібну до потенціал-залежних калієвих каналів (K_V), тобто вони мають тетрамерну будову, а кожна окрема субдиниця містить 6 трансмембранних сегментів (S1–S6) з внутрішньоклітинними N- і C-кінцями. Між п'ятим (S5) та шостим (S6) сегментом розміщується так звана P-петля та пора каналу [4].

Підродина TRPV включає шість представників, TRPV1–TRPV6, серед яких є термо-, механо- та хемочутливі канали [11]. Зокрема, показана функціональна експресія TRPV4 іонних каналів у гладеньком'язових клітинах (ГМК) та ендотелії кровоносних судин, де вони беруть участь у фізіологічній регуляції тонусу судин; відповідно при їхній дисфункції виникають патологічні стани [5].

TRPV4 широко експресуються в серці, артеріях, легенях, шкірі, кістках, мозку, сечовому міхурі, кишечнику, печінці тощо [6]. Канал реагує на осмотичні зміни в навколишньому середовищі клітини шляхом збільшення або пригнічення своєї активності в гіпотонічних і гіпертонічних розчинах відповідно, сприяючи тим самим клітинному та системному гомеостазу об'єму рідини в організмі. Також TRPV4 реагує на механічні подразники та помірні теплові стимули (24–38 °C). За біофізичними показниками проник-

ність для іонів Ca^{2+} , Mg^{2+} , Ba^{2+} , Sr^{2+} у TRPV4 майже однакова, але за фізіологічних умов іони Ca^{2+} є найпроникнішими через цей канал [7]. Відомо, що TRPV4 регулюють судинний тонус. У мишей з нокаутними генами TRPV4-каналів на фоні гіпоксії значно пригнічувався розвиток легеневої гіпертензії, гіпертрофії правого шлуночка і ремоделювання судин (зменшення розміру судин) [8–10], тому можна зробити висновок, що TRPV4 можуть мати важливе значення в сигнальному каскаді розвитку легеневої гіпертензії при гіпоксії.

Мета дослідження – з'ясувати участь TRPV4-каналів у кальцієвій сигналізації, скоротливих реакціях судин та регуляції судинного тонуусу в легених артеріях щура.

Матеріали та методи. В експериментах використовували щурів-самців лінії Wistar середньою вагою 180–200 г. Тварин утримували в стандартних умовах експериментальної клініки ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України». Усі роботи проводили відповідно до конвенції Ради Європи щодо захисту хребетних тварин, яких використовують у наукових цілях, та були ухвалені Комітетом з етики.

Виділення ізольованих препаратів легеневої артерії щурів. Досліди проводили на ізольованих кільцевих препаратах основних легених артерій (ОЛА). Після попередньої анестезії (кетамін – 45 мг/кг, ксилазин – 10 мг/кг) тварини були евтаназовані шляхом декапітації з наступним знекровленням. Після цього розтинали грудну клітку, вилучали разом легені, серце й аорту та відмивали тканини від крові. Під бінокулярним мікроскопом виділяли ОЛА та нарізали їх на кільця з внутрішнім діаметром 0,9–1,5 мм та шириною 1 мм.

Для препарування кілець ОЛА та для проведення дослідів використовували модифікований розчин Кребса (у ммоль/л): 133,0 NaCl, 16,3 NaHCO_3 , 1,38 NaH_2PO_4 , 4,7 KCl, 1,05 MgCl_2 , 11,5 глюкози, 2,73 CaCl_2 , 10 HEPES; pH = 7,4.

Реєстрація скоротливої активності. Скоротливі реакції гладеньких м'язів досліджували в ізометричному режимі

з використанням методу тензометричної реєстрації за допомогою ємнісних датчиків напруження та комп'ютерної програми LabScribe 2 (World Precision Instrument Inc., США). Відпрепаровані судинні препарати розміщували в проточній камері об'ємом 0,5 мл, у якій підтримували температуру 37 °С. Судинні препарати закріплювали на двох сталевих гачках, один з яких був стаціонарно вмонтований до стінки камери, а інший поєднаний зі штоком тензодатчика. Для отримання оптимальної сили скорочення судинні сегменти підлягали попередньому пасивному розтягненню з силою приблизно 0,5 г. Препарати ОЛА перфузували розчином Кребса зі сталою швидкістю протікання 1,5 мл/хв за допомогою 4-канального перистальтичного насоса IPS ISM 930 «Ismatec» (Німеччина).

Для оцінки функціонального стану судин та досягнення їхніх оптимальних скоротливих відповідей до початку експерименту судинні препарати періодично стимулювали гіперкалієвим розчином (ГК) (K^+ 60 ммоль/л). Для визначення ефекту дії селективного агоніста TRPV4 каналів (N-((1S)-1-[[4-((2S)-2-[[2,4-дигідрофеніл]сульфаніл]аміно]-3-гідроксіпропаноїл]-1-піперазиніл]карбоніл)-3-метилбутил)-1-бензотіофен-2-карбоксамід (GSK1016790A) на скоротливу активність гладеньких м'язів ОЛА застосовували аплікацію даної речовини в концентрації 0,3 мкмоль/л на судинні препарати за умови їхнього попереднього скорочення агоністом α -адреноцепторів фенілефрином (ФЕ) (10 мкмоль/л). Вазодилатацію та вазоконстрикцію виражали у відсотках від скорочення, викликаного ФЕ. Для блокування VK_{Ca} -каналів додавали їхній селективний блокатор паксилін (0,5 мкмоль/л). Аплікацію всіх застосованих хімічних речовин здійснювали за допомогою перфузійної системи.

Статистична обробка результатів. Усі експериментальні дані наведено у вигляді середнього арифметичного (M) та стандартної похибки середнього арифметичного (m) для певної вибірки (n). Достовірність визначали за t-критерієм Ст'юдента. Усі розрахунки проводили з використанням комп'ютерної

програми OriginPro 7.5 (Microcal Software Inc., США).

Результати та їх обговорення. У попередніх дослідженнях було показано, що аплікація агоніста TRPV4 каналів GSK1016790A (0,3 мкмоль/л) викликає двофазну скоротливу відповідь ізольованих препаратів ОЛА, попередньо скорочених ФЕ (10 мкмоль/л). Ця двофазна скоротлива відповідь складалася з початкової транзиторної фази розслаблення та наступної тоничної фази скорочення (рис. 1 та 2).

Визначальним є місце експресії TRPV4-каналів у судинному руслі, оскільки залежно від цього можуть виникати різні судинні реакції. Наприклад, у системних судинах їхня активація призводить до вазорелаксації (мезентеріальні артерії, церебральні артерії) [11], а у внутрішньолегеневих артеріях, навпаки, до вазоконстрикції [12, 13]. Нами вперше була показана двофазна скоротлива відповідь внаслідок

активації даних каналів в одному й тому самому типі судин – ОЛА. Але ще досі залишається не з'ясованим механізм такої складної відповіді на активатор Ca^{2+} -проникного іонного каналу. У церебральних артеріях щурів TRPV4, ріанодинові рецептори (RyR) і BK_{Ca} -канали утворюють єдиний функціональний кальцієвий сигнальний комплекс, у якому внаслідок активації TRPV4 ендотеліальним фактором – метаболітом арахідонової кислоти 11,12 EET – вхід Ca^{2+} через ці канали активує локальне Ca^{2+} -індуковане вивільнення Ca^{2+} з саркоплазматичного ретикулу (Ca²⁺ sparks) через RyR. Унаслідок цього активуються близько розташовані BK_{Ca} -канали, що призводить до активації спонтанних транзйентних вихідних струмів (STOCs), а це в свою чергу викликає гіперполяризацію мембрани ГМК і відповідно розслаблення церебральних артерій [11]. Тому ми припустили, що активація аналогічно-

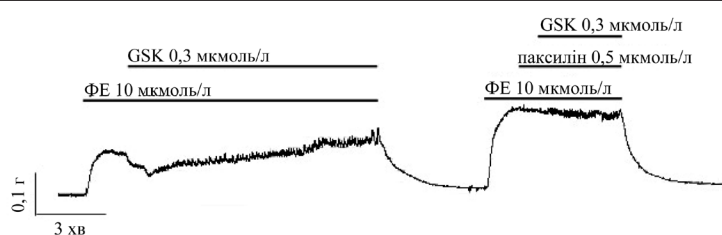


Рис. 1. Оригінальна міограма скоротливої активності гладеньких м'язів основної легеневої артерії, попередньо скорочених фенілефрином (10 мкмоль/л), під час активації TRPV4-каналів агоністом GSK1016790A (0,3 мкмоль/л) до та після блокування BK_{Ca} -каналів паксиліном (0,5 мкмоль/л)

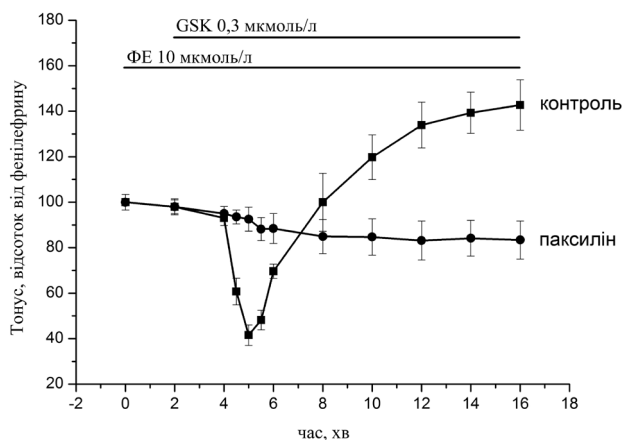


Рис. 2. Порівняльний аналіз дії агоніста TRPV4-каналів GSK1016790A (0,3 мкмоль/л) на попередньо скорочені фенілефрином (10 мкмоль/л) гладенькі м'язи основної легеневої артерії в контролі (квадрати, $n = 8$) та в присутності селективного блокатора BK_{Ca} -каналів паксиліну (0,5 мкмоль/л) (кружки, $n = 8$)

го сигнального каскаду може відповідати за виникнення початкової транзиторної фази розслаблення в ОЛА при активації TRPV4 у цих судинах.

Для перевірки цієї гіпотези було проведено блокування BK_{Ca} -каналів їхнім селективним блокатором паксиліном (0,5 мкмоль/л).

Статистичний аналіз отриманих результатів наведено на рисунку 3. Проведені експерименти свідчать про вагому функціональну роль TRPV4-каналів у гладеньком'язових клітинах ОЛА, зокрема, у регуляції одного з компонентів симпатичної вазоконстрикції легеневих судин.

Відомо, що за фізіологічних умов BK_{Ca} -канали в клітинах гладеньких м'язів активуються високолокалізованими Ca^{2+} -спарками (короткотривалими транзйєнтними вивільненнями кальцію з СР через RyR) [12, 14]. У свою чергу, відкривання BK_{Ca} -каналів викликають транзйєнтну гіперполяризацію мембрани, що спричиняє деактивацію потенціал-керованих Ca^{2+} -каналів та вазодилатацію. Таким чином, викликана GSK початкова фаза вазодилатації може бути пояснена генерацією Ca^{2+} -спарків внаслідок входу Ca^{2+} через TRPV4-канали, що в свою чергу активує близько розташовані RyR, тоді як

Ca^{2+} -спарки активують BK_{Ca} -канали, спричиняючи гіперполяризацію мембрани та вазодилатацію. Імовірність відкритого стану (NP_0) RyR-рецепторів СР збільшується завдяки одночасному підвищенню концентрації цитоплазматичного $[\text{Ca}^{2+}]_i$ та завантаження вільного Ca^{2+} у СР, що у свою чергу підсилює активність Ca^{2+} -спарків у гладеньких м'язах судин. Також відомо про три різних типи RyR-рецепторів СР: RyR1, RyR2, RyR3. Вони класифікуються за різним розташуванням у СР відносно плазматичної мембрани, центральних регіонів клітини та ядра. У гладеньких м'язах легеневих судин RyR2 СР експресуються найближче до скоротливого апарату клітини. Так, було виявлено [12, 14–16], що саме взаємодія TRPV4 та RyR2-рецепторів впливає на підвищення концентрації цитоплазматичного $[\text{Ca}^{2+}]_i$.

Таким чином, вхід Ca^{2+} через TRPV4-канали може стимулювати вивільнення кальцію через RyR2 СР шляхом або прямого впливу, та/або через збільшення завантаження іонів Ca^{2+} у внутрішньоклітинні Ca^{2+} -депо, що прискорює генерацію Ca^{2+} -спарків. Результати нашої роботи підкреслюють важливу роль у регуляції тонуусу судин сигналоплекса, що складається з тріади TRPV4/RyR/ BK_{Ca} , який був раніше ідентифікований в церебральних артеріях [11]. Результати дослідження показали, що такі механізми регуляції тонуусу судин за участю TRPV4 існують не тільки в церебральних артеріях при дії факторів ендотеліального походження [11], а й у легеневих артеріях при активації адренорецепторів.

Висновки

Селективний блокатор BK_{Ca} -каналів, паксилін, пригнічує двофазну скоротливу відповідь гладеньких м'язів легеневих артерій на агоніст TRPV4-каналів, GSK1016790A. Це підтверджує важливу роль TRPV4-каналів у регуляції судинного тонуусу, зокрема, одного з компонентів симпатичної вазоконстрикції, і також їхню функціональну взаємодію з BK_{Ca} -каналами плазматичної мембрани гладеньком'язової клітини.

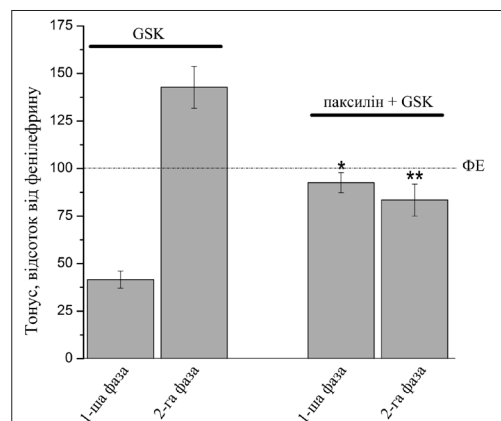


Рис. 3. Пригнічуюча дія селективного блокатора BK_{Ca} -каналів паксиліну (0,5 мкмоль/л) на двофазну скоротливу відповідь, викликану агоністом TRPV4-каналів GSK1016790A (0,3 мкмоль/л) на фоні фенілефрину (10 мкмоль/л)

Примітка. $n = 8$; * $P < 0,01$ відносно даної фази скорочення за відсутності паксиліну; ** $P < 0,05$ відносно даної фази скорочення за відсутності паксиліну.

1. Molecular determinants of permeation through the cation channel TRPV4 / Voets T, Prenen J, Vriens J. [et al.] // J. Biol. Chem. – 2002. – V. 277, № 37. – P. 33704–33710.
2. TRP channels / Gees M, Owsianik G, Nilius B. [et al.] // Comp. Physiol. – 2012. – V. 2, № 1. – P. 563–608.
3. Nilius B. The transient receptor potential family of ion channels / Nilius B., Owsianik G. // Genome Biol. – 2011. – V. 12, № 3. – P. 218–229.
4. Clapham D. E. TRP channels as cellular sensors / Clapham D. E. // Nature. – 2003. – V. 426. – P. 517–524.
5. Portal osmopressor mechanism linked to transient receptor potential vanilloid 4 and blood pressure control / McHugh J., Keller N. R., Appalsamy M. [et al.] // Hypertension. – 2010. – V. 55. – P. 1438–1443.
6. Everaerts W. The vanilloid transient receptor potential channel TRPV4: from structure to disease / Everaerts W., Nilius B., Owsianik G. // Prog Biophys Mol Biol. – 2010. – V. 103. – P. 2–17.
7. Differential activation of the volume-sensitive cation channel TRP12 (OTRPC4) and volume-regulated anion currents in HEK-293 cells / Nilius B., Prenen J., Wissenbach U. [et al.] // Pflugers Arch. – 2001. – V. 443. – P. 227–233.
8. Upregulation of osmo-mechanosensitive TRPV4-channel facilitates chronic hypoxia-induced myogenic tone and pulmonary hypertension / Yang X. R., Lin A. H., Hughes J. M. [et al.] // Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. – 2012. – V. 302. – P. 555–568.
9. Nilius B. The puzzle of TRPV4 channelopathies / Nilius B., Voets T. // EMBO Rep. – 2013. – V. 14, № 2. – P. 152–163.
10. Nilius B. TRP channels in disease / Nilius B. // Biochim Biophys Acta. – 2007. – V. 1772. – P. 805–812.
11. TRPV4 Forms a Novel Ca^{2+} -Signaling Complex With Ryanodine Receptors and BKCa-Channels / Earley S., Heppner T. J., Nelson M. T. [et al.] // Circulation Research. – 2005. – V. 9, № 23. – P. 1270–1279.
12. Implication of the ryanodine receptor in TRPV4-induced calcium response in pulmonary arterial smooth muscle cells from normoxic and chronically hypoxic rats / Dahan D., Ducret T., Quignard J.-F. [et al.] // Am J. Physiol Lung Cell Mol Physiol. – 2012. – V. 303. – P. 824–833.
13. TRPV4-channel contributes to serotonin-induced pulmonary vasoconstriction and the enhanced vascular reactivity in chronic hypoxic pulmonary hypertension / Xia Y., Fu Z., Hu J. [et al.] // Am J Physiol Cell Physiol. – 2013. – V. 305. – P. 704–715.
14. The influence of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -concentration on Ca^{2+} -sparks and spontaneous transient outward currents in single smooth muscle cells / ZhuGe R., Tuft R. A., Fogarty K. E. [et al.] // J Gen Physiol. – 1999. – V. 113. – P. 215–228.
15. Relaxation of arterial smooth muscle by calcium sparks / Nelson M. T., Cheng H., Rubart M. [et al.] // Science. – 1995. – V. 270. – P. 633–637.
16. Herrmann-Frank A. Functional characterization of the Ca^{2+} -gated Ca^{2+} release channel of vascular smooth muscle sarcoplasmic reticulum / Herrmann-Frank A., Darling E., Meissner G. // Pflugers Arch. – 1991. – V. 418. – P. 353–359.

Д. О. Дринь, М. І. Мельник, І. В. Кізуб, О. В. Жолос, А. І. Соловійов
Взаємодія каналів транзйентного рецепторного потенціалу (TRPV4)
і кальцій-активованих калієвих каналів (BK_{Ca}) у регуляції судинного тону
легеневих артерій щура

Білки TRPV4 утворюють Ca^{2+} -проникні неселективні катіонні канали, які широко експресовані як у збудливих, так і незбудливих клітинах різних тканин, таких як серце, кровеносні судини, шкіра, кістки, легені, головний мозок, сечовий міхур, кишечник та ін. TRPV4-канали – це полімодальні сенсори клітин, так як вони реагують на різні фізичні (наприклад, осмотичні зміни, механічні подразники та помірно тепло (24–38 °C) і хімічні чинники. Вони мають схожу проникність для Ca^{2+} , Mg^{2+} , Ba^{2+} , Sr^{2+} , але в фізіологічних умовах в основному вони проникні для Na^{+} і Ca^{2+} , що призводить до деполяризації мембрани клітини та збільшення вільної концентрації внутрішньоклітинного Ca^{2+} ; ці події відіграють важливу роль у скороченні гладеньких м'язів судин. Ряд патологій пов'язані з дисфункцією TRPV4-каналів. Наприклад, ці канали надлишково експресуються в легеневій артерії при хронічній гіпоксично-індукованій легеневій гіпертензії. Дослідження TRPV4-каналів вважається перспективним напрямом фармакологічної корекції патологічних станів. Добре відомо, що TRPV4 модулює реакції мозкових артерій на ендотеліальні фактори, такі як метаболіт арахідонової кислоти 11,12 EET, але його роль в інших руслах судин та судинних реакцій залишається невідомою.

Мета дослідження – виявити роль TRPV4-каналів у сигналізації кальцію й пов'язані скоротливі відповіді в легеневих артеріях щура.

За допомогою методу тензометричної реєстрації скоротливої активності ізольованих судинних гладком'язових кілець показано інгібування скоротливої двофазної реакції селективним блокаторм BK_{Ca} -каналу паксиліном (0,5 мкмоль/л) на дію селективного агоніста TRPV4-каналу, GSK1016790A (0,3 мкмоль/л), попередньо скороченим фенілефрином (Фе, 10 мкМ).

Результати показують наявність функціональної взаємодії між TRPV4 і BK_{Ca} -каналами в гладеньком'язових клітинах легеневій артерії щурів, і вказують на їхню причетність до регуляції симпатичної вазоконстрикції.

