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

№ 2(48)/2016

ЗМІСТ

ОГЛЯДИ

Лабенська І. Б. Бурштинова кислота – потенційний фармакофор при моделюванні нових біорегуляторів на основі азотовмісних гетероциклів 3

Хромов А. С. Липосомальные препараты – реализация нанотехнологий в медицине 14

СУЧАСНІ АСПЕКТИ НЕЙРОФАРМАКОЛОГІЇ

Беленичев И. Ф., Кучер Т. В. Влияние тиольных антиоксидантов на состояние нитрозирующего стресса в головном мозге крыс, подверженных хронической алкогольной интоксикации 24

Беленичев И. Ф., Литвиненко Е. С., Субачева Т. И. Маркеры окислительной модификации белка и нитрозирующего стресса при экспериментальном ишемическом инсульте и фармакологической модуляции системы глутатиона 30

У НАУКОВИХ ЛАБОРАТОРІЯХ

Боброва Н. О., Важнича О. М. Антимікробні властивості метилетилпіридинолу 37

Калениченко А. С., Малоштан Л. Н. Скрининговое исследование антикоагулянтной, мембраностабилизирующей и противовоспалительной активности густого экстракта из листьев лещины обыкновенной 43

Калько К. О., Дроговоз С. М., Пазюк Д-М. В. Циркадіанна залежність впливу карсилу на активність маркерів цитолізу та вміст відновленого глутатіону за умов хронодетермінованого парацетамолового гепатиту 49

Лук'янчук В. Д., Кравець Д. С., Сейфулліна І. Й., Міщенко К. М., Марцинко О. Е. Порівняльна характеристика переходу потенційного церебропротектора з центральної камери кінетичної моделі розподілу до периферичних у нормі та на моделі закритої черепно-мозкової травми..... 54

Мархонь Н. О., Жилюк В. І.,. Мамчур В. Й, Лєвих А. Е. Стан процесів вільнорадикального окиснення в неокортексі щурів з метаболічним синдромом за умов застосування ресвератролу, пропіленгліколевих екстрактів горобини та маточного молочка..... 60

Нефьодов О. О., Мамчур В. Й., Ларіонов В. Б., Смандич В. С. Прогнозування в дослідах *in silico* взаємодії габапентину з метилпреднізолоном як засобів комбінованої терапії демієлінізуючих захворювань 67

Ніженковська І. В., Сейфулліна І. Й., Нароха В. П., Марцинко О. Е., Чебаненко О. А. Вивчення антиоксидантних властивостей комплексу германію з нікотиновою кислотою (МІГУ-1) за умов експериментальної хронічної серцевої недостатності 74

Ситник І. М., Хайтович М. В., Черновол П. А. Антиоксидантна активність інгібіторів ангіотензину II та метаболітотропних кардіопротекторів за умов *in vitro* та *in silico* 80

Сімонова І. В., Лук'янчук В. Д., Кравець Д. С., Волуй А. В. Експериментально-математичне обґрунтування ефективності оптимальних комбінацій фітопрепаратів, призначених для корекції когнітивно-мнестичних процесів 86

Фесюнова Г. С., Віт В. В., Молчанюк Н. І., Сотнікова О. П., Григор'єва Г. С. Експериментальна верифікація безпечності періокулярних способів застосування ліпосомальної форми кверцетину в офтальмології 94

РЕЦЕНЗІЇ

Мамчур В. И. Рецензия на монографию Л. Т. Киричек, А. В. Перепелица, Р. О. Кальчук «Лекарственный антистресс в эксперименте (иммобилизация, травма, воспаление)» 102

ОСОБИСТОСТІ

До ювілею професора кафедри фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, доктора медичних наук, лауреата Державної премії України в галузі науки і техніки Надії Олександрівни Горчакової 103

СОДЕРЖАНИЕ 107

CONTENT 108

м. Київ
Видавець: ТОВ «Видавничий дім «Авіцена», 2016 р.

© «Фармакологія та лікарська токсикологія», 2016 р.

© ВД «Авіцена», 2016 р.

УДК 547.636.7:615.15

І. Б. Лабенська

Бурштинова кислота – потенційний фармакофор при моделюванні нових біорегуляторів на основі азотовмісних гетероциклів

Запорізький національний університет

Ключові слова: бурштинова кислота, біологічна дія, азотовмісні гетероцикли

Принципи розробки та створення нових біологічно активних речовин заснований на синтетичній модифікації структур з метою підвищення їхньої активності, зменшення побічних негативних впливів. Протягом багатьох років значна частина досліджень вітчизняних та закордонних науковців, спрямованих на пошук нових високоефективних та малотоксичних субстанцій, присвячені азагетероциклам [1–19].

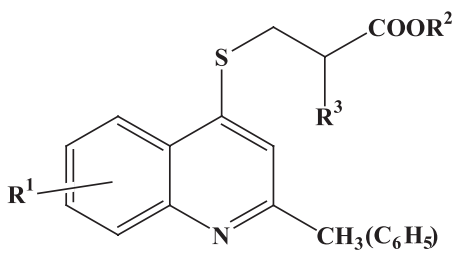
Привертає до себе увагу гетероциклічна система хіноліну, яка має високореакційні положення 2 і 4, що дозволяє модифікувати її та отримувати нові сполуки, що наділені необхідним комплексом властивостей [1–4]. Похідні хіноліну проявляють виражену антибактеріальну, протитуберкульозну, протипаразитарну активність, перспективні при лікуванні вірусів герпесу та СНІДу [1, 3, 5–7]. Відомі сполуки даного ряду з протипухлинною, антиоксидантною, аналгетичною, нейротропною, імуномодулюючою, протизапальною, протиішемічною дією. Похідні хінолінового ряду широко використовують як пестициди, препарати ветеринарії, барвники та хімічні реагенти [1, 8–11].