Ключові слова: іонні канали, канали транзйентного рецепторного потенціалу, TRPV4, BK_{Ca} -канали, RyR -рецептори, гладенькі м'язи, легеневі артерії

Дрынь Д. О., Мельник М. И., Кизуб И. В., Жолос А. В., Соловьев А. И.
Взаимодействие каналов транзистентного рецепторного потенцiала (TRPV4)
и кальций-активированных калиевых каналов в (BK_{Ca}) регуляцiи сосудистого
тонуса легочных артерий крысы

Белки TRPV4 образуют Ca²⁺-проницаемые неселективные катионные каналы, которые широко экспрессированы как в возбудимых, так и невозбудимых клетках различных тканей, таких как сердце, кровеносные сосуды, кожа, кости, легкие, головной мозг, мочевого пузыря, кишечника и т.д. TRPV4-каналы – это полимодальные сенсоры клеток, так как они реагируют на различные физические (например, осмотические изменения, механические раздражители и умеренное тепло (24–38 °C)) и химические факторы. Они имеют схожую проницаемость для Ca²⁺, Mg²⁺, Ba²⁺, Sr²⁺, но в физиологических условиях они проницаемы в основном для Na⁺ и Ca²⁺, что приводит к деполяризации мембраны клетки и увеличению концентрации свободного внутриклеточного Ca²⁺; эти события играют важную роль в сокращении гладких мышц сосудов. Ряд патологий связан с дисфункцией TRPV4-каналов. Например, эти каналы избыточно экспрессируются в легочной артерии при хронической гипоксически-индуцированной легочной гипертензии. Исследование TRPV4-каналов считается перспективным направлением фармакологической коррекции патологических состояний. Хорошо известно, что TRPV4 модулирует реакции мозговых артерий на эндотелиальные факторы, такие как метаболит арахидоновой кислоты 11, 12 EET, но его роль в других руслах сосудов и сосудистых реакциях остается неизвестным.

Цель исследования – выявить роль TRPV4-каналов в сигнализации кальция и связанные сократительные ответы в легочных артериях крысы.

С помощью метода тензометрической регистрации сократительной активности изолированных сосудистых гладкомышечных колец показано ингибирование сократительной двухфазной реакции селективным блокатором BK_{Ca}-канала паксилином (0,5 мкмоль/л) на действие селективного агониста TRPV4-канала, GSK1016790A (0,3 мкмоль/л), предварительно сокращенных фенилэфрином (ФЭ, 10,0 мкмоль/л),

Результаты показывают наличие функционального взаимодействия между TRPV4 и BK_{Ca}-каналами в гладкомышечных клетках легочной артерии крыс и указывают на его причастность к регуляции симпатической вазоконстрикции.

Ключевые слова: ионные каналы, каналы транзистентного рецепторного потенцiала, TRPV4, BK_{Ca}-каналы, RyR-рецепторы, гладкие мышцы, легочные артерии

Dryn D., Melnyk M., Kizub I., Zholos A., Soloviev A.
Interaction of TRPV4 and BK_{Ca} channels in the regulation of vascular tone
of rat pulmonary arteries

TRPV4 proteins form Ca²⁺-permeable nonselective cationic channels which are widely expressed in both excitable and non-excitable cells in various tissues, such as heart, blood vessels, skin, bones, lungs, brain, bladder, intestines, etc. TRPV4-channels are considered to be polymodal sensors of cells, since they respond to various physical (e.g. osmotic changes, mechanical stimuli and moderately warm (24–38 °C) temperatures) and chemical factors. They have similar permeability for Ca²⁺, Mg²⁺, Ba²⁺, Sr²⁺, but under physiological conditions they mainly admit Na⁺ and Ca²⁺ into the cells, thus causing membrane depolarization and an increase in the free intracellular Ca²⁺ concentration; these events both play an important role in vasculature smooth muscle contraction. A number of pathologies are associated with the dysfunction of TRPV4-channels. For example, these channels are overexpressed in the pulmonary arteries under chronic hypoxic-induced pulmonary hypertension. TRPV4 is therefore considered as a promising target for pharmacological correction of pathological states. It is well established that TRPV4 modulates responses of cerebral arteries to endothelial factors, such as arachidonic acid metabolite 11, 12 EET, but its role in other vascular beds and in other types of vascular responses remains unknown.

The aim of our study was to reveal the role of TRPV4-channels in calcium signaling and associated contractile responses of rat pulmonary arteries.

Using the method of tensometric recording of contractile activity of isolated vascular smooth muscle rings we have shown inhibition of the biphasic contractile response to the selective TRPV4-channel agonist GSK1016790A (0,3 μM), previously contracted by phenylephrine (PhE, 10,0 μM), by the selective blocker of BK_{Ca}-channel paxilline (0,5 μM).

The results show the presence of a functional interaction between TRPV4 and BK_{Ca}-channels in smooth muscle cells of the rat pulmonary artery, and indicate its involvement in the regulation of the sympathetic vasoconstriction.

Key words: ion channels, transient receptor potential (TRP) channels, TRPV4, BK_{Ca}-channels, RyR, smooth muscle, pulmonary artery

Ндійшла: 22 вересня 2015 р.

Контактна особа: Мельник Марія Ігорівна, провідний інженер, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Єжена Потьє, м. Київ, 03680. Тел: + 38 0 93 919 26 21.
Електронна пошта: gribovamari@gmail.com

М. Л. Дронова, З. С. Суворова

Антимікробна активність 1-[4-(1,1,3,3-тетраметилбутил)фенокси]-3-(п-бензилгексаметиленіміній)-2-пропанолу хлориду

ДУ «Інститут фармакології та токсикології
Національної академії медичних наук України», м. Київ

Ключові слова: антибактеріальна активність, антифунгальна дія, похідні арилаліфатичних аміноспиртів

Недостатня ефективність антибіотикотерапії є однією з основних причин летальності пацієнтів від інфекційних захворювань. Так, якнайменше 50 000 осіб лише в європейських країнах і США та сотні тисяч людей у інших країнах щороку помирають від хвороб, обумовлених резистентними до дії антимікробних препаратів мікроорганізмами [1]. Сьогодні особливо небезпечними є бактерії, здатні продукувати β -лактамази широкого та розширеного спектра, метицилін-резистентний стафілокок (MRSA), а також ванкоміцин-резистентний ентерокок (VRE), оскільки ці збудники характеризуються стійкістю до більшості сучасних антимікробних препаратів [2]. Так, у дослідженні щодо визначення чутливості *Escherichia coli* до антибіотиків, яке проведене в різних країнах світу, встановлено, що рівень резистентності до цефалоспоринів III покоління та фторхінолонів значний і знаходиться в межах 68–95 та 48–89 % відповідно залежно від регіону.

Останніми роками відмічається зростання кількості мікозів, спричинених дріжджоподібними грибами, дерматоміцетами та мікроміцетами. Серед цих збудників також виявлені штами, резистентні до дії сучасних антифунгальних препаратів. Так, серед штамів *Candida non-albicans* 22 % є нечутливими до 5-флуорцитозину [3], зростає частота виділення штамів *Aspergillus fumigatus*, стійких до азолів [4].

Одним із шляхів боротьби з резистентністю мікроорганізмів є пошук нових сполук з антимікробною дією, особливо серед нових хімічних класів,

які самостійно або в складі комбінованої хіміотерапії не використовувалися в клінічній практиці. У цьому плані перспективними є похідні арилаліфатичних аміноспиртів, оскільки ці сполуки проявляють широкий спектр біологічної активності, у тому числі й антимікробні властивості [5].

Мета дослідження – визначення антибактеріальної та антифунгальної активності та широти спектра похідного арилаліфатичних аміноспиртів 1-[4-(1,1,3,3-тетраметилбутил)фенокси]-3-(N-бензилгексаметиленіміній)-2-пропанолу хлориду.

Матеріали та методи. Антимікробну дію похідного арилаліфатичних аміноспиртів визначали методом серійних розведень у рідких поживних середовищах і оцінювали за показником мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) [6–8]. Антибактеріальну та антифунгальну активність сполуки порівнювали з даними МІК антимікробних препаратів, рекомендованих до клінічного застосування. Дослідження проведено відносно грампозитивних та грамнегативних аеробних та анаеробних бактерій та грибів (дріжджоподібних, дерматоміцетів, мікроміцетів). Сполука 1-[4-(1,1,3,3-тетраметилбутил)фенокси]-3-(N-бензилгексаметиленіміній)-2-пропанолу хлорид (КВМ-194) синтезована в Інституті органічної хімії НАН України кандидатом фарм. наук Ю. В. Коротким.

Результати та їх обговорення. При дослідженні антимікробної дії сполуки КВМ-194 встановлено, що похідне арилаліфатичних аміноспиртів пригнічує ріст та розмноження як бактерій, так і грибів.

Отримані дані наведено в таблицях 1 і 2.

Таблиця 1

Антибактеріальна активність 1-[4-(1,1,3,3-тетраметилбутил)фенокси]-3-(N-бензилгексаметиленімін)-2-пропанолу хлориду (КВМ-194)

Мікроорганізми	Мінімальна інгібуюча концентрація, мкг/мл			
	Сполука КВМ-194	Лінезолід [6, 9–11]	Ванкоміцин [6, 10, 12–14]	Азтреонам [6, 10]
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1,25	≤ 4,0	≤ 2,0	–
<i>S. epidermidis</i> 14190	2,5	≤ 2,0	≤ 4,0	–
<i>M. luteus</i> ATCC 3941	0,2	≤ 1,0	≤ 2,0*	–
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	5,0	≤ 1,0*	≤ 0,5*	–
<i>Bacillus cereus</i> var. <i>mycoides</i>	6,25	≤ 2,0	≤ 4,0	–
<i>B. megaterium</i> ATCC 14581	12,5	≤ 2,0*	≤ 4,0	–
<i>B. mesentericus</i> ATCC 6632	0,78	≤ 2,0*	≤ 4,0	–
<i>B. polymyxa</i> NCTC 4747	3,12	≤ 2,0*	≤ 4,0	–
<i>B. thuringiensis</i> ATCC 19266	3,12	≤ 2,0*	≤ 4,0	–
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	3,12	≤ 2,0*	≤ 4,0	–
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 19404	6,25	≤ 8,0*	≤ 4,0	–
<i>C. perfringens</i>	6,25	≤ 2,0	≤ 1,0	–
<i>E. coli</i> ATCC 25922	15,0	–	–	≤ 0,25
<i>Salmonella paratyphi</i> A 510	5,0	–	–	≤ 0,5
<i>Pseudomonas putida</i> 4126	3,12	–	–	≤ 8,0*
<i>P. syringae</i>	2,5	–	–	≤ 8,0*
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	30,0	–	–	≤ 8,0

Примітка. «–» – дані відсутні; «≤» – менше або дорівнює наведеному значенню; *дані щодо виду відсутні, указано узагальнені дані щодо чутливості відповідного роду бактерій.

Таблиця 2

Антифунгальна активність 1-[4-(1,1,3,3-тетраметилбутил)фенокси]-3-(N-бензил гексаметиленімін)-2-пропанолу хлориду (КВМ-194)

Мікроорганізми	Мінімальна інгібуюча концентрація, мкг/мл		
	Сполука КВМ-194	Амфотерицин В [10, 15]	Флуконазол [15–17]
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	1,0	≤ 2,0	≤ 2,0
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	5,0	≤ 4,0	≤ 2,0
<i>C. glabrata</i> ATCC 2001	10,0	≤ 1,0	≤ 32,0
<i>C. tropicalis</i> ATCC 750	7,5	≤ 2,0	≤ 4,0
<i>C. utilis</i> ЛИА-1	7,5	–	–
<i>Aspergillus niger</i> 474	50,0	≤ 5,0	> 64,0
<i>Paecilomyces variotii</i>	25,0	≤ 1,25	> 64,0
<i>Penicillium chrysogenum</i> 001125 Z	50,0	≤ 2,5	> 64,0
<i>Mucor hiemalis</i>	50,0	≤ 10,0	–
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>gypseum</i>	12,5	≤ 0,25	≤ 16,0

Примітки. «–» – дані відсутні; «≤» – менше або дорівнює наведеному значенню; «>» – більше наведеного значення.

Дані, наведені в таблиці 1, свідчать, що сполука КВМ-194 проявляє широкий спектр антибактеріальної дії, пригнічує ріст та розмноження грамполозитивних і грамнегативних мікроорганізмів. Встановлено, що найчутливішими до дії сполуки є грамполозитивні коки, МІК у діапазоні концентрацій 0,2–2,5 мкг/мл, і за цим показником сполука КВМ-194 не поступається або переважає Ванкоміцин та Лінезолід.

Експерименти показали, що до дії вперше синтезованого похідного арилаліфатичних аміноспиртів є чутливими також аеробні та анаеробні, споруутворюючі та неспоруутворюючі грамполозитивні палички. За значеннями МІК (0,78–12,50 мкг/мл) відносно грамполозитивних паличок сполука КВМ-194 наближається до дії Лінезоліду та Ванкоміцину.

При дослідженні чутливості грамнегативних бактерій, представників родин *Enterobacteriaceae* та *Pseudomonadaceae*, встановлено, що МІК сполуки КВМ-194 знаходиться в діапазоні концентрацій 5,0–15,0 та 2,5–30,0 мкг/мл відповідно. За рівнем активності відносно *P. syringae* та *P. putida* сполука не поступається Азтреонаму.

Для встановлення широти спектра антимікробної дії сполуки КВМ-194 були проведені також експерименти з визначення активності сполуки відносно грибів (дріжджоподібних, міцеліальних та дерматомицетів). Результати дослідження антифунгальної активності сполуки наведено в таблиці 2.

Дані, наведені в таблиці 2, свідчать, що сполука КВМ-194 проявляє активність відносно *Candida spp.*, міцеліальних грибів та дерматомицетів, діапазон МІК складає 1,0–50,0 мкг/мл. Найчутливішими до дії похідного арилаліфатичних аміноспиртів виявилися гриби роду *Candida*, як *Candida albicans*, так і *Candida non-albicans* (*C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. utilis*). За показником МІК сполука КВМ-194 відносно *C. albicans* (МІК 1,0 мкг/мл) не поступається препаратам порівняння – Амфотерицину В (МІК $\leq 2,0$ мкг/мл) та Флуконазолу (МІК $\leq 2,0$), відносно *C. parapsilosis* (МІК 5,0 мкг/мл) –

практично не поступається Амфотерицину В (МІК $\leq 4,0$ мкг/мл), відносно *C. glabrata* – Флуконазолу (МІК ≤ 32 мкг/мл).

Результати експериментів з визначення активності сполуки відносно міцеліальних грибів показали, що сполука КВМ-194, як і Флуконазол, не виявляє виразної дії відносно *A. niger*, *P. variotii*, *P. chrysogenum*, *M. hiemalis* (МІК 50,0 мкг/мл), і за активністю сполука поступається Амфотерицину В (МІК $\leq 10,0$ мкг/мл).

Встановлено, що похідне арилаліфатичних аміноспиртів у концентрації 12,5 мкг/мл пригнічує ріст та розмноження представника дерматомицетів – *T. mentagrophytes var. gypseum* і за ступенем інгібуючої дії не поступається Флуконазолу (МІК $\leq 16,0$ мкг/мл).

Отже, отримані дані щодо антифунгальної активності сполуки КВМ-194 свідчать, що до дії сполуки найчутливішими є гриби *Candida spp.* та *T. mentagrophytes*.

Таким чином, дослідження антибактеріальної та антифунгальної активності похідного арилаліфатичних аміноспиртів показало, що сполука КВМ-194 проявляє широкий спектр антимікробної дії, пригнічує ріст та розмноження як бактерій (грамполозитивних та грамнегативних), так і грибів. Широкий спектр антимікробної дії має велике значення, оскільки в клінічній практиці збудником гнійно-запальних процесів нерідко є мікробні асоціації. Так, *Candida spp.* виділяють в асоціації з патогенним стафілококом (*S. aureus* та *S. epidermidis*) у новонароджених, частота виділення із зіву складала 35,0 %, пупочної рани – 16,3 %, носа – 9,6 % [18]. Мікстинфекція виявляється також у 56,0 % хворих на хронічні захворювання шкіри; мікробні асоціації ускладнюють перебіг atopічного дерматиту, екземи, псоріазу [19]. Встановлено також, що *C. albicans* та *S. aureus* проявляють синергізм у дослідженнях *in vivo* та здатні формувати полімікробні біоплівки [20].

Особливості спектра антимікробної дії похідного арилаліфатичних аміноспиртів сполуки КВМ-194, а саме вираз-

на інгібуюча активність відносно *Staphylococcus spp.* та *Candida spp.*, свідчать про необхідність вивчення ефективності сполуки в умовах *in vivo* для визначення перспективності розробки на її основі нового ефективного та безпечного антимікробного препарату.

Висновки

1. В експериментах *in vitro* встановлено, що 1-[4-(1,1,3,3-тетраметилбутил)фенокси]-3-(N-бензилгексаметиленіміній)-2-пропанолу хлорид (сполука КВМ-194) проявляє широкий спектр антимікробної дії, пригнічує ріст та

розмноження як бактерій, так і грибів.

2. Результати проведених досліджень свідчать, що найчутливішими до дії сполуки КВМ-194 є грампозитивні коки та палички. За ступенем активності сполука переважає або не поступається препаратам порівняння Ванкоміцину та Лінезоліду.

3. Експериментально доведено, що сполука КВМ-194 проявляє виразну антифунгальну активність відносно грибів роду *Candida* та дерматофітів (*T. mentagrophytes var. gypseum*), і за ступенем інгібуючої дії практично не поступається Флуконазолу.

1. World health statistics – 2014. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112738/1/9789240692671_eng.pdf?ua=1
2. Antimicrobial resistance. Global Report on Surveillance – 2014. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112642/1/9789241564748_eng.pdf?ua=1
3. Antifungal Resistance and New Strategies to Control Fungal Infections / P. Vandeputte, S. Ferrari, A. T. Coste // International Journal of Microbiology. – 2012. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.hindawi.com/journals/ijmicro/2012/713687/>
4. Howard S. J. Frequency and Evolution of Azole Resistance in *Aspergillus fumigatus* Associated with Treatment Failure / S. J. Howard, D. Cerar, M. J. Anderson // Emerging Infectious Diseases. – 2009. – V. 15, № 7. – P. 1068–1076.
5. Синтез, антибактеріальна та протигрибкова активність четвертинних солей 1-[4-(1,1,3,3-тетраметилбутил) фенокси]-3-діалкіламіно-2-пропанолу / Ю. В. Короткий, Н. О. Вринчану, М. Л. Дронова [та ін.] // Фармацевтичний журнал. – 2015. – № 1. – С. 56–61.
6. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам [Методические указания МУК 4.2.18-90-04] // Клини. Микроб. Антимикроб. Химиотер. – 2004. – Т. 6, № 4. – С. 306–359.
7. Method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for yeasts; Eucast definitive document EDef 7.2 Revision. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.eucast.org/ast_of_fungi/methods_of_antifungal_susceptibility_testing/susceptibility_testing_of_yeasts/
8. Rex J. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi / J. Rex. – Wayne, PA : Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008. – 25 p.
9. Activity of Linezolid against 3,251 Strains of Uncommonly Isolated Gram-Positive Organisms: Report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program / R. N. Jones, M. G. Stilwell, P. A. Hogan [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 2007. – V. 51, № 4. – P. 1491–1493.
10. Antimicrobial wild type distributions of microorganisms – 2015. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://mic.eucast.org/Eucast2/SearchController/search.jsp?action=init>
11. Eucast definitive document E.Def 4.1. Linezolid breakpoints. – 2000. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X%2814%2964132-X/pdf>
12. Goldstein E. J. C. Comparative *In Vitro* Activities of SMT19969, a New Antimicrobial Agent, against 162 Strains from 35 Less Frequently Recovered Intestinal *Clostridium* Species: Implications for *Clostridium difficile* Recurrence / E. J. C. Goldstein, D. M. Citron, K. L. Tyrrell // Antimicrob. Agents Chemother. – 2013. – V. 58, № 2. – P. 1187–1191.
13. Gorbach S. Pocket book of antimicrobial therapy and prevention / S. Corbach, J. M. Mensa, J. Gatell. – Williams and Wilkins, 1997. – 315 p.
14. MICs of Mutacin B-Ny266, Nisin A, Vancomycin, and Oxacillin against Bacterial Pathogens / M. Mota-Meira, G. Lapointe, C. Lacroix [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 2000. – V. 44, № 1. – P. 24–29.
15. Противогрибковые средства. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://lekmed.ru/info/stati/protivogribkovye-sredsta.html>
16. Саттон Д. Определитель патогенных и условно-патогенных грибов / Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. ; пер. с англ. – Москва : Мир, 2001. – 486 с.
17. Santos D. A. Evaluation of Broth Microdilution Antifungal Susceptibility Testing Conditions for *Trichophyton rubrum* / D. A. Santos, J. S. Hamdan // J. Clin. Microbiol. – 2005. – V. 43, № 4. – P. 1917–1920.