Дослідження біологічної дії даних сполук вказує на те, що їхня активність значною мірою визначається природою та властивостями замісників у хіноліновому гетероциклі [12]. Так, визначено, що поєднання похідних хіноліну та тіокарбонових кислот призводить до здатності знижувати вміст продуктів вільнорадикального окиснення (ВРО), проявляти антигіпоксичний, протиішемічний та гепатопротекторний ефекти. Механізм антиоксидантної та церебропротективної дії найактивніших сполук пов'язують як із відновними властивостями сульфідної групи, так і з комплексоутворюючими властивостями карбоксильної групи, що гальмують процеси ВРО в реакціях Фентона і Габера-Вейса [1, 13, 14].

Одним з пріоритетних напрямів сучасної фармакології є розробка препаратів метаболічного типу, дія яких направлена на відновлення порушених біохімічних процесів та пов'язаних з ними змін органів та систем [20]. Тому важливими об'єктами для створення сучасних біорегуляторів виступають цистеїн, цистеамін, бурштинова кислота та поєднання в одній молекулі декількох фармакофорів, що призводить до посилення певних видів біологічної активності та появи нових ефектів.

Прикладом такого поєднання є структури, що об'єднують в одній молекулі азотовмісний гетероцикл (хінолін) та різноманітні похідні меркаптокарбонових кислот, зокрема цистеїну (рис. 1).

Натрієві солі S-(хінальдин-4-іл)-L-цистеїну за умов експериментальної ішемії тканин головного мозку норма-



R^1 = H, 6(8)-OCH_3, 6-OC_2H_5, 6-F, 6-Cl, 6-Br
R^2= H, Na, K, CH_3
R^3= NH_2, H, OH, Cl; NHHet , HN(O) CH_3, $HN(O)CH_2Cl$, $HN(O)C_6H_5$

Рис. 1. Потенційні біорегулятори на основі похідних 4-тіохіноліну та цистеїну

© І. Б. Лабенська, 2016

лізують рівень антиоксидантних ферментів, зменшують уміст продуктів ВРО. Зростання антиоксидантної та церебропротекторної дії пов'язують з ліпофільністю замісників та здатністю до дезалкілування по алоксигрупі з утворенням фенолятних структур, які гасять пероксидні радикали. Аналогічно діють натрієві солі S-(хінальдин-4-іл)-L-ацетилцистеїну, але більш ефективно порівняно з неацильованими сполуками. Присутність активного ацилрадикала, зв'язаного з аміногрупою, допомагає вирішити проблему введення активної форми цистеїну ззовні та забезпечує стійкість сполуки до окиснення [15, 16]. Ізопропілові ефіри N-ацетил-S-(2-метил-хінолін-4-іл)-L-цистеїну проявляють виражену протизапальну активність, зокрема, впливать на простагландинову фазу карагенінового запалення та гальмують розвиток формалінового набряку [17].

Ще одним перспективним рядом сполук є N,S-біс(2-метилхінолін-4-іл)-цистеаміни, що проявляють виражений протипухлинний ефект [18]. За результатами досліджень, поєднання гетероциклічної системи хіноліну та біогенного аміну цистеаміну призводить також до появи аналгетичних, радіопротекторних, антиоксидантних властивостей. Дигідрохлорид S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл)-цистеаміну за радіопротекторною дією перевершує препарат цистеамін та проявляє антиоксидантний ефект [19].

Вищенаведене вказує, що розробка нових біологічно активних речовин у цьому напрямі має важливе практичне значення.

Мета дослідження – обґрунтувати перспективність створення нових біологічно активних речовин на основі гетероциклічної системи хіноліну, сірковмісних амінокислот та похідних бурштинової кислоти.

Перші дослідження з вивчення вмісту бурштинової кислоти в організмі людини були проведені Робертом Кохом у 1865 році, але інтерес науковців до цієї сполуки не зменшується, сфери її застосування постійно розширюються.

Фармакологічний вплив бурштинової кислоти зумовлений її участю в циклі трикарбонових кислот (ЦТК, цикл Кребса) і процесах окисного фосфорилювання, низькою токсичністю, відсутністю мутагенної та тератогенної дії [21].

Бурштинова кислота (бутандіова кислота, етан-1,2-дикарбонова кислота) – продукт п'ятої і субстрат шостої реакції циклу трикарбонових кислот, постійно утворюється в організмі й окиснюється в цитратному циклі з утворенням великої кількості енергії що запасається у формі АТФ. Енергетична потужність процесу синтезу АТФ суттєво вища при окиснюванні бурштинової кислоти порівняно з іншими субстратами. Саме тому деякі енергозалежні процеси (акумуляція іонів кальцію, процеси біосинтезу H^+), підтримка та енергетичне забезпечення систем організму реалізується за рахунок даної сполуки. Її окиснення в шостій реакції циклу Кребса здійснюється за допомогою сукцинатдегідрогенази, активність якої не залежить від концентрації окисненої та відновленої форми НАД(Ф)H_2, що дозволяє зберегти енергосинтезуючу функцію мітохондрій за умов гіпоксії та ішемії при порушенні НАД-залежного дихання клітин. Феномен швидкого окиснення бурштинової кислоти сукцинатдегідрогеназою, що супроводжується АТФ-залежним відновленням пулу піримідинових динуклеотидів, дістав назву «монополізація дихального ланцюга». Біологічне значення його полягає в швидкому ресинтезі АТФ клітинами та підвищення їхньої антиоксидантної активності [21–23].