18. Каплин Н. Н. Частота выделения *Candida spp.* от новорожденных и их биологические свойства / Н. Н. Каплин, Т. В. Ивахнюк, Ю. П. Ивахнюк // Проблемы медицинской микологии. – 2009. – Т. 11, № 2. – С. 77.
19. Белоусова Т. А. Алгоритм наружной терапии дерматозов сочетанной этиологии / Т. А. Белоусова, М. В. Горячкина // Фармакотерапия в дерматовенерологии. – 2011. – № 5. – С. 146–152.
20. Harriott M. M. *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* Form Polymicrobial Biofilms: Effects on Antimicrobial Resistance / M. M. Harriott, M. C. Noverr // Antimicrob. Agents Chemother. – 2009. – V. 53, № 9. – P. 3914–3922.

М. Л. Дронова, З. С. Суворова

Антимікробна активність 1-[4-(1,1,3,3-тетраметилбутил)фенокси]-3-(N-бензилгексаметиленимін)-2-пропанолу хлориду

Поява та поширення антибіотикорезистентних мікроорганізмів та зниження ефективності проти-мікробної хіміотерапії свідчать про необхідність розробки нових ефективних та безпечних антимі-кробних препаратів. У цьому плані перспективними є похідні арилаліфатичних аміноспиртів, оскільки ці сполуки проявляють широкий спектр біологічної активності, у тому числі й антимікробну дію.

Мета дослідження – визначення антибактеріальної та антифунгальної активності та широти спек-тра похідного арилаліфатичних аміноспиртів 1-[4-(1,1,3,3-тетраметилбутил)фенокси]-3-(N-бензилгексаметиленимін)-2-пропанолу хлориду.

Чутливість мікроорганізмів до дії сполуки визначали методом серійних розведень у рідких пожив-них середовищах і оцінювали за показником мінімальної інгібуючої концентрації (МІК).

Встановлено, що сполука проявляє широкий спектр антимікробної дії та здатна пригнічувати ріст і розмноження як бактерій, так і грибів. Найчутливішими до дії похідного арилаліфатичних аміно-спиртів є грампозитивні коки та палички, а також гриби роду *Candida*, МІК у межах 0,2–10,0 мкг/мл.

Отримані результати свідчать про доцільність дослідження антимікробної активності сполуки в експериментах *in vivo* для визначення перспективності створення на її основі нового ефективного та безпечного антимікробного препарату.

Ключові слова: антибактеріальна активність, антифунгальна дія, похідні арилаліфатичних аміноспиртів

М. Л. Дронова, З. С. Суворова

Антимикробная активность 1-[4-(1,1,3,3-тетраметилбутил)фенокси]-3-(N-бензилгексаметиленимин)-2-пропанола хлорида

Появление и распространение антибиотикорезистентных микроорганизмов и снижение эффек-тивности противомикробной химиотерапии свидетельствуют о необходимости разработки новых эффективных и безопасных антимикробных средств. В этом плане перспективными являются про-изводные арилалифатических аминспиртов, поскольку эти вещества проявляют широкий спектр биологической активности, в том числе и антимикробное действие.

Цель исследования – изучение антибактериальной, антифунгальной активности и широты спек-тра производного арилалифатических аминспиртов 1-[4-(1,1,3,3-тетраметилбутил)фенокси]-3-(N-бензилгексаметиленимин)-2-пропанола хлорида.

Чувствительность микроорганизмов к действию соединения определяли методом серийных разведений в жидких питательных средах и оценивали по показателю минимальной ингибирующей концентрации (МИК).

Установлено, что соединение проявляет широкий спектр антимикробного действия, способно подавлять рост и размножение как бактерий, так и грибов. Наиболее чувствительными к действию производного арилалифатических аминспиртов оказались грамположительные кокки и палочки, а также грибы рода *Candida*, МИК в пределах 0,2–10,0 мкг/мл.

Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности исследования эффективности соединения в экспериментах *in vivo* для определения перспективности создания на его основе нового эффективного и безопасного антимикробного препарата.

Ключевые слова: антибактериальная активность, антифунгальное действие, производные арилалифатических аминспиртов

M. L. Dronova, Z. S. Suvorova

Antimicrobial activity of the 1-[4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)phenoxy]-3-(N- benzyl hexamethyleneimino)-2-propanol chloride

The emergence and spread of antibiotic-resistant strains of pathogens, and decline in antimicrobial chemotherapy efficacy demonstrate the need for the development of new drugs. One of the promising new classes of compounds are derivatives of arylaliphatic aminoalcohols with a wide spectrum of biological activities, including antimicrobial action.

The aim of the presented study was to investigate the spectrum of antibacterial and antifungal activity of arylaliphatic aminoalcohol derivative 1-[4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)phenoxy]-3-(N-benzyl hexamethyleneimino)-2-propanol chloride.

The antimicrobial activity of the compound was investigated by serial broth dilution method and evaluated by minimum inhibitory concentration (MIC).

The data obtained suggest a broad-spectrum antimicrobial action and compound's ability to inhibit the growth of both bacteria and fungi. Gram-positive cocci and rods, as well as fungi *Candida spp.*, appeared to be the most susceptible to the arylaliphatic aminoalcohol derivative, the MIC range 0,2–10,0 µg/ml. Our results indicate the promises of further *in vivo* research of the compound for the determination of its prospects for the development of new effective and safe antimicrobial drug.

Key words: antibacterial activity, antifungal action, arylaliphatic aminoalcohol derivatives

Надійшла: 23 вересня 2015 р.

Контактна особа: Дронова Марія Леонідівна, аспірант, відділ фармакології протимікробних засобів, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Е. Потьє, м. Київ, 03680. Тел.: +38 0 44 456 83 32, +38 0 93 245 96 35. Електронна пошта: ml.dronova@gmail.com

I. M. Kutovyi

Attenuation of myocardial ischemia-reperfusion injury by imidazo[1,2-a]azepinium derivatives

SI «Institute of Pharmacology and Toxicology of the NAMS of Ukraine», Kyiv

Key words: ischemia-reperfusion injury, isolated heart, imidazo[1,2-A]azepinium derivatives, myocardial preconditioning

Brief periods of ischemia lead to a reduced severity of cardiac injury following a second sustained period of ischemia. This cardioprotective effect has been termed ischemic preconditioning [1]. The cardioprotective effect of preconditioning occurs in two phases. The early phase lasts for 1–3 h while the late phase of protection occurs at least 12 h following the initial sublethal ischemic insult and has been shown to last up to 72 h [2]. Certain pharmacological agents can mimic the cardioprotective effects of ischemic preconditioning. Although the triggers and mediators of preconditioning are still not well understood, some studies have shown that stimulation of α_1 -adrenoceptors is one of the essential triggers of the early phase of ischemic preconditioning. In addition, recent studies have indicated that activation of α_1 -adrenoceptors can exert both early [3, 4] and late preconditioning [5]. It has been shown that mitochondrial ATP-sensitive K^+ channels (mK_{ATP}) have a greater influence on cardioprotection afforded by preconditioning [6]. In this manner, diazoxide, as a specific opener of the mK_{ATP} channels, can mimic early ischemic preconditioning and application of 5HD (5-hydroxydecanoate), as a putatively specific mK_{ATP} channel blocker, prevents cardioprotective effect of early ischemic preconditioning [7] or pharmacological preconditioning [8]. However, it has been suggested that the mK_{ATP} channels are involved as a subcellular mediator in early preconditioning afforded by α_1 -adrenoceptor activation [9].

In the Department of Pharmacology of Cardiovascular Drugs of SI «Institute of Pharmacology and Toxicology of the

NAMS of Ukraine» study for effective compounds with myocardium preconditioning activity among imidazo[1,2-A]azepinium derivatives is conducting. To protect heart from ischemia-reperfusion injury our colleagues have developed a set of compounds based on imidazoazepinium core but derivatized with different radicals [10]. Previous studies have shown that a number of synthesized compounds effectively reduced vascular tone *in vitro* [11]. In view of the previous studies *in silico*, we have assumed that vasodilatory activity of selected derivatives may be related to effects on ATP-sensitive potassium channels. We can assume that these compounds trigger the preconditioning process. After screening of cardioprotective activity we have chosen 2 leader compounds, namely IFT000280 and IFT000281. We performed experiments on isolated rat hearts modeling regional ischemia and assessing contractile activity and biochemical markers of myocardial injury (lactate dehydrogenase and creatine kinase MB (consisting of muscle and brain subunits, MB-isoform) activity).

Materials and Methods. Chemical compounds IFT000280 and IFT000281 were synthesized in the Department of Physiological Active Compounds of SI «Institute of Pharmacology and Toxicology of the NAMS of Ukraine».

Male and female purebred rats (200–250 g) were housed in an air-conditioned room on a light/dark cycle at 21–23 °C with free access to food and water. The animals were anesthetized with urethane (1,5g/kg, i.p.) and given heparin (1000 IU). Hearts were rapidly excised and placed in an ice-cold buffer, and mounted on a constant pressure (60 mm Hg) Langendorff-perfusion apparatus. All experiments were conducted in accordance with the European Convention for the Protec-

tion of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes [12]. Hearts were perfused retrogradely with modified Krebs–Henseleit bicarbonate buffer solution containing (in mM): NaHCO_3 – 25,0; KCl – 4,7; NaCl – 118,5; MgSO_4 – 1,2; KH_2PO_4 – 1,2; glucose – 11,0; CaCl_2 – 2,5 gassed with 95 % O_2 /5 % CO_2 (pH 7,35–7,45 at 37 °C). A latex, fluid-filled, isovolumic balloon was introduced into the left ventricle through the left atrial appendage and inflated to give a preload of 8 to 10 mm Hg and connected to a pressure transducer (World Precision Instruments, USA). A surgical needle was passed under the origin of the left anterior descending coronary artery, and the ends of the suture were passed through a pipette tip to form a snare. Regional ischemia was induced by tightening the snare and reperfusion was performed by releasing the ends of the suture. The perfusion apparatus was water-jacketed to maintain constant perfusion temperature of 37 °C.

After heart isolation and prior to baseline period, all hearts were perfused and allowed to stabilize for 15 min. All animals were randomly divided into experimental groups as follows: (I) Control group: hearts were perfused without addition of any compound to perfused buffer and were subjected to regional ischemia/reperfusion (20 min/60 min); (II) Experimental preconditioned group: after stabilization hearts were perfused for 5 min with compounds IFT000280 or

IFT000281 in concentrations of $5 \cdot 10^{-7}$, $1 \cdot 10^{-6}$, $1 \cdot 10^{-5}$ M prior to regional ischemia and then protocol was identical with one for control group. Administrations of drugs were performed via the second arm of perfusate cannula which was connected to the main perfusion cannula. The experimental conditions were constant throughout the experiment. Hearts were allowed to beat spontaneously throughout the experiments. Hemodynamic parameters (left ventricular developed pressure (LVDP), $\text{dp/dt}_{\min}$ (speed of heart relaxation), $\text{dp/dt}_{\max}$ (speed of heart contraction) and heart rate (number of heart beats per minute, HR) were monitored with a Data Trax computer program (version 2,041, World Precision Instruments, USA). Heart function was assessed by left ventricular developed pressure, $\text{dp/dt}_{\min}$, $\text{dp/dt}_{\max}$ and coronary flow (CF). In addition, coronary effluent was collected for creatine kinase-MB (CK-MB) and lactate dehydrogenase (LDG) measurement at regular time intervals.

The statistical significance of the results of the assays was evaluated by using analysis of variance and Student's t-test. All the values are expressed as Mean $\pm$ S.E.M. A P-value < 0,05 was considered significant.

Results and Discussion. Contractile activity measurement. The hemodynamic responses to the perfusion of the isolated hearts with experimental compounds for the whole period of protocol are summarized in tables 1 and 2. Although we

Table 1

Hemodynamic parameters of isolated rat hearts before regional ischemia. Data are presented as Mean $\pm$ S.E.M, n = 6 for all groups

Group	HR, bpm	LVDP, mmHg	$\text{dp/dt}_{\max}$, mmHg $\cdot$ sec ⁻¹	$\text{dp/dt}_{\min}$, mmHg $\cdot$ sec ⁻¹	CF, ml/min
<i>Before ischemia</i>					
Control	289,00 $\pm$ 3,80	90,00 $\pm$ 3,08	1435,00 $\pm$ 15,40	-1275,00 $\pm$ 14,10	7,60 $\pm$ 0,42
IFT_000280, 10^{-5} M	292,00 $\pm$ 3,90	107,00 $\pm$ 5,34	2217,00 $\pm$ 20,37	-2192,00 $\pm$ 19,14	8,80 $\pm$ 0,53
IFT000281, 10^{-5} M	307,00 $\pm$ 5,10	110,00 $\pm$ 7,25	2649,00 $\pm$ 23,12	-2301,00 $\pm$ 22,06	9,60 $\pm$ 0,80
Floccalin, 10^{-5} M	299,00 $\pm$ 3,76	97,00 $\pm$ 3,17	1621,00 $\pm$ 16,10	-1511,00 $\pm$ 14,89	8,20 $\pm$ 0,52

Table 2

Hemodynamic parameters of isolated rat hearts in the regional ischemia and reperfusion (in % of pre-ischemic values). Data are presented as Mean $\pm$ S.E.M, $n = 6$ for all groups. * $P < 0,05$ vs. control

Group	HR, bpm	LVDP, %	dp/dt _{max} , %	dp/dt _{min} , %	CF, %
<i>End of ischemia</i>					
Control	290,00 $\pm$ 4,15	91,00 $\pm$ 1,20*	95,00 $\pm$ 2,21	91,00 $\pm$ 3,09*	85,00 $\pm$ 4,08*
IFT_000280, 10 ⁻⁵ M	312,00 $\pm$ 5,75	96,00 $\pm$ 2,07	110,00 $\pm$ 3,19*	118,00 $\pm$ 4,82*	88,00 $\pm$ 5,09*
IFT000281, 10 ⁻⁵ M	305,0 $\pm$ 4,27	98,00 $\pm$ 4,49	100,00 $\pm$ 2,74	105,00 $\pm$ 2,49	92,00 $\pm$ 5,26*
Floccalin, 10 ⁻⁵ M	293,00 $\pm$ 3,74	94,00 $\pm$ 3,41*	117,00 $\pm$ 3,11*	109,00 $\pm$ 4,61*	91,00 $\pm$ 3,39*
<i>15 min of reperfusion</i>					
Control	262,00 $\pm$ 3,34	88,00 $\pm$ 3,20*	91,00 $\pm$ 2,16*	89,00 $\pm$ 3,12*	86,00 $\pm$ 4,17*
IFT_000280, 10 ⁻⁵ M	281,00 $\pm$ 3,65	104,00 $\pm$ 3,65	124,00 $\pm$ 5,38*	119,00 $\pm$ 4,93*	97,00 $\pm$ 4,65
IFT000281, 10 ⁻⁵ M	278,00 $\pm$ 4,13	107,00 $\pm$ 5,37*	109,00 $\pm$ 2,89*	110,00 $\pm$ 2,87*	99,00 $\pm$ 5,60
Floccalin, 10 ⁻⁵ M	264,00 $\pm$ 3,31	96,00 $\pm$ 3,85	107,00 $\pm$ 3,15*	103,00 $\pm$ 4,07	98,00 $\pm$ 3,16

have studied three different concentrations of IFT000280 and IFT000281 ($5 \cdot 10^{-7}$, $1 \cdot 10^{-6}$, $1 \cdot 10^{-5}$ M) results only for concentration of $1 \cdot 10^{-5}$ M are shown in the tables 1 and 2 because other concentrations of drugs ($5 \cdot 10^{-7}$, $1 \cdot 10^{-6}$) have showed no statistically significant difference between groups. As it can be seen administration of substances IFT000280 and IFT000281 lead to increasing of contractile activity of isolated hearts before ischemia. During reperfusion hearts pre-treated with these compounds manifested better recovery of hemodynamic functions comparatively with control hearts. The reference compound – mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels activator floccalin acted in the same manner and showed similar results but tested substances, especially IFT000281 protected the isolated hearts better. Hearts pre-treated with IFT000280 and IFT000281 had increased dp/dt_{max} and dp/dt_{min} values comparatively with control hearts. Data indicate that experimental hearts have better recovery of LVDP and CF than control ones.

Biochemical markers. CK-MB levels in coronary effluent markedly declined by IFT000280, IFT000281 and floccalin pre-conditioning in experimental groups compared with control group in all time intervals: in the end of ischemia ($90,0 \pm 15,8$), ($86,0 \pm 3,0$) and ($89,0 \pm 5,4$) vs. ($130,0 \pm 15,0$) IU/L respectively, $P < 0,05$, $n = 6$), in 5 min ($88,0 \pm 13,7$), ($81,0 \pm 3,5$) and ($84,0 \pm 5,8$) vs. ($110,0 \pm 13,2$) IU/L respectively, $P < 0,05$, $n = 6$) and 10 min ($85,0 \pm 11,4$), ($76,0 \pm 3,1$) and ($89,0 \pm 3,7$) vs. ($100,0 \pm 11,6$) IU/L respectively, $P < 0,05$, $n = 6$) after reperfusion (Fig. 1). Investigation of LDG activity showed the similar results (experimental compounds declined enzyme activity in coronary effluent), (Fig. 2). The data obtained show that compounds IFT000280 and IFT000281 can efficiently protect myocardium from ischemia/reperfusion injury. The declined levels of CK-MB and LDG activity which are biochemical markers of myocardial injury prove our suggestion.

The beneficial effects of newly studied compounds may be due to ATP-sen-

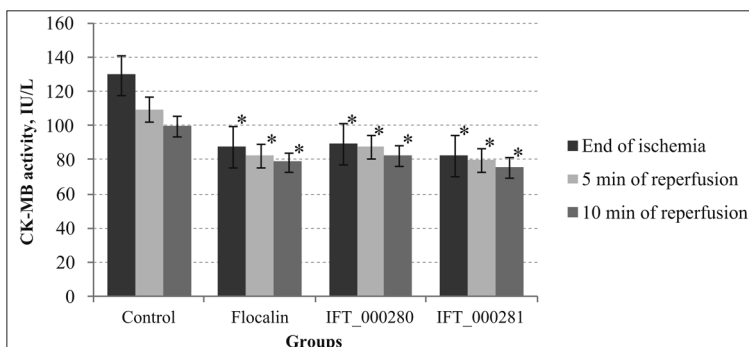


Fig. 1. Level of CK-MB activity in coronary effluent. Data are presented as Mean $\pm$ S.E.M (* $P < 0,05$ vs. control, $n = 6$ for all groups)

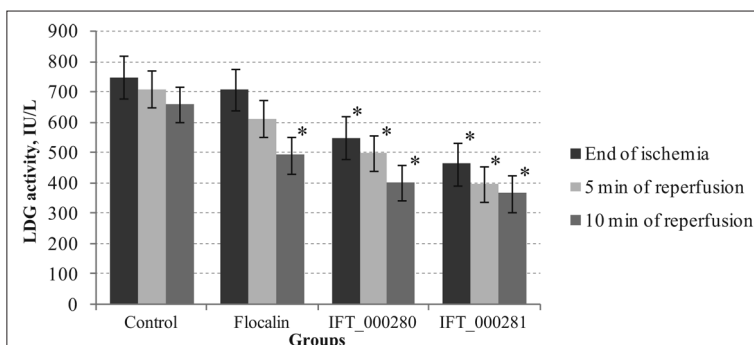


Fig. 2. Level of LDG activity in coronary effluent. Data are presented as Mean $\pm$ S.E.M (* $P < 0,05$ vs. control, $n = 6$ for all groups)

sitive potassium channels activation. Floccalin – K_{ATP} channels activator acts in the same way as compounds IFT000280 and IFT000281. In the study [11] was shown that they efficiently decreased vascular tone or in other words manifested vasodilatory activity. One of the underlying mechanisms of vasodilation and smooth muscle relaxation is activation of K_{ATP} channels. Activation of K_{ATP} channels in cardiomyocyte's mitochondria leads to cardioprotection and is an important element in myocardial preconditioning pathways. K_{ATP} channels exist in the sarcolemmal membrane as well as the mitochondrial membrane of cardiomyocytes. It has been recently shown that preconditioning induces activation and trafficking of sarcolemmal K_{ATP} channels which, in turn, decreases the duration of action membrane potential and Ca^{2+} influx, thus promoting cell survival during ischemia [13]. Also, mitochondrial K_{ATP} channels play an important role in the preconditioning. It has been shown that pretreatment with a specific opener of

the mK_{ATP} channels, most notably diazoxide, produced an effective cardioprotection against ischemia/reperfusion injuries and this effect was prevented by putative specific blocker of this channels, 5HD [14]. Previously, it has been found that other pharmacological agents such as acetylcholine, bradykinin, opioids and phenylephrine, but not adenosine, trigger early preconditioning by the opening of mK_{ATP} channels in the isolated rabbit heart [15]. Our study also has indicated that IFT000280 and IFT000281 produced early cardioprotection in the isolated rat heart. We don't know exactly what mechanisms it is making through, but we think that opening of mK_{ATP} channels play not the last role.