Завдяки участі в реакціях циклу Кребса бурштинова кислота знижує в крові концентрацію лактату, пірувату та цитрату, які накопичуються в організмі на ранніх стадіях гіпоксії [23, 24].

Антигіпоксичний ефект сукцинату може бути пов'язаний не тільки з активацією сукцинатдегідрогеназного окиснення, а й з відновленням активності ключового ферменту окиснювально-відновної активності мітохондрій – цитохромоксидази. За умов стресу та гіпоксії утворення ендогенної бурштинової кислоти підвищується за рахунок окисного дезамінування α-кетаглутарової

кислоти в печінці. У нервовій тканині функціонує так званий, γ-амінобутиратний шунт (цикл Робертса) – утворення бурштинової кислоти з γ-аміномасляної кислоти через проміжну стадію бурштинового альдегіду [23–25].

Екзогенне введення сукцинату виявилося достатнім для поповнення пулу органічних кислот циклу Кребса. Найактивніше екзогенний сукцинат захоплюється печінкою, що супроводжується підвищенням її детоксикуючої активності. Біодоступність сукцинату збільшується при комбінованому введенні з іншими метаболітами, які сприяють його кращому надходженню в клітини. Застосування органічних похідних сукцинату також полегшує його проникнення крізь біологічні мембрани. До числа транспортних форм бурштинової кислоти відносять її натрієві солі, метилові ефіри, комплекси з N-(1-дезоксидеглюцитол-1-іл)-N-метиламмонієм. При дисоціації або відщіпленні молекули сукцинату основна частина молекули може вбудовуватися у фосфоліпідну мембрану, впливаючи на її фізико-хімічні властивості, а сукцинат використовується безпосередньо дихальним ланцюгом як енергетичний субстрат. При застосуванні фізіологічних доз бурштинової кислоти відмічається пряма дія на клітинний метаболізм і транспорт вільного кисню в тканини [26, 27].

Бурштинова кислота є антиоксидантом спрямованої мітохондріальної дії. Антиоксидантний ефект реалізується за рахунок активації поглинання та зниження концентрації кисню в цитозолі клітин, що перешкоджає утворенню його агресивних форм. Сполука запобігає накопиченню напіввідновленої форми коензиму Q – генератора супероксид-аніона, прискорює дезактивацію ксантиноксидази – джерела вільних радикалів; знижує концентрацію первинних (дієнових кон'югатів) та вторинних (малонового діальдегіду) продуктів перекисного окиснення ліпідів; підвищує утилізацію заліза за рахунок утворення комплексів, які швидко всмоктуються в тонкому кишківнику. Відмічається позитивний вплив на регуляцію активності супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази [27–30]. В умовах експериментального шоку та в постреанімаційному періоді бурштинова кислота знижувала рівень вільнорадикальних процесів у мозку й сироватці крові, ослаблювала деструкцію мембранних елементів нейронів і сприяла повному відновленню функцій і структури мозку [30, 31].

Гіпоксія й пошкодження мітохондрій є ключовою ланкою патогенезу при критичних станах будь-якої етіології. На початковому етапі гіпоксії в мітохондріях зменшується швидкість аеробного окиснення і окисного фосфорилювання, що призводить до втрати функціональних можливостей клітини за рахунок значного зниження запасів аденозинтрифосфорної кислоти й збільшення концентрації аденозин ди- і монофосфату [23, 26]. Антигіпоксичний ефект сполуки базується на низькій чутливості системи окиснювання бурштинової кислоти до дефіциту кисню, її впливом на вміст медіаторних амінокислот, а також за рахунок збільшення вмісту γ-аміномасляної кислоти в клітинах мозку, зменшення агрегації тромбоцитів, що в свою чергу підвищує реологічні властивості крові та мікроциркуляцію органів та тканин [22, 24, 29]. Встановлено ефективність використання похідних бурштинової кислоти при лікуванні внутрішньоутробної гіпоксії та гіпоксії новонароджених [31, 32].

Відомо, що сукцинат виступає потужним ендокринним стимулом за рахунок експресії специфічних мембранних рецепторів GPR91 (SUCNR1), розташованих у багатьох органах та тканинах. Як ліганд сукцинат впливає на порушення енергетичного балансу, пов'язаного насамперед з гіпоксією і гіперглікемією. У разі гіперглікемії відмічається інгібування ліполізу, що попереджає надходження вільних жирних кислот у кров [25, 33]. В експериментальних дослідженнях впливу бурштинової кислоти на клітинну структуру органів шляхом мікроперфузії буферним розчином сукцинату зафіксовано наступні зміни: у печінці – стимуляція репаративних процесів, але в

надмірних кількостях формувалися фіброзні зміни; у міокарді – регуляція апоптозу клітин за умов ішемії та гіпоксії завдяки сукцинатзалежній активації простагландинової системи і антиаритмічна дія за рахунок підвищення вмісту іонів кальцію в цитозолі міокардіоцитів; у нирках – вплив на формування гломерулярної гіперфільтрації та ренін-залежної артеріальної гіпертензії [34–36].

При дослідженні радіопротекторної дії бурштинової кислоти встановлено, що підвищення радіорезистентності організму після введення сукцинату супроводжується підвищеннями інтенсивності клітинного дихання в селезінці й кістковому мозку, а також резистентності мітохондрій до перекисної деградації [22, 29, 37].

Порушення енергетичної функції мітохондрій відіграє важливу роль у патогенезі атеросклерозу, цукрового діабету, нейродегенеративних захворювань (хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона) і раку [37, 38].

На моделі експериментального діабету встановлена антикетогенна дія бурштинової кислоти, яка реалізується за рахунок активації окисних процесів, усунення надлишку ацетил-коензиму А, зниження рівня ліпідів та їх метаболітів, стимуляції транспорту глюкози в периферичні тканини. Похідні бурштинової кислоти стимулюють біосинтез проінсуліну, підвищують інсулінотропну активність цукорознижуючих препаратів, захищають β-клітини від цитотоксичної агресії імунологічних та хімічних факторів [21, 28, 39, 40].

Бурштинова кислота проявляє неспецифічну антитоксичну активність. Антидототерапія сукцинатовмісними препаратами є ефективною в разі гострих отруєнь сурогатами алкоголю, наркотичними речовинами, отруєнь, пов'язаних з надзвичайними ситуаціями на промислових об'єктах, військових базах. У роботах вітчизняних авторів відзначено вплив сукцинату на підвищення стійкості організму до токсичної дії лікарських речовин, алюмінію, тетрахлорметану, кварцевого пилу та низки інших екотоксикантів [24, 39, 40, 42–44].

Дослідження останніх років показали наявність у бурштинової кислоти біологічної активності з унікальним сполученням проявів: відносно здорового організму сукцинати виступають у ролі адаптагенів, а при наявності патологічних проявів проявляють терапевтичний ефект. Енергетична підтримка активності систем забезпечення адаптації за рахунок ГАМК-шунта нервової тканини забезпечує антистресорну дію, за рахунок шунта метилмалонатного шляху окиснювання жирних кислот – протисклеротичні властивості. Активація системи утворення й використання бурштинової кислоти ефективно підвищує функціональні можливості організму при старінні, позитивно впливає на процеси імунного захисту при вірусних інфекціях (герпес, краснуха) [24, 25, 28, 45]. Застосування сукцинату натрію після інтенсивних фізичних навантажень у спортсменів знижує метаболічний ацидоз, проявляє антистресовий ефект [46].

Але введення екзогенної бурштинової кислоти в організм не завжди досить ефективне в зв'язку з низькою проникністю крізь біологічні мембрани, тому широке застосування в клінічній практиці знаходять препарати, що містять у своєму складі її різноманітні деривати.

Поєднання емоксипіну, похідного 3-оксипіридину та сукцинату призвело до створення препарату мексидол (рис. 2).

Здатність 3-оксипіридинів змінювати фізико-хімічні властивості клітинних мембран та активність мембранозв'язаних ферментів впливає на транспортну та метаболічну функцію мембран, підвищує їхню проникність для сукцинату й полегшує його доступність до ферментів дихального ланцюга [47]. Окрім властивостей, притаманних

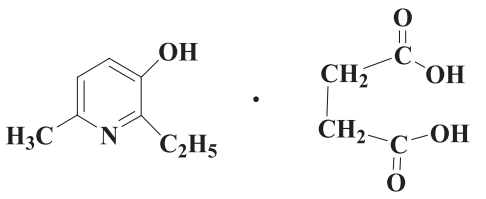


Рис. 2. 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинат

бурштиновій кислоті, мексидол стабілізує мембрани клітин крові, знижуючи ймовірність розвитку гемолізу, підвищує рівень відновлених нуклеотидів, підсилює антиоксидантний захист клітини [48, 49].

Введення препарату поліпшує функціональний стан ішемізованого міокарда при інфаркті, відновлює скорочувальну функцію серця й підвищує ефективність проведеної терапії [50]. За умов критичного зниження коронарного кровотоку мексидол нормалізує метаболічні процеси, сприяє збереженню структурно-функціональної організації та фізіологічних функцій кардіоміоцитів, підвищує антиангінальну активність нітропрепаратів, проявляє виражену антиаритмічну дію, зменшує кардіодепресивну і гіпотензивну дію антиаритмічних препаратів [48–51].

У неврології одним з перспективних шляхів відновлення енергетичного стану нейронів і клітин глії в умовах гіпоксії є стимуляція метаболічного ланцюга циклу Кребса, що забезпечується використанням сукцинатвмісних препаратів. Препарати бурштинової кислоти проявляють ноотропну та протисудомну дію, сприяють збереженню структурно-функціональної організації біомембран, поліпшують синаптичну передачу імпульсів; підвищують концентрацію дофаміну в головному мозку, посилюють компенсаторну активацію аеробного гліколізу [52–54].