Conclusion

In conclusion, this study shows that compounds IFT000280 and IFT000281 manifest cardioprotective effects on isolated rat heart model and that's why they can induce myocardium preconditioning.

1. Ischemic preconditioning activates prosurvival kinases and reduces myocardial apoptosis / Chang-Chi Lai, Chia-Yu Tang, Shu-Chiung [et al.] // Journal of the Chinese Medical Association. – 2015. – V. 78 (8). – P. 460–468.
2. Zhong Y. Postconditioning or preconditioning, which should be promoted in the protection of ischemic reperfusion injury? / Y. Zhong, N. Wang // International Journal of Cardiology. – 2014. – V. 176 (3). – P. 1205–1206.
3. Noradrenaline reduces ischemia-induced arrhythmia in anesthetized rats: involvement of alpha1-adrenoceptors and mitochondrial K_{ATP} channels / A. Imani, M. Faghihi, S. Sadr [et al.] // J. Cardiovasc. Electrophysiol. – 2008. – V. 19. – P. 309–315.
4. Alpha-1-adrenoceptor subtype selective regulation of connexin 43 expression in rat cardiomyocytes / R. Gomez, D. M., Schulte, J. S., Mohr [et al.] // Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol. – 2008. – V. 377. – P. 77–85.
5. Obligatory role of cardiac nerves and alpha1-adrenergic receptors for the second window of ischemic preconditioning in conscious pigs / R. K. Kudej, Y. T. Shen, A. P. Peppas [et al.] // Circ. Res. – 2006. – V. 99. – P. 1270–1276.
6. Ischemic preconditioning prevents reperfusion heart injury in cardiac hypertrophy by activation of mitochondrial K_{ATP} channels / K. G. Rajesh, S. Sasaguri, R. Suzuki [et al.] // Int. J. Cardiol. – 2004. – V. 96. – P. 41–49.
7. A role of opening of mitochondrial ATP-sensitive potassium channels in the infarct size-limiting effect of ischemic preconditioning via activation of protein kinase C in the canine heart / O. Tsukamoto, H. Asanuma, J. Kim [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2005. – V. 338. – P. 1460–1466.
8. The influence of mitochondrial K_{ATP} -channels in the cardioprotection of preconditioning and post-conditioning by sevoflurane in the rat *in vivo* / D. Obal, S. Dettwiler, C. Favoccia [et al.] // Anesth. Analg. – 2005. – V. 101. – P. 1252–1260.
9. Gao H. Activation of alpha1 β -adrenoceptors alleviates ischemia/reperfusion injury by limitation of mitochondrial Ca^{2+} overload in cardiomyocytes / H. Gao, L. Chen, H. T. Yang // Cardiovasc. Res. – 2007. – V. 75. – P. 584–595.
10. Pat. UA 73591. 1-phenyl-3-aryl-3-hydroxy-2,3,6,7,8,9-hexahydro-5H-imidazo[1,2-A]azepinium derivatives, which manifest myotropic spasmolytic activity / N. A. Mokhort, A. M. Demchenko, L. S. Bobkova, I. V. Gerashchenko // C07D 471/00. – 25-09-2012.
11. Gerashchenko I. Tocolytic activity of imidazo[1,2-A]azepinium derivatives / I. Gerashchenko // Pharmacology and Drug Toxicology. – 2012. – V. 31, № 6 – P. 37–41.
12. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes [Online resource] – Access mode: [http:// http://conventions.coe.int/treaty/en/treaties/html/123.htm](http://http://conventions.coe.int/treaty/en/treaties/html/123.htm)
13. Early opening of sarcolemmal ATP-sensitive potassium channels is not a key step in PKC-mediated cardioprotection / S. Brennan, R. Jackson, M. Patel [et al.] // Journal of Molecular and Cellular Cardiology. – 2015. – V. 79. – P. 42–53.
14. Diazoxide cardioprotection is independent of adenosine triphosphate-sensitive potassium channel Kir6.1 subunit in response to stress / M. C. Henn, M. Burhan Janjua, H. Zhang [et al.] // Journal of the American College of Surgeons. – 2015. – V. 221 (2). – P. 319–325.
15. Naderi R. Phenylephrine produces late pharmacological preconditioning in the isolated rat heart / R. Naderi, A. Imani, M. Faghihi // European Journal of Pharmacology. – 2010. – V. 627 (1–3). – P. 203–208.

Ю. М. Кутовий

Зменшення пошкоджень міокарда, зумовлених ішемією-реперфузією, за допомогою похідних імідазо[1,2-А]азепінію

Мета дослідження – вивчення кардіопротекторного впливу двох похідних імідазо[1,2-А]азепінію під шифрами IFT000280 і IFT000281 та їхньої здатності прекодиціювати ішемічні пошкодження міокарда. Збільшення таких показників, як тиск у лівому шлуночку (LVDP), швидкість скорочення серця ($dp/dt_{\max}$), частота серцевих скорочень (ЧСС) у період ішемії може вказувати на наявність ефекту прекодиціювання.

Вивчення біологічної дії даних сполук проводили на моделі ізолюваного серця щура методом ретроградної перфузії під постійним тиском. Були досліджені концентрації речовин $5 \cdot 10^{-7}$, $1 \cdot 10^{-6}$, $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л. В ході експерименту визначали параметри скоротливої активності ізолюваних сердець, а також активність креатинкінази ізоформи MB (muscle and brain субодиноці) та лактатдегідрогенази в серцевому ефлюенті. У результаті проведених досліджень було встановлено, що обрані сполуки в концентрації $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л проявляють найбільшу активність і перевищують відповідний вплив препарату порівняння флокаліну. Вони зумовлювали підвищення скоротливої активності ізолюваних сердець відразу після введення перед ішемією, а під час ішемії зменшення показників скоротливої активності було меншим, ніж у контрольних сердець. У період реперфузії серця, які перфузували розчином з досліджуваними сполуками, показали швидше та повноцінніше відновлення скоротливої функції, ніж контрольні. Активність ферментів лактатдегідрогенази та креатинкінази ізоформи

МВ у ефлюєнті сердець, які зазнали дії досліджуваних речовин, була помітно меншою, ніж у контрольних серцях, що вказує на кардіопротекторні властивості даних сполук.

Отримані результати засвідчують наявність кардіопротекторних властивостей сполук IFT000280 і IFT000281.

Ключові слова: ішемія-реперфузія, прекондиціонування міокарда, ізольоване серце, похідні імідазо[1,2-А]азепінію

Ю. Н. Кутовий

Уменьшение повреждений миокарда, обусловленных ишемией-реперфузией, с помощью производных имидазо[1,2-А]азепиния

Цель исследования – изучение кардиопротекторного действия двух производных имидазо[1,2-А]азепиния под шифрами IFT000280 и IFT000281 и их способности прекондиционировать ишемические повреждения миокарда. Увеличение таких показателей, как давление в левом желудочке (LVDP), скорость сокращения сердца (dp/dt_{max}) и частота сердечных сокращений (ЧСС) в период ишемии может указывать на наличие эффекта прекондиционирования.

Изучение биологического действия данных соединений проводили на модели изолированного сердца крысы методом ретроградной перфузии под постоянным давлением. Были исследованы концентрации веществ $5 \cdot 10^{-7}$, $1 \cdot 10^{-6}$, $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л. В ходе эксперимента определяли параметры сократительной активности изолированных сердец, а также активность креатинкиназы изоформы MB (muscle and brain субъединицы) и лактатдегидрогеназы в сердечном ефлюэнте. В результате проведенных исследований было установлено, что выбранные соединения в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л проявляют наибольшую активность и превышают соответствующее влияние препарата сравнения флокалина. Они обуславливали повышение сократительной активности изолированных сердец сразу после введения до ишемии, а при ишемии уменьшение показателей сократительной активности было меньше, чем у контрольных сердец. В период реперфузии сердца, которые перфузировались раствором с исследуемыми соединениями, показали более быстрое и полноценное восстановление сократительной функции, чем контрольные. Активность ферментов лактатдегидрогеназы и креатинкиназы изоформы MB в ефлюэнте сердец, подвергшихся воздействию исследуемых веществ, была заметно меньше, чем в контроле.

Полученные результаты свидетельствуют о наличии кардиопротекторных свойств у соединений IFT000280 и IFT000281.

Ключевые слова: ишемия-реперфузия, прекондиционирование миокарда, изолированное сердце, производные имидазо [1,2-А] азепиния

I. M. Kutovyi

Attenuation of myocardial ischemia-reperfusion injury by imidazo[1,2-A]azepinium derivatives

The aim of this study is to test the hypothesis that imidazo[1,2-A]azepinium derivatives under the ciphers IFT000280 and IFT000281 have cardioprotective effects and by this way can induce myocardium preconditioning. Myocardium preconditioning is a phenomenon of increasing heart stability to damage during prolonged ischemia-reperfusion period induced by several short (till 5 min) ischemia-reperfusion cycles (ischemic preconditioning) or chemical compounds (pharmacological preconditioning).

To do this, rat hearts were isolated and perfused with modified Krebs-Henseleit buffer solution by Langendorff method and subjected to 20 min regional ischemia followed by 60 min of reperfusion. In this study flocalin – mitochondrial K_{ATP} channels activator was used as reference drug. Hemodynamic parameters and levels of creatine kinase-MB (CK-MB) and lactate dehydrogenase (LDG) activity were determined. As result, compounds IFT000280 and IFT000281 have shown different activity depends on its concentrations. The compounds showed the best effects in concentration of $1 \cdot 10^{-5}$ M. Both IFT000280 and IFT000281 increased contractile activity (especially speed of heart contraction and relaxation (dp/dt_{max} and dp/dt_{min} respectively) and left ventricular developed pressure (LVDP)) and decline enzymes activity. Hearts pretreated with experimental substances have showed better functional recovery and were less damaged by ischemia/reperfusion than those without treatment.

The data obtained suggest that new synthesized compounds, IFT000280 and IFT000281 have cardioprotective potential and need further investigation.

Key words: ischemia-reperfusion injury, isolated heart, imidazo[1,2-A]azepinium derivatives, myocardial preconditioning

Надійшла: 7 вересня 2015 р.

Контактна особа: Кутовий Юрій Миколайович, аспірант, відділ фармакології серцево-судинних засобів, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Ежена Потье, м. Київ, 03680. Тел.: +38 097 371 50 32. Електронна пошта: yurakutovyi@gmail.com.

І. В. Ніженковська¹, О. В. Романенко¹, К. В. Седько¹,
М. М. Груша¹, В. С. Броварець², О. В. Головченко²

Вивчення вазоактивних властивостей діетилового ефіру 5-алкіламіно-2-{п-[п-бензоїл-(4-метилбензиліден) гліцил] амінометил}-1,3-оксазол-4-іл фосфонової кислоти на ізольованій аорті щурів

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

²Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії Національної академії наук України, м. Київ

Ключові слова: оксазолвмісний пептидоміметик, вазоактивні властивості, вазодилатація, скоротлива активність гладеньких м'язів, ізольовані сегменти аорти

За останні десятиліття кількість пацієнтів з артеріальною гіпертензією (АГ) сягнула масштабів епідемії, на яку, за даними Європейського товариства гіпертензії (ESH), страждає 30–45 % від загальної чисельності населення [1]. Особливу увагу привертає значний ріст проявів цього синдрому серед осіб молодого віку. Есенціальна гіпертензія та вторинне симптоматичне підвищення артеріального тиску при інших нозологіях є однією з найважливіших проблем медицини, оскільки являє собою тяжкий комплексний синдром, який об'єднує різні клінічні стани та розвиток їхніх ускладнень, супутніх хронічному підвищенню артеріального тиску. У свою чергу, системна хронічна артеріальна гіпертензія викликає низку патологічних, клітинних та субклітинних змін більшості органів та систем. Циркуляторні розлади за умов АГ призводять до ішемічної хвороби серця, гострого порушення коронарного кровообігу, численних ангіопатій, склеротичних змін стінок судин, у тому числі атеросклеротичних, низки судинних катастроф на рівні магістральних судин та мікроциркуляторного русла, які призводять до майже 80 % інвалідизації та смертності серед пацієнтів [2].

Низкою лабораторних та клінічних досліджень було продемонстровано, що порушення магістрального та регіонального кровообігу за умов артеріальної гіпертензії та судинної реактивності значною мірою зумовлені підвищенням тонуусу гладеньком'язового компонента стінки судин [3, 4]. Тому, незважаючи на розвиток нових та розширення можливостей існуючих методів терапії в сучасній кардіології, важлива роль фармакологічної корекції системного артеріального тиску зберігається. Останнє створює підґрунтя для проведення досліджень, направлених на усунення дисфункцій судинної стінки шляхом застосування сполук, здатних виявляти вазоактивну дію. Враховуючи обмежене коло ефективних і малотоксичних фармакологічно активних речовин, які застосовуються як антигіпертензивні лікарські засоби, вивчення нових субстанцій, здатних проявляти вазотропну дію, є актуальним напрямом наукових пошуків [5–7].

Однією з перспективних груп сполук, які за попередніми скринінговими дослідженнями здатні знижувати судинний тонус, вважають похідні 1,3-оксазолу [8, 9]. Останнє стало ключовим фактором для синтезу співробітниками Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України нової групи вазоактивних сполук – фосфорильованих пептидоміметиків, та вивчення ефективності їхньої дії на гладеньком'язовий компонент судинної стінки [10]. За попередніми дослідженнями серед них найбільшу вазотропну активність проявляє діетиловий

ефір 5-алкіламіно-2{N-[N-бензоіл-(4-метилбензиліден) гліцил] амінометил}-1,3-оксазол-4-іл фосфонової кислоти (оксазолвмісний пептидоміметик) (рис. 1) [10]. *Мета дослідження* – визначення ймовірних шляхів реалізації фармакологічної активності та ефективності судинорозширюючої дії запропонованої сполуки з використанням живої тест-системи ізольованих сегментів грудної частини низхідної аорти щурів.

Матеріали та методи. Дослідження вазодилатаційної активності сполуки оксазолвмісного пептидоміметика проводили за методикою [11] на 15 ізольованих кільцевих сегментах грудної частини низхідної аорти 15 білих щурів обох статей лінії Вістар. Середня вага піддослідних тварин – 200–250 г. Догляд за тваринами та еутаназію здійснювали згідно з Директивою Європейського Союзу 2010/10/63 EU про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей, і Законом України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». Тварин утримували на звичайному збалансованому харчовому раціоні й вільному доступі до води [12] в умовах віварію Національного медичного університету імені О. О. Богомольця. Перед декапітацією застосовували інгалаційний наркоз (ефірний) [13].

Повношаровий м'язовий препарат отримували з низхідної частини грудного відділу аорти. Після попереднього очищення від сполучної тканини, ретельного промивання в розчині Кребса та охолодження протягом 40 хв при температурі 6–8 °С, фрагмент аорти під бінокулярним стереомікроскопом розрізали на кільцеві сегменти довжиною приблизно 2 мм [11, 14]. Інкубацію отриманих сегментів аорти здійснювали в проточній камері для досліджень з розчином Кребса, що мав температуру 35–37 °С, не менше ніж 30 хв до початку дослідження. Для роботи використовували розчин Кребса наступного складу (моль/л): NaCl – 133,00; KCl – 4,70; CaCl₂ – 2,50 MgCl₂ – 1,20; NaHCO₃ – 10,00; NaH₂PO₄ – 1,38; C₆H₁₂O₆ – 7,80; pH 7,4. Установка для реєстрації тонуусу кільцевих сегментів аорти складається із проточної камери

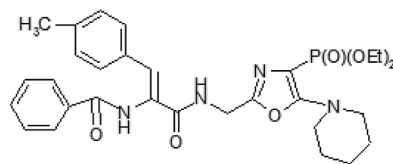


Рис. 1. Хімічна формула діетилового ефіру 5-алкіламіно-2{N-[N-бензоіл-(4-метилбензиліден) гліцил] амінометил}-1,3-оксазол-4-іл фосфонової кислоти

об'ємом 2 мл, що термостатується при температурі 36,5 °С. Препарат закріплювали в камері між сталевими гачками, з'єднаними з тензодатчиком. Вихідне напруження кільцевого сегмента аорти відповідало навантаженню 10 мН. Стандартизацію вихідного напруження препарату проводили шляхом його порівняння з калібрувальним сигналом. Реєстрацію вазоактивних реакцій здійснювали в ізометричному режимі скорочень за допомогою програмного забезпечення для USB-осцилографа – Iris Waveware. Вазодилатуючу активність засобу оцінювали за впливом на вихідний тонус ізольованого сегмента аорти та амплітудою скорочень гладеньких м'язів судин у відповідь на внесення в інкубаційне середовище агоніста α_1 -адренорецепторів адреналіну ($5 \cdot 10^{-6}$ моль/л). При оцінці результатів експерименту в контролі за 100 % приймали амплітуду тонічного скорочення м'язового препарату у відповідь на перфузію адреналіну $5 \cdot 10^{-6}$ моль/л тривалістю 10 с (рис. 2). У даному експерименті адреналін використовували виключно як інструмент для виявлення чутливості рецепторів васкулярних гладеньких м'язів. З огляду на це, важливим є в разі стандартизованих для всього експерименту умов, а саме стабільний швидкості потоку (2 мл/хв), забезпечити надходження в інкубаційну камеру однакової кількості адреналіну. У той самий час необхідно застосувати таку його експозицію, яка дала б змогу протягом наступного 15–20 хв інтервалу провести відмивання препарату. Останнє визначає можливість протестувати збереження чутливості адренорецепторів гладеньких м'язів за умови преінкубації їх з досліджуваною сполукою та фармакологічними агентами та порівняти з чутливістю цих рецепторів у контролі.

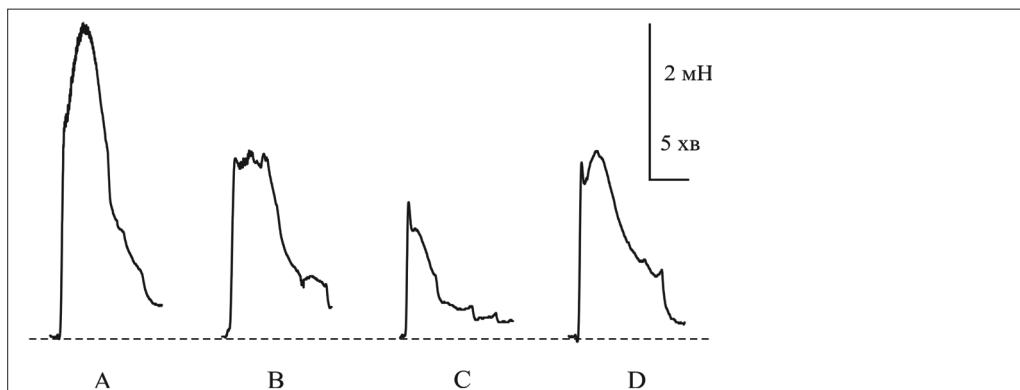


Рис. 2. Динаміка ініційованого адреналіном ($5 \cdot 10^{-5}$ моль/л) скорочення ізолюваних сегментів аорти щурів

Примітка. А – контроль у розчині Кребса; В – за умов присутності в перфузаті оксазолвмісного пептидоміметика ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л), 35 хв; С – за умов присутності в перфузаті оксазолвмісного пептидоміметика ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л) та верапамілу ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л), 60 хв; D – за умов присутності в перфузаті тільки оксазолвмісного пептидоміметика ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л), 30 хв після вилучення з перфузату верапамілу ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л).

У роботі були використані діетиловий ефір 5-алкіламіно-2-[N-[N-бензоіл-(4-метилбензиліден) гліцил] амінометил]-1,3-оксазол-4-іл фосфонові кислоти [10], $5 \cdot 10^{-6}$ моль/л адреналін (розчин для ін'єкцій, «Здоров'я»), $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л верапаміл (розчин для ін'єкцій, «Дарниця»). Оксазолвмісний пептидоміметик розчиняли в диметилсульфоксиді (ДМСО) та вносили в розчин Кребса. Об'єм ДМСО відповідних максимальних аліквот сполук не перевищував 0,05 %, що в контрольних експериментах не впливає на тонус судин [10].

Статистичний аналіз проводили за допомогою спеціалізованої програми SPSS 17.0 for Windows. Відповідність вибірок даних закону нормального розподілу визначали з використанням Z-критерію узгодженості Колмогорова-Смирнова. Результати розрахунків дескриптивних характеристик надано у форматі $M \pm m$. Мінімально статистично значимим рівнем вважали $p \leq 0,05$, який визначали з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення. Перед початком перфузії досліджуваної речовини проводили реакцію скорочення гладеньких м'язів на внесення в середовище інкубації адреналіну в розчині Кребса, середнє значення амплітуди якої в контролі складало $(3,94 \pm 0,51)$ мН (табл. 1). Внесення в розчин Кребса оксазолвмісного пептидоміметика в концентрації

$1 \cdot 10^{-6}$ моль/л не змінювало вихідний тонус м'язового препарату, проте на 35 хв перфузії недостовірно знижувало амплітуду ініційованого адреналіном скорочення на 11,4 % від вихідного рівня, яка в середньому складала $(3,48 \pm 0,53)$ мН ($p = 0,077$).

Загальновідомо, що значна кількість вазодилаторів реалізує свої ефекти через механізми, пов'язані з блокадою повільних потенціалзалежних кальцієвих каналів L-типу, розміщених на мембранах клітин гладеньких м'язів стінки судин [15, 16]. У попередніх скринінгових дослідженнях було показано, що вазодилатаційна активність оксазолвмісного пептидоміметика проявляється в діапазоні концентрацій $1 \cdot 10^{-6}$ – $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л та подібна до такої ефективності похідного 1,4-дигідроїдропіридину, інгібітору вищевказаних каналів, нітрендипіну ($1 \cdot 10^{-5}$ та $1 \cdot 10^{-6}$ моль/л) [10]. У зв'язку з вказаним вище, було досліджено стан повільних потенціалзалежних кальцієвих каналів L-типу за умов присутності в середовищі інкубації оксазолвмісного пептидоміметика. З цієї метою в перфузат з розчином Кребса, що містив оксазолвмісний пептидоміметик ($1 \cdot 10^{-6}$ моль/л), додавали блокатор повільних потенціалзалежних кальцієвих каналів L-типу верапаміл ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л). Додаткове внесення в середовище інкубації верапамілу не змінювало вихідний тонус м'язового препарату. На 60 хв перфу-

**Дослідження вазоактивної дії оксазолвмісного
пептидоміметика ($1 \cdot 10^{-6}$ моль/л) на гладенькі м'язи аорти щура**

Середовище інкубації	Амплітуда реакції м'язів на адреналін, мН		M $\pm$ m, мН	Відсоток вихідного скорочення
	min	max		
Контроль (розчин Кребса)	3,33	4,94	$3,94 \pm 0,51$	100
Оксазолвмісний пептидо- міметик	2,84	4,54	$3,48 \pm 0,53$	88,6
Оксазолвмісний пептидо- міметик + верапаміл	1,00	2,89	$1,81 \pm 0,56$	45,9*
Оксазолвмісний пептидо- міметик (після вилучення з перфузату верапамілу)	1,63	2,91	$2,29 \pm 0,37$	58,1
Розчин Кребса (після вилучення з перфу- зату оксазолвмісного пептидоміметика)	1,91	3,33	$2,50 \pm 0,43$	63,5

Примітка. *Позначено статистично достовірні розбіжності ($p \leq 0,05$) порівняно з попереднім етапом дослідження; $n = 3$.

зії розчину Кребса, що містив додатково оксазолвмісний пептидоміметик ($1 \cdot 10^{-6}$ моль/л) та верапаміл ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л), спостерігали зниження амплітуди скоротливої реакції гладеньких м'язів на внесення в середовище інкубації адреналіну на 51,4 % порівняно з контрольними значеннями, і в середньому вона складала ($1,81 \pm 0,56$) мН ($p = 0,017$). Через 30 хв перфузії після заміни розчину Кребса на такий, що містив додатково тільки оксазолвмісний пептидоміметик ($1 \cdot 10^{-6}$ моль/л), амплітуда ініційованої адреналіном реакції зростала в середньому на 12,2 % порівняно з амплітудою реакції за умов одночасної присутності в розчині Кребса оксазолвмісного пептидоміметика ($1 \cdot 10^{-6}$ моль/л) та верапамілу ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л). Вилучення з розчину Кребса оксазолвмісного пептидоміметика ($1 \cdot 10^{-6}$ моль/л) призводило до подальшого збільшення амплітуди скоротливої реакції гладеньких м'язів на внесення в середовище інкубації адреналіну.

Дослідження вазодилатаційної активності оксазолвмісного пептидоміметика в концентрації $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л проводили за аналогічною схемою. Середнє значення амплітуди скоротливої реакції гладеньких м'язів на внесення в середовище інкубації адреналіну в контролі

складало ($4,34 \pm 0,43$) мН ($n = 7$). Внесення в розчин Кребса оксазолвмісного пептидоміметика ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л) не змінювало вихідний тонус м'язового препарату, проте знижувало на 35 хв перфузії амплітуду даної реакції на 30,9 % від вихідного рівня, яка в середньому складала ($3,00 \pm 0,39$) мН ($p < 0,001$) (табл. 2, рис. 2).

Додавання в середовище інкубації блокатора повільних потенціалзалежних кальцієвих каналів L-типу верапамілу ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л) не змінювало вихідний тонус м'язового препарату. Однак присутність у розчині Кребса оксазолвмісного пептидоміметика ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л) та верапамілу ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л) знижувала на 60 хв перфузії амплітуду ініційованої адреналіном реакції, яка в середньому складала ($2,09 \pm 0,34$) мН. Її зниження на 51,8 % ($p = 0,001$) на тлі сумісної перфузії оксазолвмісного пептидоміметика ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л) та верапамілу ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л) може вказувати на адитивність їхньої дії. Водночас збереження ефективної дії верапамілу на кальцієві канали L-типу в присутності в середовищі інкубації оксазолвмісного пептидоміметика дає підстави припускати, що вазодилатаційний вплив вказаних хімічних сполук реалізується через різні механізми. Після заміни розчину Кребса на такий, що містив додатково

**Дослідження вазоактивної дії оксазолвмісного пептидоміметика
($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л) на гладенькі м'язи аорти щура**

Середовище інкубації	Амплітуда реакції м'язів на адреналін, мН		M $\pm$ m, мН	Відсоток вихідного скорочення
	min	max		
Контроль (розчин Кребса)	3,48	6,17	4,34 $\pm$ 0,43	100
Оксазолвмісний пептидоміметик	2,13	4,51	3,00 $\pm$ 0,39	69,1*
Оксазолвмісний пептидоміметик + верапаміл	1,30	3,74	2,09 $\pm$ 0,34	48,2*
Оксазолвмісний пептидоміметик (після вилучення з перфузату верапамілу)	1,66	3,84	2,46 $\pm$ 0,28	56,7*
Розчин Кребса (після вилучення з перфузату оксазолвмісного пептидоміметика)	2,18	4,31	2,92 $\pm$ 0,31	67,5

Примітка. *Позначено статистично достовірні розбіжності ($p \leq 0,05$) порівняно з попереднім етапом дослідження; $n = 7$.

тільки оксазолвмісний пептидоміметик ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л), на 30 хв перфузії амплітуда скоротливої реакції гладеньких м'язів у відповідь на внесення в середовище інкубації адреналіну зростала на 8,5 % порівняно з амплітудою реакції за умови одночасної присутності в перфузаті верапамілу ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л) та оксазолвмісного пептидоміметика ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л), і становила в середньому ($2,46 \pm 0,28$) мН ($p = 0,007$). Вилучення з розчину Кребса останнього призводило до подальшого зростання амплітуди ско-

ротливої реакції гладеньких м'язів на внесення в середовище інкубації адреналіну.

Порівняння ефективності дії на гладенькі м'язи стінки нижньої частини грудної аорти оксазолвмісного пептидоміметика ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л) з ефективністю такого впливу оксазолвмісного пептидоміметика ($1 \cdot 10^{-6}$ моль/л) виявили існування розбіжностей за величиною вазодилатаційного впливу ($p = 0,008$). При цьому величина пригнічення скоротливої реакції гладеньких м'язів на

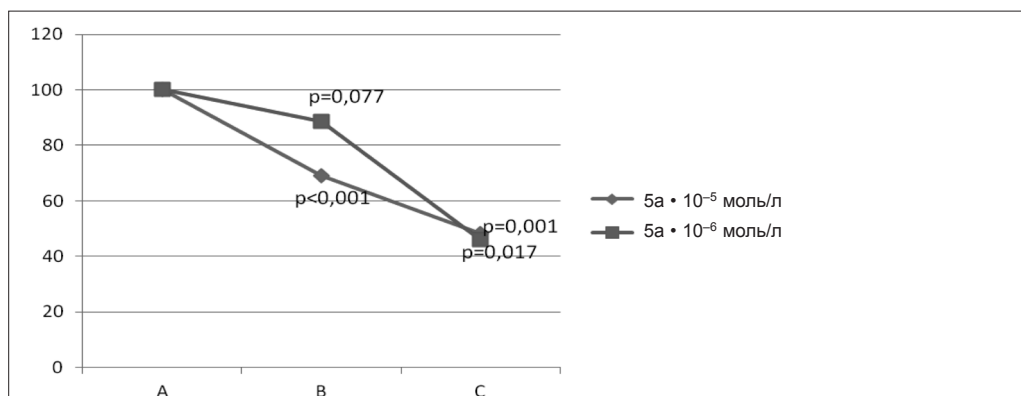


Рис. 3 Зміни амплітуди ініційованого адреналіном ($5 \cdot 10^{-6}$ моль/л) скорочення ізолюваних сегментів грудного відділу низхідної аорти щурів при перфузіях оксазолвмісного пептидоміметика, %

Примітка. А – амплітуда в розчині Кребса; В – амплітуда ініційованої адреналіном скоротливої реакції при внесенні в перфузат з розчином Кребса оксазолвмісного пептидоміметика у відповідній концентрації, 35 хв; С – амплітуда ініційованої адреналіном скоротливої реакції при внесенні в перфузат з оксазолвмісним пептидоміметиком у відповідній концентрації верапамілу ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л), 60 хв.

внесення в середовище інкубації адреналіну на фоні оксазолвмісного пептидоміметика ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л) і верапамілу ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л) складала 48,2 % ($p = 0,001$) та на фоні оксазолвмісного пептидоміметика ($1 \cdot 10^{-6}$ моль/л) та верапамілу ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л) складала 45,9 % ($p = 0,017$) (рис. 3). Оскільки оксазолвмісний пептидоміметик є ліпофільною сполукою, то не виключено, що збільшення тривалості в прояві ефекту в більш низькій концентрації пов'язане не з мембранною активністю цієї речовини, а з її проникненням всередину гладеньком'язових клітин та впливом на внутрішньоклітинні механізми формування судинного тону.

Висновки

1. В експериментах на ізольованих сегментах низхідної частини грудної аорти щурів показана здатність діетилового ефіру 5-алкіламіно-2-[N-[N-бензоїл-(4-метилбензиліден) гліцил] амінометил]-1,3-оксазол-4-іл фосфо-

нової кислоти в концентраціях $1 \cdot 10^{-6}$ моль/л та $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л знижувати амплітуду ініційованого адреналіном ($5 \cdot 10^{-6}$ моль/л) скорочення, що вказує на перспективність запропонованої сполуки для подальших досліджень як компонента нового потенційного лікарського засобу, який може знайти застосування в лікуванні артеріальної гіпертензії.

2. Вазодилатаційна активність оксазолвмісного пептидоміметика проявляється як окремо, так і при одночасній перфузії з блокатором повільних потенціалзалежних кальцієвих каналів L-типу верапамілом ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л). Збереження ефектної дії верапамілу в присутності в середовищі інкубації вищевказаної сполуки дає підстави припускати, що досліджений оксазолвмісний пептидоміметик не реалізує свою вазорелаксуючу активність через блокаду повільних потенціалзалежних кальцієвих каналів L-типу.

1. Клінічні рекомендації з артеріальної гіпертензії Європейського товариства гіпертензії (ESH) та Європейського товариства кардіологів (ESC) 2013 р. / G. Mancia, R. Fagart, K. Narkiewitar // Артеріальна гіпертензія. – 2013. – № 4. – С. 62–157.
2. Belichard P. Influence of spontaneous hypertension and cardiac hypertrophy on the severity of ischemic arrhythmias in the rat / Belichard P. // Basic Res Cardiol. – 2011. – V. 83. – P. 560–566.
3. Шуба М. Ф. Физиология сосудистых гладких мышц / Шуба М. Ф., Кочемасова Н. Г. – Киев : Наук. Думка, 1988. – 252 с.
4. Cutaia M. Reversal of Vascular Tachyphylaxis to Catecholamines and Histamine / Cutaia M., Friedrich P, Porcelli R. J. // American Review of Respiratory Disease. 2011. – V. 137, № 6. – P. 1336–1342.
5. Пат. №87691UA, МПК C07C 43/00 (2014. 01). Сполука 1,2 – ди (бета – гідроксіетилокси) бензол з гіпотензивною активністю / Ніженковська І. В., Горчакова Н. О.; – власник Національний медичний університет імені О. О. Богомольця. – № у 2013 11860; заявл. 09.10.2013; опубл. 10.02.2014, Бюл. № 3.
6. Стрілець О. П. Аналіз вітчизняного фармацевтичного ринку антигіпертензивних лікарських препаратів / Стрілець О. П., Стрельникова Ю. Л., Стрельников Л. С. // Запорожский медицинский журнал. – 2011. – Т. 13, № 4. – С. 54–55.
7. Николаев Н. А. Инновационная антигипертензивная терапия в свете завершенных научных исследований / Николаев Н. А. // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2009. – № 2. – С. 89–97.
8. Вазодилатуючі ефекти N-(2-арил-4-тіокарбамоїл-1,3-оксазол-5-іл)-β-аланінів – специфічних інгібіторів протеїнкінази CK2 / Яковенко І. Н., Шабликін І. В., Козаченко О. П., Броварець В. С. // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2012. – Т. 10, вип. 3 (39). – С. 55–58.
9. Пошук специфічних інгібіторів протеїнкінази CK2 / Шабликін О. В., Кухаренко О. П., Яковенко І. Н., Ярмолюк С. Н. // Ucrainica bioorganica acta. – 2008. – № 1. – С. 28–36.
10. Синтез і дослідження вазоактивних властивостей нових фосфорильованих пептидоміметиків / Яковенко І. Н., Лукашук О. І., Кондратюк К. М. [та ін.] // Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry. – 2013. – V. 11, Iss. 3 (43). – P. 43–50.
11. Эксперименты на изолированных препаратах гладких мышц / Р. Блаттнер, Х. Классен, Х. Денерт [и др.]. – Москва : Мир, 1983. – 206 с.
12. Науково-методичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожемякін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – Київ : ВД «Авіцена», 2002. – 156 с.
13. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / За ред. О. В. Стефанова. – Київ: ВД «Авіцена», 2002. – 527 с.

14. Динамика сократительной активности изолированного кольцевого препарата аорты крыс под влиянием амиллина / Лукьянцева Г. В., Сергеев И. Ю., Пастухова В. А., Гунина Л. М. // Украинський морфологічний альманах. – 2013. – Т. 11, № 1. – С. 77–78.
15. Mikkelsen E. Comparative studies on the effects of tolmesoxide, a tolmesoxide metabolite and nifedipine in isolated blood vessels / Mikkelsen E., Lederballe Pedersen O. // Br. J. Pharmac. – 2001. – V. 73. – P. 799–805.
16. Bers D. Species differences and the role of sodium-calcium exchange in muscle relaxation / Bers D. // NY Acad Sci. – 2009. – V. 639. – P. 375–385.

**І. В. Ніженковська, О. В. Романенко, К. В. Седько, М. М. Груша,
В. С. Броварець, О. В. Головченко**

Вивчення вазоактивних властивостей діетилового ефіру 5-алкіламіно-2-{N-[N-бензоіл-(4-метилбензиліден) гліцил] амінометил}-1,3-оксазол-4-іл фосфонової кислоти на ізольованій аорті щурів

Враховуючи обмежене коло ефективних і малотоксичних фармакологічно активних речовин, які застосовуються як антигіпертензивні лікарські засоби, пошук нових субстанцій, здатних проявляти вазотропну дію, є актуальним напрямом сучасної фармакології.

Мета дослідження – визначення ймовірних шляхів реалізації фармакологічної активності та ефективності судинорозширюючої дії оксазолвмісного пептидоміметика з використанням живої тест-системи ізольованих сегментів грудної частини низхідної аорти щурів.

Оцінено вазодилатаційні властивості вищезазначеної сполуки на скоротливу активність гладеньких м'язів ізольованих сегментів низхідної частини грудної аорти щурів. Показано ефективність дії сполуки в концентрації $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л, у якій вона проявляє судинорозширюючий ефект за рахунок зниження амплітуди ініційованого адреналіном ($5 \cdot 10^{-6}$ моль/л) скорочення гладеньком'язового компонента судинної стінки. Збереження верапамілом ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л) здатності зменшувати амплітуду ініційованої адреналіном вищевказаної реакції дає підстави вважати, що досліджений оксазолвмісний пептидоміметик не реалізує свою вазорелаксуючу активність через блокаду повільних потенціалзалежних кальцієвих каналів L-типу. Отримані результати вказують на перспективність діетилового ефіру 5-алкіламіно-2-{N-[N-бензоіл-(4-метилбензиліден) гліцил] амінометил}-1,3-оксазол-4-іл фосфонової кислоти для подальших досліджень як компонента потенційного лікарського засобу, який може знайти застосування в лікуванні артеріальної гіпертензії.

Ключові слова: оксазолвмісний пептидоміметик, вазоактивні властивості, вазодилатація, скоротлива активність гладеньких м'язів, ізольовані сегменти аорти

**І. В. Ниженковская, А. В. Романенко, Е. В. Седько, М. М. Груша,
В. С. Броварец, А. В. Головченко**

Изучение вазоактивных свойств диетилового эфира 5-алкиламино-2-{N-[N-бензоил-(4-метилбензилиден) глицил] аминометил}-1,3-оксазол-4-ил фосфоновой кислоты на изолированной аорте крыс

Учитывая ограниченный круг эффективных и малотоксичных фармакологически активных веществ, которые используются в качестве антигипертензивных лекарственных средств, поиск новых субстанций, способных проявлять вазотропное действие, является актуальным направлением современной фармакологии.

Цель исследования – определение возможных путей реализации фармакологической активности и эффективности сосудорасширяющего действия оксазолсодержащего пептидомиметика с применением тест-системы изолированных сегментов грудной части нисходящей аорты крыс.

Оценены вазодилатационные свойства вышеуказанного соединения на сократительную активность гладких мышц изолированных сегментов нисходящей части грудной аорты крыс. Показана эффективность действия предложенного соединения в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л, в которой она проявляет сосудорасширяющий эффект за счет понижения амплитуды инициированного адреналином ($5 \cdot 10^{-6}$ моль/л) сокращения гладкомышечного компонента сосудистой стенки. Сохранение верапамилом ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л) способности понижать амплитуду вышеуказанной реакции дает основание считать, что исследованный оксазолсодержащий пептидомиметик не реализует свою вазорелаксирующую активность через блокаду медленных потенциалзависимых кальциевых каналов L-типа. Полученные результаты указывают на перспективность дальнейших исследований диетилового эфира 5-алкиламино-2-{N-[N-бензоил-(4-метилбензилиден) глицил] аминометил}-1,3-оксазол-4-ил фосфоновой кислоты в качестве компонента потенциального лекарственного средства, которое может найти применение в лечении артериальной гипертензии.

Ключевые слова: оксазолсодержащий пептидомиметик, вазоактивные свойства, вазодилатация, сократительная активность гладких мышц, изолированные сегменты аорты

I. V. Nizhenkovska, A. V. Romanenko, K. V. Sedko, M. M. Grusha, V. S. Brovarets, A. V. Golovchenko

Studying of vasoactive properties of diethyl ester of 5-alkylamine-2-{N-[N-benzoyl-(4-methylbenzal) glyceryl] aminomethyl}-1,3-oxasole-4-yl phosphonic acid on rat's isolated aorta

Considering the limited number of effective and low-toxic active pharmacological ingredients, used as antihypertensive drugs, the search for new substances, which develop the vasotropic action is the actual direction of modern pharmacology.

The aim of research was determination of possible ways of the pharmacological activity realization and vasodilator action efficiency of oxasole-containing peptidomimetic, using a live test-system of isolated segments of the rat thoracic descending aorta.

The vasodilation properties of the aforesaid compound on smooth muscle contractile activity of isolated segments of the rat thoracic descending aorta were tested. It was shown the efficiency of proposed substance at $1 \cdot 10^{-5}$ M concentration, in which it develops vasodilator effect by reducing the amplitude initiated by adrenalin ($5 \cdot 10^{-6}$ M) contraction of smooth muscle component of the vascular wall. Saving by verapamil ($1 \cdot 10^{-5}$ M) the ability to decrease the amplitude of initiated by adrenaline above reaction suggests that investigated oxasole-containing peptidomimetic realises its vasodilator activity not by blockade of slow voltage-dependent L-type calcium channels. The received results indicate on availability of diethyl ester of 5-alkylamine-2-{N-[N-benzoyl-(4-methylbenzal) glyceryl] aminomethyl}-1,3-oxasole-4-yl phosphonic acid for the next researches as the component of potential medicine, which can be used for treatment of arterial hypertension.