За гострого стресу мексидол запобігає підвищенню активності ферментів-маркерів ушкодження гепатоцитів (АлАТ й альдолази) та епітелію жовчних ходів (лужної фосфатази та γ-глутамат-транспептидази), знижує рівень білірубіну, покращує дезінтоксикаційну функцію печінки. Ці ефекти розвиваються на фоні пригнічення перекисного окиснення ліпідів та корекції співвідношення піруват/лактат у печінці в бік пірувату. У дослідах *in vitro* даний препарат має прямий вплив на процеси гліколізу та ліпопероксидації в гепатоцитах. Визначено, що цей вплив дозозалежний, і мексидол має найбільшу широту ефективних концентрацій порівняно з пірацетамом та церебролізином [55].

При гострому панкреатиті застосування мексидолу зменшує ферментативну токсемію й ендогенну інтоксикацію [49].

Бурштинова кислота в комплексному застосуванні з силімарином відновлює порушення метаболічних процесів у головному мозку при печінковій недостатності; з аскорбіновою кислотою – сприяє засвоєнню заліза в організмі; з мілдронатом – посилює антигіпоксичний та протиішемічний потенціал і доповнює його антиатерогенною дією [39].

Фармакологічні властивості сукцинату посилюються введенням піридоксальфосфату за рахунок регулювання метаболічних реакцій, що призводять до утворення ендогенної бурштинової кислоти [24, 49].

Останніми роками в медичній літературі все частіше з'являються повідомлення про клінічне застосування реамберину та ремаксолу. До складу цих препаратів входить натрія N-метилглюкамінова сіль бурштинової кислоти, уперше описана й синтезована в 1932 році [24, 41, 49].

Уведення в схему лікування реамберину (N-(1-дезокси-D-глюцитол-1-іл)-N-метиламоній натрію сукцинату), що проявляє гепатопротекторні, дезінтоксикаційні, антигіпоксичні властивості, поліпшувало антитоксичну функцію печінки, сприяло регенерації гепатоцитів, знижувало ендогенну інтоксикацію та прояви печінкової недостатності [56, 57].

Препарати бурштинової кислоти використовують у комплексній терапії хвороб нирок. Їхнє застосування на експериментальних моделях сечокам'яної хвороби призводило до вираженої нефропротекторної дії: нормалізації вмісту загального білка, креатиніну й сечовини в плазмі крові щурів, усунення гіперглікемії та глюкозурії [58].

Широко застосовують сукцинатовмісні препарати в ендокринології.

Досліджено динаміку показників гормонального статусу та активності ферментативної ланки антиоксидантної системи в пацієнтів з вперше виявленим дифузним токсичним зобом (хворобою Грейвса) при стандартному лікуванні та використанні реамберину.

Відзначається прискорення нормалізації показників гормонального статусу і вільнорадикального окиснення, зменшення терміну госпіталізації пацієнтів, ефективності хірургічного лікування [40, 49, 59].

Ефективним виявилося застосування розчину реамберину у хворих з синдромом поліорганної недостатності, що розвивається на фоні критичних станів, пов'язаних з гіпоксичними факторами (клінічна смерть, наркозні ускладнення, циркуляторні гіповолемічні розлади з вторинною гіпоксією), у післяопераційному періоді [31]. Відмічено його ефективність при відновленні компенсаторно-адаптаційних функцій організму. Застосування реамберину в перед- та постперфузійному періоді зменшує ймовірність виникнення «реперфузійного синдрому», сприяє більш швидкому усуненню ендотоксемії та системної запальної реакції [41, 49].

Внутрішньовенне введення цитофлавіну (комплексу N-метил-глюкаміну, рибоксину, нікотинаміду та рибофлавін-5-мононуклеотиду) хворим на вірусний гепатит знижувало рівень АлАТ і білірубіну, відновлювало показники тіолдисульфідної рівноваги. Застосування препарату в післяопераційному періоді у хворих з розлитим перитонітом поліпшувало утилізацію кисню тканинами, зменшувало ступінь гіпоксії, рівень ендогенної інтоксикації, активність перекисного окиснювання. Встановлено позитивний вплив препарату при атеросклеротичних ураженнях судин нижніх кінцівок та міастенії [49, 60, 61].

При УФ опромінюванні введення експериментальним тваринам сукцинатовмісних препаратів ремаксолу і цитофлавіну призводило до стабілізації процесів пероксидації та підвищення активності основних компонентів антиоксидантної системи [62].

Комбінація основних кардіологічних препаратів з новими похідними бурштинової кислоти («Янтавіт») дозволяє суттєво зменшити дози сечогінних засобів і серцевих глюкозидів, кількість прийнятих препаратів, підвищити тривалість їхньої дії [24, 49].

Уведення фармакологічних засобів на основі бурштинової кислоти й хітозану, зокрема, хітозану сукцинату, дозозалежно знижує ступінь метаболічних пошкоджень та розвиток окиснювального стресу при постішемічній реперфузії в щурів. Нейропротекторний та антиоксидантний ефекти пов'язані зі зниженням у тканинах мозку рівня лактату та цитрату до контрольних значень [63].

Експериментально доведено, що поєднання поліфенолів і бурштинової кислоти проявляє неселективну антимікробну дію відносно грампозитивних, грамнегативних бактерій і дріжжоподібних грибів [64].

Протипухлинний ефект притаманний імідам 5-іліденроданін-3-сукцинатних кислот, імовірний механізм дії яких полягає у зв'язуванні з комплексом BcI-XL-BH3 [49].