Key words: oxasole-containing peptidomimetic, vasoactive properties, vasodilatation, constrictive activity of smooth muscles, isolated segments of aorta

Надійшла: 3 серпня 2015 р.

Контактна особа: Седько Катерина Володимирівна, асистент, кафедра фармацевтичної, біологічної та токсикологічної хімії, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ. Тел.: + 38 0 93 344 79 30. Електронна пошта: KettySedko@mail.ru.

О. В. Севрюков, В. А. Волковой, С. В. Колісник, К. М. Ситнік

Визначення антиексудативної активності нових сполук у ряду похідних 5,7-дигідро-1H-піроло [2,3-d] піримідину

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: антиексудативна активність, карагеніновий набряк, похідні 5,7-дигідро-1H-піроло[2,3-d] піримідину, гостра токсичність

Запалення – місцева реакція живої тканини на ушкодження, яка може протікати як хвороба за участю всіх систем організму. Причини запалення можуть бути різними: від дії мікроорганізмів до дії фізичних та хімічних факторів. У патогенезі запальних реакцій одним з ключових механізмів ушкодження тканин є процес вільно-радикального окиснення. За тривалої активації окисних процесів відбувається розвиток синдрому ліпопероксидації – ушкодження мембранних ліпідів, накопичення продуктів перекисної деструкції ліпідів і білків, які порушують структуру мембран клітин та призводять до розвитку альтеративних і ексудативних процесів у тканинах [1]. Для лікування запальних процесів застосовують нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ), механізм дії яких пов'язаний зі здатністю пригнічувати синтез простагландинів шляхом блокування ферментів циклооксигенази. Деякі НПЗЗ здатні інгібувати утворення вільних радикалів, що визначає їхню антиокиснювальну, антиоксидантну та мембраностабілізуючу дію. Фармакологічна корекція запального процесу залишається найактуальнішою проблемою сучасної медицини, а перспективні протизапальні препарати крім антиексудативної активності мають проявляти антиоксидантну [2, 3]. Становило інтерес вивчити протизапальну (антиексудативну) активність нових похідних 5,7-дигідро-1H-піроло[2,3-d] піримідину, що були синтезовані на кафедрі органічної хімії Національного фармацевтичного університету доцентом К. М. Ситні-

ком під керівництвом академіка В. П. Черниха. На кафедрі патологічної фізіології Національного фармацевтичного університету було встановлено, що деякі з цих сполук мали антигіпоксичну та антиоксидантну активність.

Мета дослідження – вивчити антиексудативну активність нових похідних 5,7-дигідро-1H-піроло[2,3-d] піримідину на моделі карагенінового набряку в щурів та гостру токсичність сполуки-лідера.

Матеріали та методи. Антиексудативну активність вивчали на білих нелінійних щурах масою 180–200 г на моделі набряку, викликаного субплантарним введенням у стопу щура 0,1 мл 1 % розчину карагеніну [4]. У механізмі розвитку карагенінового набряку беруть участь різні медіатори запалення: у перші 30–90 хв – переважно серотонін і гістамін, у інтервалі 1,5–2,5 год – кініні, а 2,5–5,5 год – простагландини. За 1 год до введення карагеніну 1 групі тварин (контрольна патологія) внутрішньошлунково вводили 1 мл дистильованої води, іншим групам вводили внутрішньошлунково одну з досліджуваних сполук у дозі 8 мг/кг маси тварини, або вольтарен (диклофенак натрію) – стандартний препарат порівняння, класичний інгібітор ЦОГ внутрішньошлунково в ефективній дозі – 8 мг/кг. У кожній групі було по 6 тварин. За розвитком набряку спостерігали в динаміці через 1, 2, 3, 4 год, для чого вимірювали об'єм стоп за допомогою механічного онкометра А. С. Захаревського. Максимальний набряк спостерігали через 4 год. Величину набряку розраховували за різницею між об'ємом здорової та набряклої кінцівки. Антиексудативну активність досліджуваних сполук визначали за ступенем зменшення набряку в дослідних тварин відносно

контрольної групи. Антиексудативну активність виражали у відсотках і розраховували за формулою:

$$A = \frac{V_k - V_d}{V_k} \cdot 100 \%,$$

де A – антиексудативна активність;
 $(V_k - V_d)$ – різниця об'ємів між ненабряккою та набряккою стопою в контролі та досліді.

Середньосмертельну дозу сполуки KMS-211, яка проявила найвищу антиексудативну активність, розраховували за методом Кербера [5]. Розрахунки LD_{50} проводили за формулою:

$$LD_{50} = LD_{100} - \frac{\Sigma(zd)}{n};$$

де LD_{100} – кількість речовини, яка викликала летальний ефект у 100 % стандартної групи піддослідних тварин протягом терміну спостереження;

d – інтервал між кожними двома суміжними дозами;

z – середнє арифметичне з числа загиблих тварин під впливом кожних двох суміжних доз;

$\Sigma(zd)$ – сума середньоарифметичних чисел;

n – кількість піддослідних тварин у кожній групі.

Стандартну похибку середньої величини LD_{50} визначали за формулою Геддама:

$$S_{LD50} = \sqrt{\frac{Ksd}{n}},$$

де K – коефіцієнт 0,564;

s – стандарт розподілення;

d – інтервал між кожними двома суміжними дозами;

n – число тварин у групах.

Верхню та нижню довірчі межі LD_{50} сполуки KMS-211 визначали за формулою $x - t \cdot Sx$ та $x + t \cdot Sx$, t – величина, що залежить від n і знаходиться за таблицею (при $f = n - 1$, $n = 6$ і $p = 0,05$, $t = 2,45$). Експерименти було проведено на 6 групах тварин. Субстанцію KMS-211 вводили внутрішньоочеревинно мишам у дозах 1000, 1500, 2000, 2500, 3500 мг/кг маси тіла тварини, щурам – 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000 мг/кг маси тіла.

Статистичну достовірність оцінювали за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA. Достовірною вважали різницю при $p < 0,05$ [6].

Результати та їх обговорення. Вивчено 15 нових сполук під шифрами: KMS: 161, 162, 163, 164, 166, 168, 172, 174, 176, 178, 179, 191, 211, 214, 217, що являються похідними 5,7-дигідро-1Н-піроло[2,3-d] піримідину.

Аналіз отриманих даних (табл. 1) свідчить про те, що з 15 сполук тільки 4 (KMS-191, 211, 214, 217) проявили антиексудативну активність у межах від 36,9 до 48,8 %. Найбільшу флоголітичну активність, аналогічну дії вольтарену, виявлено в сполуки KMS-211 ($p < 0,05$ щодо контролю).

Аналізуючи хімічну залежність нових сполук можна вважати, що похідні 5,7-дигідро-1Н-піроло[2,3-d] піримідину (сполуки KMS-191, 211, 214, 217) становлять перспективну групу для подальшого вивчення. Інші похідні проявили меншу протизапальну дію (сполуки KMS: 178, 179), інші сполуки не проявили антиексудативну дію.

Середньосмертельну дозу найактивнішої сполуки KMS-211 (умовна назва «Дезапур») визначали за методом Кербера на двох видах тварин при внутрішньоочеревинному введенні (табл. 2, 3).

Виходячи з отриманих результатів, було розраховано середньосмертельну дозу сполуки KMS-211 для мишей при внутрішньоочеревинному введенні, що становить 3041,7 мг/кг ($3187,13 \div 2896,27$), для щурів 4250 мг/кг ($4421,4 \div 4078,6$). За класифікацією К. К. Сидорова, сполука KMS-211 відноситься до VI класу, тобто є речовиною відносно нешкідливою [7].

Висновки

1. Серед нових похідних 5,7-дигідро-1Н-піроло[2,3-d] піримідину виявлено сполуку KMS-211 з антиексудативною дією, аналогічною диклофенаку.
2. Середньосмертельна доза сполуки KMS-211 при внутрішньоочеревинному введенні мишам та щурам, розрахована за методом Кербера, дорівнює 3041,7 мг/кг та 4250 мг/кг відповідно.

Таблиця 1

Антиексудативна дія похідних 5,7-дигідро-1H-піроло[2,3-d] піримідину на моделі карагенінового набряку в щурів

Шифр сполуки	Об'єм кінцівки, від. од., $\bar{X} \pm Sx$	Антиексудативна активність, %
Набряк (контроль)	21,40 $\pm$ 0,54	–
Вольтарен	10,90 $\pm$ 0,33*	49,2
KMS-161	22,80 $\pm$ 0,48	-6,8
KMS-162	23,30 $\pm$ 0,53	-8,9
KMS-163	22,90 $\pm$ 0,41	-7,2
KMS-164	20,35 $\pm$ 0,59	4,9
KMS-166	21,1 $\pm$ 0,5	1,3
KMS-168	21,30 $\pm$ 0,58	0,5
KMS-172	21,30 $\pm$ 0,63	0,5
KMS-174	21,60 $\pm$ 0,58	-1,2
KMS-176	21,20 $\pm$ 0,55	0,8
KMS-178	18,40 $\pm$ 0,76*	14,0
KMS-179	17,43 $\pm$ 0,42*	18,6
KMS-191	11,33 $\pm$ 0,45*	47,1
KMS-211	11,00 $\pm$ 0,38	48,8
KMS-214	12,66 $\pm$ 0,27*	40,8
KMS-217	13,51 $\pm$ 0,33*	36,9

Примітка. *Достовірно щодо контролю ($p < 0,05$), $n = 6$.

Таблиця 2

Визначення гострої токсичності сполуки KMS-211 (Дезапуру) у мишей при внутрішньоочеревинному введенні, $n = 6$

Серія	Доза, мг/кг	Кількість тварин, що вижили	Кількість загинув тварин, %	
			кількість	%
I	1000	6	0	0,00
II	1500	6	0	0,00
III	2000	6	0	0,00
IV	2500	5	1	16,70
V	3000	3	3	50
VI	3500	0	6	100

Таблиця 3

Визначення гострої токсичності сполуки KMS-211 (Дезапуру) у щурів при внутрішньоочеревинному введенні, $n = 6$

Серія	Доза, мг/кг	Кількість тварин, що вижили	Кількість загинув тварин, %	
			кількість	%
I	2500	6	0	0,00
II	3000	6	0	0,00
III	3500	5	1	16,70
IV	4000	4	2	33,33
V	4500	3	3	50
VI	5000	0	6	100

1. Acute oral toxicity and anti-inflammatory activity of hydroalcoholic extract from *Lampaya medicinalis* Phil in rats / G. Morales, A. Peredes, A. Olivares [et al.] // *Biological Research*. – 2014. – V. 47 (6).
2. New drug targets in depression: inflammatory, cell-mediate immune, oxidative and nitrosative stress, mitochondrial, antioxidant and neuroprogressive pathways / Maes M., Fisar Z., Medina M., Scapagnini G. // *Inflammopharmacology*. – 2012. – T. 20 (3). – P. 127–150.
3. Caro A. A. Oxidative stress, toxicology, and pharmacology of CYP 2 E1 / A. A. Caro, A. I. Cererbum // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 2004. – V. 44. – P. 27–42.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів / О. В. Стефанов. – Київ : «Авіцена», 2001. – С. 292–307.
5. Сернов Л. Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л. Н. Сернов, В. В. Гацура. – Москва : Медицина, 2000. – С. 117–320.
6. Методы статистической обработки медицинских данных : методические рекомендации / А. Г. Кочетов, О. В. Лянг, И. В. Жиров [и др.]. – Москва : РКНПК, 2012. – 42 с.
7. Сидоров К. К. Токсикология новых промышленных химических веществ. – Вып. 13. – Москва, 1973. – С. 47–51.

О. В. Севрюков, В. А. Волковой, С. В. Колісник, К. М. Ситнік
Визначення антиексудативної активності нових сполук в ряду похідних
5,7-дигідро-1Н-піроло[2,3-d] піримідину

Мета дослідження – вивчення антиексудативної активності нових похідних 5,7-дигідро-1Н-піроло[2,3-d] піримідину на моделі карагенинового набряку в щурів та гострої токсичності сполуки-лідера.

Антиексудативну активність вивчали на білих нелінійних щурах масою 180–200 г на моделі набряку, викликаного субплантарним введенням у стопу щура 0,1 мл 1 % розчину карагенину. За 1 год до введення карагенину 1 групі тварин (контрольна патологія) внутрішньошлунково вводили 1 мл дистильованої води, іншим групам вводили внутрішньошлунково одну з досліджуваних сполук у дозі 8 мг/кг маси тварини або вольтарен – стандартний препарат порівняння в ефективній дозі 8 мг/кг внутрішньошлунково. За розвитком набряку спостерігали в динаміці через 1, 2, 3, 4 год, для чого вимірювали об'єм стоп за допомогою механічного онкометра А. С. Захаревського. Середньосмертельну дозу сполуки KMS-211, яка проявила найвищу антиексудативну активність, досліджували на двох видах тварин за внутрішньоочеревинного введення та розраховували за методом Кербера.

Аналіз отриманих даних свідчить про те, що з 15 сполук тільки 4 (KMS-191, 211, 214, 217) мали антиексудативну активність у межах від 36,9 до 48,8 %. Найбільшу флоголітичну активність, аналогічну дії вольтарену, виявлено в сполуки KMS-211.

Середньосмертельна доза сполуки KMS-211 для мишей при внутрішньоочеревинному введенні становить 3041,7 мг/кг (3187,13 ± 2896,27), для щурів – 4250 мг/кг (4421,4 ± 4078,6).

Таким чином, серед досліджуваних похідних 5,7-дигідро-1Н-піроло[2,3-d] піримідину найвищу антиексудативну активність виявила сполука KMS-211, яка за визначенням середньосмертельної дози може бути віднесена до VI класу токсичності за класифікацією К. К. Сидорова (порівняно нетоксичні речовини).

Ключові слова: антиексудативна активність, карагениновий набряк, похідні 5,7-дигідро-1Н-піроло[2,3-d] піримідину, гостра токсичність

А. В. Севрюков, В. А. Волковой, С. В. Колесник, К. М. Сытник
Определение антиэкссудативной активности новых соединений в ряду
производных 5,7-дигидро-1Н-пирроло[2,3-d]пириимидина

Цель исследования – изучить антиэкссудативную активность новых производных 5,7-дигидро-1Н-пирроло [2,3-d] пириимидина на модели карагенинового отека у крыс и острую токсичность соединения-лидера. Антиэкссудативную активность изучали на белых нелинейных крысах 180–200 г на модели отека, вызванного субплантарным введением в стопу крысы 0,1 мл 1 % раствора карагенина. За 1 ч до введения карагенина одной группе животных (контрольная патология) внутрижелудочно вводили 1 мл дистиллированной воды, остальным группам – вводили внутрижелудочно одно из исследуемых соединений в дозе 8 мг/кг массы животного или вольтарен – стандартный препарат сравнения в его эффективной дозе 8 мг/кг. За развитием отека наблюдали в динамике через 1, 2, 3, 4 ч, для чего измеряли объем стоп с помощью механического онкометра А. С. Захаревского. Среднесмертельную дозу соединения KMS-211, которое проявило высокую антиэкссудативную активность, определяли на двух видах животных при внутрибрюшинном введении и рассчитывали по методу Кербера.

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что среди 15 соединений только 4 (KMS-191, 211, 214, 217) проявили антиэкссудативную активность в пределах от 36,9 до 48,8 %. Наибольшую флоголитическую активность, аналогичную действию вольтарена, обнаружено у соединения KMS-211.

Среднесмертельная доза соединения KMS-211 для мышей при внутрибрюшинном введении составляет 3041,7 мг/кг (3187,13 ± 2896,27), для крыс – 4250 мг/кг (4421,4 ± 4078,6).

Таким образом, среди исследуемых производных 5,7-дигидро-1H-пирроло [2,3-d] пиримидина наивысшую антиэкссудативную активность проявило соединение KMS-211, которое по результатам определения среднесмертельной дозы при внутрибрюшинном введении мышам и крысам может быть отнесено к VI классу токсичности по классификации К. К. Сидорова (относительно нетоксические вещества).

Ключевые слова: антиэкссудативная активность, карагениновый отек, производные 5,7-дигидро-1H-пирроло[2,3-d] пиримидина, острая токсичность

A. V. Sevryukov, V. A. Volkovoy, S. V. Kolisnyk, K. M. Sytnik

Determination of antiexudative activity of new derivatives 5,7-dihydro-1h-pyrrolo [2,3-d] pyrimidine

The aim of this research was to study the antiexudative activity of new derivatives of 5,7-dihydro-1H-pyrrolo [2,3-d] pyrimidine under the model of karagenin edema in rats and acute toxicity of the leader compound.

Antiexudative activity was studied on white non-linear rats 180–200 g under the model of karagenin edema induced by subcutaneous injection of 0,1 ml 1% karagenin solution in rat's rear foot. The first group of animals (control) was administered intragastrically 1 ml of distilled water 1 hour before karagenin, the animals of another groups were intragastrical administered one of the test compounds at a dose of 8 mg/kg of body weight or voltaren – standard reference-drug in its effective dose 8 mg/kg. Development of edema was observed in dynamics after 1, 2, 3, 4 hours and its value was measured by a mechanical onkometer. The acute toxicity of the leader compound KMS-211 with highest antiexudative activity was determined after intraperitoneal injections to mice and rats and calculated according to Kerber's method.

It was shown that only 4 (KMS-191, 211, 214, 217) from 15 compounds posses the antiexudative activity in the range from 36,9 to 48,8%. The greatest flogolytic activity, similar to Voltaren, found the compound under the code KMS-211.

The average lethal dose of KMS-211 after intraperitoneal injection was 3041,7 mg/kg (3187,13 ÷ 2896,27) for mice and 4250,0 mg/kg (4421,4 ÷ 4078,6) for rats.

Thus, among the tested derivatives of 5,7-dihydro-1H-pyrrolo [2,3-d] pyrimidine the highest antiexudative activity were founded for the compound KMS-211. Determination of its average lethal doses after intraperitoneal injection to mice and rats shown that the compound KMS-211 can be refers to practically non-toxic substances (the VI class of toxicity).

Key words: antiexudative activity, karagenin edema, derivatives of 5,7-dihydro-1H-pyrrolo [2,3-d] pyrimidine, acute toxicity

Надійшла: 27 липня 2015 р.

Контактна особа: Севрюков О. В., Національний фармацевтичний університет, буд. 53, вул. Пушкінська, м. Харків, 61002.

И. Э. Кузнецов

Фармакоэкономический аспект применения препаратов кеторолака в терапии болевых синдромов на внегоспитальном этапе

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

Ключевые слова: *болевой синдром, обезболивающие средства, кеторолак, догоспитальный этап, фармакоэкономический анализ*

Болевые синдромы являются одними из наиболее распространенных патологических состояний в клинической практике. Они часто приводят к тяжелым страданиям, инвалидизации и, как следствие этого, к снижению качества жизни, а также к значительным экономическим расходам [1, 2]. Поэтому проблема лечения и регуляции боли является одной из наиболее актуальных в современной медицине. Наиболее частой причиной обращения больных за неотложной медицинской помощью, в том числе требующей проведения обезболивания, остается болевой синдром (из 14,5 млн экстренных обращений умеренный болевой синдром был выявлен у 2 млн пациентов (14 % случаев), выраженный – у 2,9 (20 %) [3]. Подбор препарата для обезболивания на внегоспитальном этапе достаточно сложен. Он должен учитывать эффективность, безопасность препарата, участие медицинского персонала, а также общие экономические расходы на обезболивание [4].

Цель исследования – проведение фармакоэкономического анализа применения препаратов кеторолака в сравнении с другими средствами для купирования болевых синдромов на внегоспитальном этапе.