Курсове введення динатрієвої солі N-сукциноїл-S-(6-етокси-2-метил-хінолін-4-іл)-L-цистеїну на моделі токсичного гепатиту стабілізувало структуру гепатоцитів, прискорювало відновлення ушкодженої паренхіми печінки. Встановлено, що активність значною мірою залежить від природи замісників у шостому положенні хіноліну та в ациламінному залишку L-цистеїну. Цитопротекторні властивості підтверджено дослідженнями перекисного, кислотного та осмотичного гемолізу еритроцитів [65]. На підставі змін вольтамперних кривих процесу відновлення кисню встановлено, що механізм гепатопротекторної дії динатрієвої солі N-сукциноїл-S-(6-етокси-2-метилхінолін-4-іл)-L-цистеїну реалізується за рахунок антирадикальних та антиоксидантних властивостей [66]. Відмічено значну протизапальну активність сполуки на моделях карагенінового та формалінового набряку [18].

З метою розширення арсеналу ефективних малотоксичних біологічно активних сполук з комплексною церебропротекторною дією синтезовані S-піридинзаміщені L-цистеїну та їхні структурні аналоги. Динатрієва сіль 2-(піридин-4-ілтіо)бурштинової кислоти проявляє виражену ноотропну, антигіпоксичну, антиоксидантну та антидепресивну активність [67]. Антидепресивну дію пов'язують зі значною анти-

оксидантною активністю бурштинової кислоти і структурною схожістю S-похідних піридину з вітаміном B_6, який бере участь у синтезі серотоніну [68].

Сфера використання препаратів бурштинової кислоти різноманітна. Вона включає кардіологію, неврологію, ендокринологію, токсикологію та наркологію, реабілітаційну медицину. Важливими напрямами сучасних досліджень похідних бурштинової кислоти залишаються фармакологічна корекція змін метаболізму при гіпоксичних, ішемічних, токсичних ушкодженнях та впливі негативних факторів навколишнього середовища, а також підвищення біодоступності сукцинату шляхом поєднання з гетероциклічними сполуками, що сприяють його кращому проникненню в клітину.

Бурштинова кислота характеризується широким спектром фармакологічних ефектів та має унікальну різнобічність проявів біологічної активності. Тому використання бурштинової кислоти та її похідних для синтезу нових біологічно активних речовин і дослідження взаємозв'язку «структура – біологічна дія» є актуальним та перспективним.

Висновки

Проаналізовано властивості та механізми дії бурштинової кислоти та її препаратів. Огляд наукових публікацій свідчить, що поєднання азотовмісних гетероциклічних сполук та бурштинової кислоти призводить до появи нових ефектів і посилення біологічної дії.

Аналіз наукових досліджень підтверджує актуальність продовження пошуку, моделювання та дослідження нових ефективних сукцинатовмісних біологічно активних сполук метаболічного типу дії.

1. Хімія та біологічна активність 2(4)-тіохінолінів і 9-тіоакридинів / О. А. Бражко, Л. О. Омельянчик, М. П. Завгородній, О. О. Мартиновський. – Запоріжжя : Запорізький нац. ун-т, 2013. – 239 с.
2. A tissue-selective nonsteroidal progesterone receptor modulator:7,9-difluoro-5-(3-methylcyclohex-2-enyl)-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydro-chromeno[3,4-f]quinoline / Bijan Pedram; Arjan van Oeveren; Keith B Marschke [et al.] // Journal of medicinal chemistry. – 2008. – V. 51, № 13. – P. 3696–3699.
3. *Лю Янян.* Синтез новых средств борьбы с микобактериозами на основе гидразидов 1-R-4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновых кислот: дис. канд. фармацевт. наук: *15.00.02* / Лю Янян. Нац. фармацевт. ун-т. – Харьков, 2010.– 165 с.
4. *Карпенко Ю. В.* Комп'ютерний прогноз біологічної активності похідних 2-метил(феніл)-6,9-епоксибензо[g]хіноліну-4,5,10-тріону та 5-метил-(1,2,4-тріазоло[4,3-a]хіноліну) / Карпенко Ю. В., Бражко О. А., Омельянчик Л. О. // Актуал. питання фармацевт. і мед. науки та практики. – 2015. – № 1. – С. 66–70.
5. Синтез, строение и противотуберкулезная активность n-r-амидов 4-гидрокси-1-изо-бутил-2-оксо-1,2,5,6,7,8-гексагидрохинолин-3-карбоновой кислоты / Украинец И. В., Моспанова Е. В., Головченко О. С. [та ін.] // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2011. – Т. 9, № 2 (34). – С. 38–43.
6. 4-N-, 4-S-, and 4-O-Chloroquine Analogues: Influence of Side Chain Length and Quinolyl Nitrogen pKa on Activity vs Chloroquine Resistant Malaria / Jayakumar K. Natarajan, John N. Alumasa, Kimberly Yearick [et al.] // Journal of Medicinal Chemistry, English. – 2008. – V. 51, № 12. – P. 3466–3479.
7. *Kazi S. A.* Synthesis of quinoline thioethers as novel small molecule enhancers of monoclonal antibody production in mammalian cell culture / Kazi S. A., Kelso G. F., Harris S. // Tetrahedron. – 2010. – V. 66, № 48. – P. 9461–9467.
8. 4-Anilino-7-pyridyl-3-quinolinecarbonitriles as Src kinase inhibitors / Nan Zhang, Biqi Wu, Boschelli Frank [et al.] // Bioorganic & medicinal chemistry letters. – 2009. – V. 19, № 17. – P. 5071–5074.
9. Антиоксидантна та церебропротекторна дія N-, S-вмісного похідного хіназолону за гострої ішемії головного мозку в щурів / Губський Ю. І., Бєленічев І. Ф., Коваленко С. І. [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2012.– Т. 84, № 5.– С. 89–96.
10. *Avetisyan A. A.* Synthesis of 1-[2-Methyl-6(8)-R-quinolin-4-yl] thiosemicarbazides / Avetisyan A. A., Aleksanyan I. L., Ambartsumyan L. P. // Russian Journal of Organic Chemistry. – 2010.– V. 46, № 4 – P. 560–564.
11. *Кравцова В. В.* Пошук нових місцевоанестезуючих засобів в ряду амідованих похідних оксохінолін-3-карбонових кислот: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фармац. наук: *15.00.02 «Фармацевтична хімія і фармакогнозія»* / Кравцова Вікторія Володимирівна. Нац. фармац. ун-т. – Харьков, 2011. – 20 с.

12. *Brazhko O. O.* The biological activity of 4-thioquinolines (Revew) / Brazhko O. O. // Вісник Запорізького нац. ун-ту. – 2014. – № 2. – С. 225–236.
13. Створення потенційного нейропротектора (В-34) на основі 3-(8-метокси-2-метилхінолін-4-ілтіо)-2-гідроксипропанової кислоти / Генчева В. І., Омельянчик Л. О., Завгородній М. П. [та ін.] // Вісник Запорізького нац. ун-ту. – 2015. – № 1. – С. 164–173.
14. Синтез і біологічна активність нових похідних 6-бромо-2-метил- 4-сульфанілхінолінів / Бражко О. О., Омельянчик Л. О., Лабенська І. Б. [та ін.] // Ukrainica Bioorganica Acta. – 2014. – № 2 – P. 15–22.
15. *Бражко О. А.* Біологічно активні похідні хіноліну та акридину з азото- та сірковмісними функціональними групами: дис. доктора біол. наук: *02.00.10 «Біооганічна хімія»* / Бражко Олександр Анатолійович. Інститут біоорганічної та нафтохімії НАН України. – Київ, 2005. – 456 с.
16. Віртуальний скринінг та синтез нових N-ацильних похідних S-(2-метилхінолін-4-іл)-L-цистеїну як потенційних біорегуляторів направленої дії / Уліщенко Є. О., Бражко О. А., Омельянчик Л. О. [та ін.] // Мед. хімія. – 2012. – Т. 14, № 3 (52). – С. 94–99.
17. Дослідження протизапальної активності N-ацильних похідних S-(2-метилхінолін-4-іл)-L-цистеїну / Лабенська І. Б., Бражко О. А., Омельянчик Л. О. [та ін.] //Запорожский медицинский журнал. – 2011. – Т. 13, № 5. – С. 143–146.
18. Пат. 93850 Україна, МПК C07D 401/12. N,S-біс(2-метилхінолін-4-іл)цистеаміни та їхніх солі / О. А. Бражко, М. М. Корнет, М. П. Завгородній (Україна) № а 2010 13724; Заявл. 19. 11. 10; Опубл. 10. 03. 11. – Бюл. № 5.
19. Вивчення потенційних радіопротекторів – S-гетерил-модифікованих тіолів / Узленкова Н. Е., Бражко О. А., Корнет М. М. [та ін.] // Укр. радіол. журн. – 2014. –Т. XXII, вип. 1. – С. 56–61.
20. *Галенко-Ярошевский П. А.* Очерки фармакологии средств метаболической терапии / П. А. Галенко-Ярошевский, И. С. Чекман, Н. А. Горчакова. – Москва : Медицина, 2001.–240 с.
21. Regulation of insuline secretion and proinsulin biosynthesis by succinate/ Attali V., Parnes M., Ariav Y. [et al.] // Endocrinology. – 2006. – V. 147, № 11. – P. 5110–5118.
22. Янтарная кислота и ее применение в медицине. Часть I / Смирнов А. В., Нестерова О. Б., Голубев Р. В. // Нефрология. – 2014. – № 2.– С. 33–41.
23. Биохимия человека в 2 т. / Марри Р., Греннер Д., Мейес П. [и др.]. – Москва : Мир, 2009. – Т. 1. – С. 181–188.
24. *Алексеева Л.* Янтарная кислота – основное действующее вещество новых метаболических препаратов / Алексеева Л., Петров А., Саватеева Т. // Врач. – 2001. – № 12. – С. 29–30.
25. *Ariza A. C.* The succinate receptor as a novel therapeutic target for oxidative and metabolic stress-related condition / Ariza A. C., Deen P. M. T., Robben J. H. // Front. Endocrinol. (Lausanne). – 2012. – V. 3, № 22. –P. 1–8.
26. *Зарубина И. В.* Принципы фармакотерапии гипоксических состояний антигипоксантами – быстродействующими корректорами метаболизма / Зарубина И. В. // Обзоры по клин. фармакол. и лекарственной терапии. – 2002. – Т. 1, № 1. – С. 19–28.
27. *Розенфельд А. С.* Теоретико-методологические аспекты действия сукцината при спортивных нагрузках и гипоксии / А. С. Розенфельд, Е. И. Маевский .– Екатеринбург : Изд-во ГОУ ВПО «Рос. гос. проф.-пед. ун-т», 2007. – 174 с.
28. *Saravanan R.* Succinic acid monoethyl ester, a novel insulinotropic agent: effect on lipid composition and lipid peroxidation in streptozotocin-nicotinamide induced type 2 diabetic rats / Saravanan R., Pari L. // Mol. Cell. Biochem. – 2007. – V. 296, № 1–2. – P. 165–176.
29. *Коваль Н. І.* Вплив поєднаного застосування пірацетаму і кислоти бурштинової на показники прооксидантно-оксидантного гомеостазу та активність мітохондріальних ферментів у щурів за умов експериментальної тканинної гіпоксії / Коваль Н. І., Кліщ І. М. // Фармацевтичний часопис. – 2013. – № 3.– С. 25–28.
30. Антиоксидантная энергокоррекция при острой и хронической цереброваскулярной патологии / Силина Е. В., Румянцева С. А., Афанасьев В. В. [и др.] // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. –2013. – Т. 113, № 10. – С. 88–94.
31. *Лазарев В. В.* Влияние сукцинатсодержащего раствора на уровень основного обмена в периоперационном периоде у детей / Лазарев В. В., Ермолаева К. Р., Кочкин В. С. // Анестезиология и реаниматология. – 2015. – № 1. – С. 38–46.
32. *Денисюк О. М.* Застосування бурштинової кислоти для посилення протигіпоксичного ефекту антигіпоксантів / Денисюк О. М., Степанюк Г. І. // Медична хімія. – 2014. – Т. 16, № 4. – С. 97.
33. *Пегова Р. А.* Фармацевтические композиции гиполипидемического действия эфиров уксусной и янтарной кислот бетулина / Пегова Р. А., Жильцова О. Е., Клабукова И. Н. // Медицинский альманах. – 2015. – № 3. – С. 216–219.
34. Succinate is a paracrine signal for liver damage / Correa P., Kruglov E., Thompson M. [et al.] // J. Hepatol. – 2007. – V. 47, № 2. – P. 262–269.
35. Succinate modulates Ca(2+) transient and cardiomyocyte viability through PKA-dependent pathway/ Aguiar C. J., Andrade V. L., Gomes E. R. [et al.] // Cell. Calcium. – 2010. – V. 47, № 1. – P. 37–46.
36. Activation of the succinate receptor GPR91 in macula densa cells causes renin release / Vargas S. L., Toma I., Kahg J. J. [et al.] // J. Am. Soc. Nephrol. – 2009. – V. 20, № 5. – P. 1002–1011.