Наркотические анальгетики, несмотря на высокую эффективность, имеют строго регламентированное и ограниченное применение, что связано с их воздействием на опиатные рецепторы, в результате чего возникает физическая и психическая зависимость, нар-

комания, а также другие серьезные побочные эффекты. Ненаркотические анальгетики (анальгетики-антипиретики и нестероидные противовоспалительные препараты – НПВС), хотя и не вызывают привыкание, однако обладают, как правило, умеренной обезболивающей активностью, что сужает область их применения, хотя они являются высоко эффективными средствами при определенных видах боли (ревматические боли, зубная боль, головная боль и др.) [5]. Фармакокинетические характеристики, как правило, позволяют их использовать, минуя парентеральный путь [6]. Однако данные препараты могут вызывать широкий спектр серьезных побочных реакций со стороны различных органов и систем организма, особенно при системном их применении. Так, для анальгетиков с циклооксигеназным механизмом действия существуют значительные риски возникновения побочных эффектов, представляющих серьезную угрозу здоровью, а иногда и жизни пациента: поражения ЖКТ – язвы желудка и двенадцатиперстной кишки (НПВС), нарушение функций печени (парацетамол и др.), повышенный риск возникновения инфарктов, инсультов (избирательные ингибиторы ЦОГ-2, а также диклофенак), нефротоксичность и многие другие [7, 8]. В этом отношении перспективен кеторолак, который является мощным анальгетиком (внутримышечное введение 30 мг препарата оказывает действие, сопоставимое с эффектом 10–12 мг морфина или 50 мг меперидина). Препарат эффективен как при оральном, так и при парентеральном введении. Отмечается быстрое наступление анальгетического эффекта с невысоким риском развития нежелательных явлений и осложнений в месте

инъекции [9, 10]. С момента появления на канадском рынке в апреле 1991 года кеторолак стал очень популярным среди врачей, что обусловлено как эффективным маркетингом, так и эффективностью препарата. Так, в рекламе Compendium of Pharmaceuticals (1992 г.) кеторолак представлялся как препарат прорыва в терапии боли, а также как альтернатива применению опиоидов для лечения болевых синдромов [11]. Дальнейший опыт применения показал, что кеторолак является НПВС с выраженной обезболивающей активностью. Анальгетическая эффективность кеторолака была изучена в послеоперационном периоде как у стационарных, так и амбулаторных больных, а также у пациентов с другими острыми болевыми состояниями [12]. Кеторолак считается препаратом выбора для купирования интенсивной боли, особенно при травме. Кратковременное его использование возможно и при обострении хронической боли у пациентов с дегенеративно-дистрофическими заболеваниями позвоночника, ревматоидным артритом, остеоартрозом и т. д. Также препарат эффективен у детей, перенесших грыжесечение, удаление миндалин или другие операции, связанные с легкой и умеренной болью [13, 14]. Показано, что при выраженной боли в спине эффективность кеторолака была сравнима с действием меперидина и превосходила таковую для комбинации парацетамола и кодеина при менее выраженных нежелательных реакциях [15, 16]. С другой стороны, в ряде исследований было показано соответствие активности кеторолака при терапии болевых синдромов другим известным НПВС. Так, выявлено, что однократное внутримышечное введение кеторолака в дозе 60 мг при острой боли было сопоставимо с эффективностью 800 мг ибупрофена при приеме внутрь [17]. Обезболивающая активность 30 мг кеторолака при внутривенном введении для терапии почечной колики соответствовала таковой 2,5 г метамизола в комбинации со спазмолитиками при внутривенном введении [18]. В ряде исследований показано соответствие обезболивающей

активности кеторолака и диклофенака [19, 20]. Поэтому при выборе препарата для лечения болевого синдрома нередко исходят из правильной оценки нозологии и фармакоэкономической перспективности применения лекарственного препарата, включающей, помимо эффективности и безопасности лечения, стоимость препарата, частоту его применения, степень и частоту привлечения медицинского персонала и другие характеристики [21].

Выбор оптимального препарата важен и при обезболивании на внегоспитальном этапе, где кеторолак занял свою нишу [22]. В настоящее время терапия анальгетиком перспективна, исходя из критериев эффективности, безопасности, а также его стоимости. Учитывая относительную общность фармрынков Украины и России (РФ), а также близкие подходы к обезболиванию [23, 24], стоит привести данные о фармакоэкономической перспективности применения препаратов кеторолака в РФ. Так, авторы [25] исследовали в сравнительном аспекте эффективность диклофенака натрия и кеторолака на этапе оказания скорой медицинской помощи. Пациенты были разбиты на 2 группы, сопоставимые по возрасту и полу: диклофенак натрия – 153, кеторолак – 318 пациентов. У пациентов доминировал травматический болевой синдром. Согласно оценке динамики боли с помощью визуально-аналоговой шкалы (ВАШ) и шкалы облегчения боли, по силе и скорости наступления отчетливого обезболивающего действия кеторолак превосходил диклофенак. При фармакоэкономическом анализе, проведенном с учетом количества единиц лекарства, повторных вызовов, их стоимости, а также общей стоимости лечения и затрат на одного пациента, было показано, что затраты на единицу эффективности составляют для кеторолака 0,46 руб., диклофенака – 1,19 руб. в ценах 2008–2009 года.

В сравнительном аспекте была изучена эффективность и безопасность применения НПВС (метамизола натрия, кеторолака, диклофенака, ревалгина, лорноксикама) для терапии сильных болевых синдромов [26]. Показана наи-

большая эффективность кеторолака при скелетно-мышечной и травматической боли в сравнении с другими НПВС. Однако при почечной колике он уступал по эффективности лорноксикаму и диклофенаку. При однократном применении лорноксикам и кеторолак проявляли наименьшие побочные эффекты – 2,55 % общие, 1,60 % местные и 2,15 % общие, 1,0 % местные соответственно. С экономической точки зрения однократное обезболивание метамизолом натрия обходилось дешевле, однако после его применения отмечено большее количество повторных вызовов и возникновения побочных эффектов в сравнении с другими анальгетиками, что в конечном итоге приводило к увеличению затрат на лечение. Таким образом, наиболее экономически выгодным оказалось применение кеторолака.

Показано значительное превосходство кеторолака над лорноксикамом, диклофенаком, метамизолом на догоспитальном этапе [3]. Кеторолак в дозе 30 мг/мл при скелетно-мышечной боли, боли, связанной с травмой, а также при почечной колике превышал по скорости наступления эффекта и его силе метамизол натрия (2 мл 50 % раствора

внутримышечно), диклофенак (3 мл–75 мг внутримышечно), и в ряде случаев лорноксикам (8 мг/2 мл внутримышечно). При этом фармакоэкономические характеристики кеторолака были более предпочтительными, нежели у препаратов сравнения (таблица).

Имеются данные о большей эффективности обезболивания лорноксикамом в сравнении с кеторолаком [27]. Как правило, лорноксикам проявляет несколько большую эффективность при болях с наиболее выраженным воспалительным компонентом. Выраженность побочных эффектов при применении лорноксикама низкая и близка к таковой кеторолака. Однако стоимость лорноксикама в 3,28 раза выше, нежели кеторолака (в ценах 2004 г.) что, по мнению авторов, делает более фармакоэкономически выгодным применение кеторолака.

Перспективно использование кеторолака в комплексной терапии боли при остеохондрозе позвоночника. Фармакоэкономический анализ, включавший расчет прямых расходов на медицинское обслуживание и индекс стоимости/эффективности, показал существенные преимущества наряду с мень-

Таблица

Фармакоэкономический анализ применения различных обезболивающих средств на догоспитальном этапе [3]

Показатель	Метамизол, n = 240	Диклофенак, n = 153	Кеторолак, n = 318	Лорноксикам, n = 95
Количество единиц лекарства	1 ампула (2 мл 50 % раствора)	1 ампула (3 мл, 75 мг)	1 ампула (1 мл, 30 мг)	1 флакон (8 мг)
Стоимость единицы лекарства (руб.)	0,63	36,36	10,86	97,23
Количество страховых вызовов	32	9	11	3
Стоимость страховых вызовов, руб.	25 600	7200	8800	2700
Общая стоимость лечения, руб.	25 751,2	12 763,08	12 253,48	11 936,85
Средние затраты на одного пациента (руб.)	107,29	83,42	38,53	125,65
Эффективность (Ef), %	67,9	69,9	82,4	87
Затраты на единицу эффективности (CEA=C/Ef), руб.	1,58	1,19	0,46	1,44

шими расходами терапии кеторолаком, сопровождавшейся 10 сеансами электрофореза с использованием 1 % мази гидрокортизона по сравнению с альтернативными методами лечения [28]. Как при интенсивном, так и умеренном болевом синдроме (в том числе боли в спине и травматической боли) кеторолак в таблетированной форме превосходит по силе и длительности анальгезирующего эффекта ибупрофен. Общие экономические затраты на одного пациента при терапии кеторолаком были в 1,48 раза ниже, чем при применении ибупрофена [29].

Актуальной является проблема использования кеторолака на внегоспитальном этапе при сильных болях, так как он постулируется как альтернатива опиоидным анальгетикам [30]. В целом, во взаимоотношении эффективности терапии и расходов на нее, применение кеторолака как основного, так и вспомогательного обезболивающего средства считается фармакоэкономически оправданным. Не выявлено достоверного различия в среднем времени, необходимом для достижения обезболивания, между группами пациентов с травмой конечностей, получавших кеторолак или морфин при оказании первичной медицинской помощи. При этом частота побочных эффектов была выше при применении морфина в сравнении с кеторолаком (501,6 и 41,5 соответственно). Средний балл по удовлетворенности пациентов терапией был 6,0 для кеторолака и 5,0 для морфина ($P < 0,0001$). Средняя стоимость терапии на одного человека составляла 5,6 доллара США в группе пациентов, получавших кеторолак, и 28,2 доллара США – получавших морфин [31]. В другом слепом рандомизированном исследовании [30] показано большее преимущество кеторолака над морфином при терапии сильных болей (в том числе травматических). В обеих группах отмечался равноценный обезболивающий эффект при меньшей выраженности нежелательных реакций в группе пациентов, получавших кеторолак. Общие расходы на терапию в группе пациентов, получавших кеторолак, были ниже, чем в группе получавших морфин (6,8 долла-

ра США и 15,6 доллара США соответственно). В общем годовом финансовом отчете [8], в котором анализируется применение кеторолака и наркотических анальгетиков при сильных болях в спине (как на догоспитальном этапе, так и у лиц, перенесших поясничную ламинектомию), чистая экономия при терапии кеторолаком в сравнении с опиоидами составляла 211 095 долларов США.

Отмечена перспектива сочетанного применения кеторолака с опиоидами. В проспективном рандомизированном контролируемом исследовании, проведенном в период с декабря 1999 по декабрь 2000 года на 156 пациентах с прогрессирующими онкологическими болями, наблюдавшимися в домашних условиях, применение кеторолака орально (60 мг) и морфина вызывало лучшую анальгезию в сравнении с группой пациентов, получавших только морфин. При этом сочетанное применение кеторолака и морфина требовало для оптимального обезболивания существенно более низкие дозы опиоида. В данной группе были значительно снижены либо отсутствовали побочные явления, присущие опиоидам (запоры и др.). В целом, общие расходы на обезболивание (стоимость лекарств для обезболивания и терапии побочных эффектов, привлечение медицинского персонала) в этой группе пациентов были ниже, чем в группе, получавшей морфин [32]. Целью исследования [33] была проверка влияния НПВС (кеторолак) и морфина на выраженность болевого синдрома у онкологических больных, наблюдавшихся в домашних условиях, а также оценка фармакоэкономического аспекта лечения. Проспективное рандомизированное контролируемое исследование было проведено в период с декабря 1999 по декабрь 2000 года на 156 больных с прогрессирующим раком и болевым синдромом. Из этой группы были отобраны 47 пациентов с прогрессирующими болями после 1 недели стабилизации опиоидными препаратами. Пациенты были рандомизированы в одну из двух групп: пациенты первой группы продолжали лечение опиоидной эскалацией в соответствии с клиническими потребно-

стями; пациенты другой группы получали кеторолак по 60 мг/день перорально наряду с применением опиоидной терапии в соответствии с клиническим состоянием. Фиксировали общее состояние, дозы морфина до и после начала лечения, среднюю еженедельную интенсивность боли (оценивали с помощью цифровой шкалы от 0 до 10), среднюю еженедельную интенсивность выраженности побочных эффектов. Кроме того, рассчитывали суточные финансовые затраты на терапию в обеих группах. Пациенты, которые получали кеторолак в дополнение к морфину, показали лучшую анальгезию после недели терапии по сравнению с пациентами группы, получавшей только морфин ($p = 0,005$). После этого эскалация морфина проводилась медленнее, и максимальная доза опиоидного анальгетика была ниже, чем в группе, получавшей только морфин. Побочные эффекты – частота ощущения тяжести в желудке и дискомфорта – были более выраженными у пациентов, получавших кеторолак, в то время как запор был значительно чаще у пациентов, получавших только морфин. Расходы на лекарства в 1 день были близки в обеих группах; статистические различия в финансовых затратах отмечались у пациентов, которые начали терапию с более низких доз морфина (< 100 мг/день) в обеих группах (3,4 – в группе кеторолак – морфин по сравнению с 4,3 в группе морфина, $p = 0,012$). Таким образом, отмечена значительная эффективность и безопасность лечения, а также снижение общих финансовых затрат при терапии боли кеторолаком и морфином у онкологических больных. Однако при этом отмечено ряд побочных реакций, присущих НПВС (желудочный дискомфорт и др.) [33].

В пользу безопасности применения кеторолака свидетельствуют данные рациональной и симптоматической фармакотерапии таблетками кеторолака для догоспитального лечения различных болевых синдромов в рамках государственной программы Medicaid в США [34]. Анализируя данные продаж препарата в аптечных сетях, режимы дозирования, частоту побочных эффектов, в том числе тяжелых нежелатель-

ных реакций (язва желудка и др.), авторы приходят к выводу о преимуществах рационального применения кеторолака в сравнении с другими НПВС. Отмечается достоверное снижение частоты случаев образования пептической язвы, других побочных реакций и, как следствие, снижение расходов на терапию в среднем на 1638 долларов США. Результаты другого крупномасштабного ретроспективного постмаркетингового исследования, в котором принимали участие более 20 000 пациентов, показали, что общий риск осложнений со стороны желудочно-кишечного тракта или кровотечений, связанных с парентеральным применением кеторолака, был сопоставим с таковым опиоидов и ниже, чем у парентеральных форм других НПВС. Как следствие, расходы на терапию побочных реакций были существенно ниже [14]. Тем не менее, риск побочных реакций значительно возрастает при использовании высоких доз кеторолака (60 мг) более 5 дней у лиц пожилого возраста.

Определенные особенности имеет обезбоживание у детей, что связано как с отличием их физиологической нормы от взрослых пациентов, так и особенностями их психоэмоционального состояния [23, 35]. Показана эффективность применения обезбоживания кеторолаком в исследовании, в котором принимали участие 1747 детей. Терапия кеторолаком отмечалась высокой эффективностью при низком проявлении побочных эффектов (менее 1 %). Результатом оптимизации фармакотерапии анальгетиком было также снижение суммарных расходов на обезбоживание с 86 639 до 34 786 долларов США [9].

Значительную коррекцию в существующее место кеторолака при обезболивании может принести его новая лекарственная форма – назальный спрей (Sprix, производства RoxroPharma) [36]. Проведенные фармакокинетические исследования позволили установить, что профили концентрации – время в плазме крови человека при интраназальном приеме 31,5 мг и внутримышечном введении 30,0 мг кеторолака (доза, сравнимая по эффективности с 12 мг

морфина) различаются незначительно, что свидетельствует о перспективности амбулаторного применения назального спрея. Учитывая, что однократная актуация насоса-дозатора доставляет 15,75 мг кеторолака, применение назального спрея позволяет более точно титровать дозу в соответствии с массой тела пациента и выраженностью болевых ощущений.

Хотя фармакоэкономические данные о применении этого препарата отсутствуют, однако известно, что Sprix проявил высокую активность при различных болевых синдромах, в том числе сильных и умеренных при мигрени [37–39]. Так в ходе рандомизированного, двойного слепого, плацебо-контролируемого исследования обезболивающей эффективности и переносимости назального спрея Sprix, в котором приняли участие 300 пациентов, прооперированных по поводу гистерэктомии и замены тазобедренного сустава, была продемонстрирована высокая эффективность назального спрея, которую оценивали в баллах по длительности обезболивающего эффекта разовой дозы в течение 6 часов (83,3 в группе кеторолака против 37,2 в группе плацебо, $p < 0,007$). Использование морфина было на 34 % ниже в группе кеторолака по сравнению с группой плацебо. Частота побочных эффектов (тошнота и рвота) была одинаковой в обеих группах. У пациентов, получавших назальный спрей Sprix, отмечалась тенденция к снижению частоты побочных эффектов, связанных с приемом опиатов (запор и зуд), однако раздражение слизистой оболочки носа развивалось чаще у пациентов, получавших кеторолак, по сравнению с плацебо (24 % против 2 %) [40]. Аналогичные результаты были получены в другом

рандомизированном, двойном слепом, плацебо-контролируемом исследовании назального спрея Sprix у пациентов с послеоперационными болями после массивных абдоминальных, гинекологических и ортопедических оперативных вмешательств [41].

Характеризуя преимущества лекарственной формы кеторолака в виде спрея для назального применения разработчики подчеркивают способность препарата купировать умеренные и тяжелые послеоперационные боли (что обычно требует госпитализации) в амбулаторных условиях, а также возможность титрования дозы препарата, что имеет важное значение ввиду побочного действия кеторолака. В целом, результаты клинических испытаний указывают на выраженное анальгезирующее действие, приемлемый уровень безопасности и хороший фармакокинетический профиль, что позволяет предполагать расширение сегмента кеторолака в форме назального спрея как средства обезболивания [37, 42].

Выводы

Анализ данных литературы показал, что кеторолак по фармакоэкономическим характеристикам превосходит большинство известных НПВС и анальгетиков-антипиретиков (диклофенак, метамизол натрия и др.), а в ряде случаев опиоидные анальгетики (морфин, трамадол), снижая стоимость прямых и косвенных затрат на лечение пациента. Как правило, на внегоспитальном этапе, рационально использовать кеторолак для терапии сильных и умеренных болей, в том числе и с сопутствующим воспалительным компонентом (боль при травмах, боли при онкологии и др.).

1. Боль в спине / [Есин Р. Г., Есин О. Р., Ахмадеева Г. Д., Салихова Г. В.]. – Москва : Медицина, 2010. – 272 с.
2. The cost effectiveness of spinal cord stimulation in the treatment of pain: a systematic review of the literature / Taylor R. S., Taylor R. J., Van Buyten J.-P., Buchser E. // *Journal of Pain and Symptom Management*. – 2004. – V. 27, № 4. – P. 370–378.
3. Место кеторолака в терапии острых болевых синдромов на догоспитальном этапе / Верткин А. Л., Тополянский А. В., Вовк Е. И., Наумов А. В. // *Врач Скорой помощи*. – 2006. – № 6. – С. 1–6.
4. Ряженев В. В. Фармакоэкономические аспекты купирования острого болевого синдрома диклофенаком и декскетопрофена трометамолом / Ряженев В. В., Горохова С. Г. // *Трудный пациент*. – 2012. – Т. 10, № 6. – С. 30–33.

5. Каннер Р. Секреты лечения боли / Каннер Р.; пер. с англ. – Москва : Издательство «БИНОМ», 2006. – 400 с.
6. Bosch H. C. Efficacy and tolerability of intramuscular and oral meloxicam in patients with acute lumbago: a comparison with intramuscular and oral piroxicam / Bosch H. C., Sigmund R. // *Curr. Med. Res. Opin.* – V. 14, № 1. – 1997. – P. 29–38.
7. Side effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the small and large intestine in humans / Bjarnason I., Hayllar J., MacPherson A. J., Russell A. S. // *Gastroenterology*. – 1993. – V. 104, № 6. – P. 1832–1847.
8. The use of ketorolac in Lumbar Spine Surgery: a cost-benefit analysis / Turner D. M., Warson J. S., Wirt T. C. [et al.] // *J. Spinal Disord.* – 1995. – V. 8, № 3. – P. 206–212.
9. Safety of intravenous ketorolac therapy in children and cost savings with a unit dosing system / Houck C. S., Wilder R. T., McDermott J. S. [et al.] // *J. Pediatr.* – 1996. – V. 129, № 2. – P. 292–296.
10. Economic assessment of ketorolac versus narcotic analgesics in postoperative pain management / Trotter J. P., Reinhart S. P., Katz R. M., Glazier H. S. // *Clin. Ther.* – 1993. – V. 15, № 5. – P. 938–948.
11. Ariano R. E. Ketorolac (Toradol): a marketing phenomenon / Ariano R. E., Zelenitsky S. A. // *Can. Med. Assoc. J.* – 1993. – V. 148, № 10. – P. 1686–1688.
12. Arsas M. Comparative analgesic efficacy and tolerability of ketorolac tromethamine and glafenine in patient with post-operative pain / Arsas M., Frileux C. // *Curr. Med. Res. Opin.* – 1988. – V. 11, № 4. – P. 214–220.
13. Тополянский А. В. Применение кеторолака (Кетанов) на догоспитальном этапе / Тополянский А. В., Гирель О. И. // Неотложная терапия. – 2006. – № 5–6. – С. 14–15.
14. Gillis J. C. Ketorolac. A reappraisal of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic use in pain management / Gillis J. C., Brogden R. N. // *Drugs*. – 1997. – V. 53, № 1. – P. 139–188.
15. Ketorolac versus acetaminophen-codeine in the emergency department treatment of acute low back pain / Innes G. D., Croskerry P., Worthington J. [et al.] // *J. Emerg. Med.* – 1998. – V. 16, № 4. – P. 549–556.
16. Veenema K. R. Ketorolac versus meperidine: ED treatment of severe musculoskeletal low back pain / Veenema K. R., Leahey N., Schneider S. // *Am. J. Emerg. Med.* – 2000. – V. 18, № 4. – P. 404–407.
17. Neighbor M. L. Intramuscular ketorolac vs oral ibuprofen emergency department patients with acute pain / Neighbor M. L., Puntillo K. A. // *Acad. Emerg. Med.* – 1998. – V. 5, № 2. – P. 118–122.
18. Carrasco C. M. A double-blind study of the analgesic efficacy in kidney colic of the combination of dipyron and spasmolytic with ketorolac trometamol / Carrasco C. M., Vázquez M. R., García R. P. // *Arch. Esp. Urol.* – 1993. – V. 46, № 9. – P. 763–768.
19. Comparison of ketorolac and diclofenac in treatment of renal colic / Cohen E., Hafner R., Rotenberg Z. [et al.] // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* – 1998. – V. 54, № 6. – P. 455–458.
20. Single-dose intramuscular ketorolac vs diclofenac for pain management renal colic / Stein A., Bendov D., Finkel B. [et al.] // *Am. J. Emerg. Med.* 1996. – V. 14, № 4. – P. 385–387.
21. Pharm. Consult. Cost of care of a patient in ED using Pentrox v. Conventional therapy (Final Report). – 2008. – 30 p.
22. Simplifying prehospital analgesia. Why certain medications should or should not be used for pain management in the field / Bledsoe B., Braude D., Dailey M.W. [et al.] // *JEMS*. – 2005. – V. 30, № 7. – P. 56–63.
23. Махринский Т. Такие разные и такие одинаковые / Махринский Т. // Аптека. – 2002. – № 343 (22). – С. 25.
24. Юдин В. Рынок обезболивающих средств: Украина и мир / Юдин В. // Аптека. – 2010. – № 756 (35). – С. 55.
25. Эффективность кеторолака для купирования острых болевых синдромов / Тамкаева М. А., Коцелапова Э. Ю., Сугаипов А. А., Шамуилова М. М. // Неотложная помощь. – 2009. – Электронный ресурс. (<http://urgent.com.ua/article/476.html>)
26. Верткин А. Л. НПВП на догоспитальном этапе. Электронный ресурс. Доступ к файлу: <http://www.esus.ru/php/content.php?id=1207&pr=print>
27. Некоторые вопросы дифференцированного назначения современных лекарственных препаратов для терапии острой боли / Верткин А. Л., Вовк Е. И., Наумов А. В., Горулева Е. И. // Мед. неотл. сост. – 2006. – № 1 (2): <http://www.mif-ua.com/archive/article/1472>.
28. Chernysheva T. V. Pharmaco-economic efficiency of the treatment of patients with acute vertebrogenic lumbar pain syndrome / Chernysheva T. V., Bagirova G. G. // *Klin. Med. (Mosk)*. – 2008. – V. 86, № 10. – P. 39–42.
29. Balevi B. Ketorolac versus ibuprofen: a simple cost-efficacy comparison for dental use / Balevi B. // *J. Can. Dent. Assoc.* – 1994. – V. 60, № 1. – P. 31–32.
30. Jelinek G. A. Ketorolac versus morphine for severe pain (Ketorolac is more effective, cheaper, and has fewer side effects) / Jelinek G. A. // *BMJ*. – 2000. – V. 18, № 321 (7271). – P. 1236–1237.
31. Cost effectiveness analysis of intravenous ketorolac and morphine for treating pain after limb injury: double blind randomised controlled trial / Rainer T. H., Jacobs P., Nig Y. C. [et al.] // *BMJ*. – 2000. – V. 18, № 321 (7271). – P. 1247–1251.

32. Mercadante S. A randomised controlled study on the use of anti-inflammatory drugs in patients with cancer pain on morphine therapy: effects on dose-escalation and a pharmacoeconomic analysis / Mercadante S., Fulfaro F., Casuccio A. // Eur. J. Cancer. – 2002. – V. 38, № 10. – P. 1358–1363.
33. Retrospective Pharmacoeconomic Analysis of Perioperative use of Intravenous Acetaminophen / Gupta A., Lee L. K., Rao S. [et al.] // Austin. J. AnesthesiaandAnalgesia. – 2014. – V. 2, № 3. – P. 1020.
34. Effect of a pharmacist-education initiative on ketorolac use and costs in a Medicaid Program / Raisch D. W., Hammond R. W., Hollarbush J. L., Wood M. // Am. J. Health Syst. Pharm. – 1998. – V. 5, № 55 (12). – P. 1274–1280.
35. Індивідуальний підхід к выбору метода послеоперационного обезболивания / Постернак Г. И., Ткачева М. Ю., Гарбуз Е. П. [и др.] // Ліки України. – 2011. – № 1 (5). – С. 43–45.
36. Pulmonary and nasal deposition of ketorolac tromethamine solution (SPRIX) following intranasal administration / Bacon R., Newman S., Rankin L. [et al.] // Int J. Pharm. – 2012. – V. 15, № 431 (1–2). – P. 39–44.
37. Intranasal ketorolac tromethamine (SPRIX(R)) containing 6 % of lidocaine (ROX-828) for acute treatment of migraine: safety and efficacy data from a phase II clinical trial / Pfaffenrath V., Fenzl E., Bregman D., Färkkilä M. // Cephalalgia. – 2012. – V. 32, № 10. – P. 766–777.
38. Snyder M. B. SPRIX (ketorolac tromethamine) nasal spray: a novel nonopioid alternative for managing moderate to moderately severe dental pain / Snyder M. B., Bregmen D. B. // Compend. Contin. Educ. Dent. – 2012. – V. 33, № 1 (1). – P. 2–11.
39. Tepper D. E. Nasal sprays for the treatment of migraine / Tepper D. E. // Headache. – 2013. – V. 53, № 3. – P. 577–578.
40. Intranasal ketorolac for postoperative pain: a phase 3, double-blind, randomized study / Brown C., Moodie J., Bisley E., Bynum L. // Pain Med. – 2009. – V. 10, № 6. – P. 1106–1114.
41. Intranasal ketorolac for acute postoperative pain / Singla N., Singla S., Minkowitz H. S. [et al.] // Curr. Med. Res. Opin. – 2010 – V. 26, № 8. – P. 1915–1923.
42. Intranasal ketorolac (Sprix) // Med. Lett. Drugs. Ther. – 2012. – V. 23, № 54 (1382). – P. 7–8.

Кузнецов І. Е.

Фармакоєкономічний аспект застосування препаратів кеторолаку в терапії больових синдромів на позагоспітальному етапі

Проведено порівняльний фармакоєкономічний аналіз препаратів для купірування больового синдрому на позагоспітальному етапі з урахуванням ефективності, безпеки, залучення медичного персоналу та загальних витрат на знеболення. Проаналізовано результати рандомізованих контрольованих клінічних досліджень, мета-аналізів і систематичних оглядів. Наведено дані щодо ефективності та безпеки застосування таких НПЗЗ як метамізол, кеторолак, диклофенак, ревалгін, лорноксикам для терапії сильних больових синдромів. Показано, що кеторолак за фармакоєкономічними характеристиками перевершує більшість відомих НПЗЗ та анальгетиків (а в ряді випадків опіоїдних анальгетиків), знижуючи вартість прямих і непрямих витрат на лікування пацієнта. Наведено інформацію про нову лікарську форму кеторолаку – назальний спрей, фармакокінетичні дослідження якого дозволили встановити подібність профілів концентрація – час у плазмі крові людини при інтраназальному та внутрішньом'язовому введенні в еквівалентних дозах, що свідчить про перспективність амбулаторного застосування назального спрею.

Ключові слова: больовий синдром, знеболюючі засоби, кеторолак, позагоспітальний етап, фармакоєкономічний аналіз

Кузнецов И. Э.

Фармакоэкономический аспект применения препаратов кеторолака в терапии болевых синдромов на внегоспитальном этапе

Проведен сравнительный фармакоэкономический анализ препаратов для купирования болевого синдрома на внегоспитальном этапе с учетом эффективности, безопасности, привлечения медицинского персонала и общих расходов на обезболивание. Проанализированы результаты рандомизированных контролируемых клинических исследований, сетевых мета-анализов и систематических обзоров. Приведены данные по эффективности и безопасности применения таких НПВС, как метамизол, кеторолак, диклофенак, ревалгин, лорноксикам, для терапии сильных болевых синдромов. Показано, что кеторолак по фармакоэкономическим характеристикам превосходит большинство известных НПВС и анальгетиков (а в ряде случаев опиоидных анальгетиков), снижая стоимость прямых и косвенных затрат на лечение пациента. Представлена информация о новой лекарственной форме кеторолака – назальном спрее, фармакокинетические исследования которого позволили установить подобие профилей концентрация – время в плазме крови человека при интраназальном и внутримышечном введении в эквивалентных дозах, что свидетельствует о перспективности амбулаторного применения назального спрея.

Ключевые слова: болевой синдром, обезболивающие средства, кеторолак, внегоспитальный этап, фармакоэкономический анализ

I. E. Kuznetsov

Pharmacoeconomic aspect of ketorolac usage for the pain syndrome relief at out-of-hospital conditions

It was performed a comparative pharmacoeconomic analysis of drugs for the pain relief at out-of-hospital conditions taking into account efficacy, safety, engagement of medical staff and general expenses on anesthesia. Results of randomized controlled clinical trials, network meta-analyses and systematic reviews were analyzed. The data on the efficacy and safety of NSAIDs such as Metamizol, Ketorolac, Diclofenac, Revalgin, Lornoxicam for the treatment of severe pain syndromes were performed. It was shown that Ketorolac, in terms of pharmacoeconomic characteristics, is superior to most known NSAIDs and analgesics (and in some cases, opioid analgesics), reducing direct and indirect costs for treatment of the patient. There were presented information about a new drug form of Ketorolac – nasal spray, pharmacokinetic studies of which allowed to establish the similarity of the plasma concentration versus time curves after intranasal and intramuscular administration of the active ingredient in equivalent doses, thus promising outpatient application of the Ketorolac nasal spray.

Key words: pain, analgesics, Ketorolac, out-of-hospital conditions, pharmacoeconomic analysis

Надійшла: 13 липня 2015 р.

Контактна особа: Кузнецов І. Е., Національний фармацевтичний університет, буд. 53, вул. Пушкінська, м. Харків, 61002. Тел.: + 38 0 57 706 35 81.

Рецензия

академика И. М. Трахтенберга на монографию И. П. Лубяновой «Избыточное железо и патология у рабочих сварочных профессий»

В последнее десятилетие все большее внимание специалистов привлекает проблема метаболизма железа в организме животных и человека, его роль в жизнеобеспечении и формировании различных патологических состояний при его избытке. В организме млекопитающих железо играет ключевую роль в окислительно-восстановительных процессах, дыхании, энергообеспечении, участвует в биокатализе и синтезе нуклеиновых кислот, белков, липидов, делении и росте клеток, в процессах детоксикации. Нарушение метаболизма железа, особенно его избыток, определяет развитие многих, в том числе и профессиональных заболеваний.

Избыточному ингаляционному воздействию в условиях промышленного производства подвергаются миллионы работающих при добыче, обогащении и переработке железной руды, выплавке сталей, ферросплавов и чугуна, обработке металлов, сварке железных конструкций. Особое место в этом ряду занимают рабочие сварочных профессий, так как основную часть сварочного аэрозоля составляют железо и его оксиды в высокодисперсной, в том числе, и в наноразмерной форме.

В данной монографии «Избыточное железо и патология у рабочих сварочных профессий» обобщен мировой опыт в изучении роли перегрузки организма железом в развитии патологических изменений в организме, и с учетом новых взглядов на метаболизм железа изложены собственные данные о частоте и структуре профессиональных и производственно обусловленных заболеваний (у сварщиков сталей и чугуна), объяснены особенности формирования этой патологии. В монографии описан синдром перегрузки организма железом (вторичный гемохроматоз) у сварщиков железных конструкций и обоснована возможность признания профессионального заболевания – хроническая интоксикация железом при развитии этого синдрома. Особенности условий труда электросварщика и возможность развития различных профессиональных заболеваний, в том числе и вторичного гемохроматоза, изложены в первой главе.

Особого внимания заслуживает раздел о развитии синдрома перегрузки организма железом (вторичного гемохроматоза) при воздействии свинца и его соединений,

которые также могут входить в состав сварочного аэрозоля. Патогенез этого синдрома при свинцовой интоксикации аналогичен патогенезу вторичного гемохроматоза при алкогольной интоксикации, наследственных эндогенных порфириях и других заболеваниях, при которых нарушается утилизация железа в организме.

Представляет интерес обоснование возможности внесения дополнения в существующую классификацию гемохроматоза. Такие формы перегрузки организма железом, которые могут развиваться при избыточном ингаляционном поступлении железа, а также при воздействии свинца, имеют право занять свое место среди вторичных гемохроматозов.

Таким образом, изложенные в монографии особенности формирования и диагностики профессиональной и производственно обусловленной патологии у рабочих сварочных профессий, с учетом накопления железа в организме при его ингаляционном поступлении, существенно дополняют наши представления о роли условий труда в развитии патологии у сварщиков, придают им современный характер. Более того, изложенные в работе данные открывают путь к разработке более эффективных мер профилактики, диагностики и лечения профессиональных и профессионально обусловленных заболеваний у сварщиков.

Монография И. П. Лубяновой привлечет внимание гигиенистов, токсикологов, профпатологов, а также других специалистов (кардиологов, эндокринологов, инфекционистов, генетиков и др.) к проблеме перегрузки организма железом. Интересные, современные данные о роли железа позволят пересмотреть некоторые положения в области оценки реакции организма на воздействие неблагоприятных факторов окружающей (в том числе и производственной) среды и трудового процесса с учетом особенностей метаболизма железа в организме. Представленные в монографии материалы найдут свое применение в разработке и выборе средств профилактики и лечения профессиональных, производственно обусловленных и экологических заболеваний.

Надійшла: 21 серпня 2015 р.

СОДЕРЖАНИЕ

ОБЗОРЫ

Сытник И. Н., Хайтович Н. В. Применение антиоксидантов при сахарном диабете I типа3

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ НЕЙРОФАРМАКОЛОГИИ

Горбачева С. В., Беленичев И. Ф., Кучеренко Л. И., Бухтиярова Н. В. Глутатион-зависимые механизмы нейропротективного действия нового метаболитотропного препарата «Ангиолин» в условиях индукции нитрозирующего стресса *in vitro* 12

Дейко Р. Д., Штрыголь С. Ю., Колобов А. А., Бездетко Н. В. Нейропротекторные и ноотропные свойства новых циклических дипептидов 19

Нефедов А. А. Нейротропные эффекты антидепрессантов в условиях экспериментального эквивалента рассеянного склероза..... 28

Самелюк Ю. Г., Беленичев И. Ф., Абрамов А. В., Бухтиярова Н. В., Моргунова С. А., Павлов С. В., Каплаушенко А. Г. Исследование нейропротекторной активности пропил 2-(5-(3,4,5-триметоксифенил)-1h-1,2,4-триазол-3-илтио)ацетимидата гидрохлорида..... 34

В НАУЧНЫХ ЛАБОРАТОРИЯХ

Беленичев И. Ф., Литвиненко Е. С. Влияние модуляторов системы глутатиона – селеназы и глутоксида на энергетический обмен головного мозга в условиях экспериментального острого нарушения мозгового кровообращения 41

Бухтиярова И. П., Щекина Е. Г., Дрогвоз С. М., Ищенко А. М. Антиоксидантное действие ралейкина на модели стрептозотоцинового диабета у крыс 47

Гриб В. В., Дорошенко Е. Н., Заичко Н. В., Степанюк Н. Г. Сравнительная характеристика влияния натриевой соли 4-(3-метил-2-оксо-2H-[1,2,4] триазино[2,3-с]хиназолин-6-ил) бутановой кислоты и диклофенака на динамику гематологических показателей и безопасность у крыс с адьювантным артритом 53

Дрынть Д. О., Мельник М. И., Кизуб И. В., Жолос А. В., Соловьев А. И. Взаимодействие каналов транзистентного рецепторного потенциала (TRPV4) и кальций-активированных калиевых каналов (BC_{Ca}) в регуляции сосудистого тонуса легочных артерий крысы..... 58

Дронова М. Л., Суворова З. С. Антимикробная активность 1-[4-(1,1,3,3-тетра-метилбутил)фенокси]-3-(N-бензилгексаметилениминий)-2-пропанола хлорида ... 64

Кутовый Ю. Н. Уменьшение повреждений миокарда, обусловленных ишемией-реперфузией, с помощью производных имидазо[1,2-А]азепиния 70

Ниженковская И. В., Романенко А. В., Седько Е. В., Груша М. М., Броварец В. С., Головченко А. В. Изучение вазоактивных свойств диэтилового эфира 5-алкиламино-2-{N-[N-бензоил-(4-метилбензилиден) глицил] аминометил}-1,3-оксазол-4-ил фосфоновой кислоты на изолированной аорте крыс 76

Севрюков А. В., Волковой В. А., Колесник С. В., Сытник К. М. Определение антиэкссудативной активности новых соединений в ряду производных 5,7-дигидро-1h-пирроло [2,3-d] пиримидина..... 84

ВОПРОСЫ ФАРМАЦЕВТИКИ, ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА, ФАРМАКОЭКОНОМИКИ

Кузнецов И. Э. Фармакоэкономический аспект применения препаратов кеторолака в терапии болевых синдромов на внегоспитальном этапе 89

РЕЦЕНЗИИ

Рецензия академика И. М. Трахтенберга на монографию И. П. Лубяновой «Избыточное железо и патология у рабочих сварочных профессий» 98

CONTENT

REVIEWS

<i>Sytnik I., Khaitovych M.</i> The use of antioxidants in type I diabetes mellitus	3
---	---

CONTEMPORARY ASPECTS OF NEUROPHARMACOLOGY

<i>Gorbacheva S. V., Belenichev I. F., Kucherenko L. I.,</i> Glutathiondependent mechanisms of neuroprotective action of new metabolic drug «Angioline» underinduction of nitrosative stress <i>in vitro</i>	12
<i>Deiko R. D., Shtrygol' S. Yu., Kolobov A. A., Bezditko N. V.</i> The neuroprotective and nootropic properties of new cyclic dipeptides	19
<i>Nefedov O. O.</i> Neurotropic effects of antidepressants in condition of the experimental equivalent of multiple sclerosis	28
<i>Sameluk Yu. G., Belenichev I. F., Abramov A. V., Bukhtiyarova N. V., Morguntsova S. A., Pavlov S. V., Kaplaushenko A. G.</i> Study of neuroprotective activity of propyl 2-(5-(3,4,5- trimethoxyphenyl)-1h-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetimidate hydrochloride	34

WORKING OUT OF THE NEW METHODOICAL WAYS

<i>Belenichev I. F., Lytvynenko E. S.</i> Effect of glutathione system modulators selenase and glutoxime on the energy metabolism of the brain in experimental stroke	41
<i>Buhtiyarova I. P., Shchokina K. G., Drogozov S. M., Ischenko A. M.</i> Antioxidant action of raleukin on the model of streptozotocine diabetes in rats	47
<i>Grib V. V., Doroshenko E. N., Zaichko N. V., Stepanyuk N. G.</i> Comparative characteristics of the sodium salt of 4- (3-methyl-2-oxo-2H- [1,2,4] triazino [2,3-c] quinazolin -6-yl) butyric acid (compound DSK-38) and diclofenac effects on hematological parameters and safety in rats with adjuvant arthritis	53
<i>Dryn D., Melnyk M., Kizub I., Zholos A., Soloviev A.</i> Interaction of TRPV4 and BK _{Ca} channels in the regulation of vascular tone of rat pulmonary arteries	58
<i>Dronova M. L., Suvorova Z. S.</i> Antimicrobial activity of the 1-[4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)phenoxy]-3-(N- benzyl hexamethyleneimino)-2-propanol chloride	64
<i>Kutovyi I. M.</i> Attenuation of myocardial ischemia-reperfusion injury by imidazo[1,2-a]azepinium derivatives	70
<i>Nizhenkovska I. V., Romanenko A. V., Sedko K. V., Grusha M. M., Brovarets V. S., Golovchenko A. V.</i> Studying of vasoactive properties of diethyl ester of 5-alkylamine-2-{N-[N-benzoyl-(4-methylbenzal) glycol] aminomethyl}- 1,3 - oxasole-4-yl phosphonic acid on rat's isolated aorta	76
<i>Sevryukov A. V., Volkovoy V. A., Kolisnyk S. V., Sytnik K. M.</i> Determination of antiexudative activity of new derivatives 5,7-dihydro-1h-pyrrolo [2,3-d] pyrimidine	84

ISSUES OF PHARMACY, PHARMACEUTICAL MARKET, PHARMACOECONOMICS

<i>Kuznetsov I. E.</i> Pharmacoeconomic aspect of ketorolac usage for the pain syndrome relief at out-of-hospital conditions	89
--	----