37. *Camara A. K.* Potential therapeutic benefits of strategies directed to mitochondria / Camara A. K., Lesnefsky E. J., Stowe D. F. // Antioxid. Redox. Signal. – 2010. – V. 13, № 3. – P. 279–347.
38. *Archer S. L.* Mitochondrial dynamics -mitochondrial fission and fusion in human diseases // N. Engl. J. Med. – 2013. –V. 369, № 23. – P. 2236–2251.
39. *Белоусов Ю. Б.* Современный подход к цитопротекторной терапии. Методическое пособие для врачей / Ю. Б. Белоусов. – Москва, 2010. –30 с.
40. *Пшениснов К. В.* Применение растворов сукцината в комплексной интенсивной терапии диабетического кетоацидоза у детей (случай из практики) / Пшениснов К. В., Александрович Ю. С. // Неотложная медицина. – 2014. – № 2. – С. 32–36.
41. *Орлов Ю. П.* Роль сукцинатов при критических состояниях / Орлов Ю. П., Говорова Н. В. // Общая реаниматология. – 2014. – № 6.– С. 65–78.
42. Клинико-лабораторная оценка эффективности лечения больных с терминальной стадией почечной недостаточности с использованием хронического гемодиализа и ацидосукцината / Смирнов А. В., Нестерова О. Б., Суглобова Е. Д. [и др.] // Тер. архив. – 2013. – Т. 85, № 1. – С. 69–75.
43. Эффективность ремаксола и адеметионина при сочетанном экспериментальном поражении печени противотуберкулеными препаратами резервного ряда и алкоголем / Суханов Д. С., Артюшкова Е. Б., Дудка В. Т. [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – № 4. – С. 59–62.
44. Влияние иммунотропных препаратов на репаративные процессы в легких при химиотерапии экспериментального лекарственно устойчивого туберкулеза / Виноградова Т. И., Витовская М. Л., Заболотных Н. В. [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2014. – № 7. – С. 11–15.
45. Розробка таблетованої лікарської форми, що містить екстракт ехінацеї пурпурової та бурштинову кислоту / Цокало І. Є., Зайцев О. І. // Фармацевтичний часопис. – 2011. – № 2. – С. 45–49.
46. *Чернєв О. В.* Вплив курсового призначення сукцинату натрію на функціональний стан та загальну фізичну працездатність організму футболістів під час навчально-тренувальних зборів / Чернєв О. В. // Science Rise. – 2015. – Т . 3, № 9. – С. 16–24.
47. *Смирнов Л. Д.* 3-оксипроизводные шестичленных азотистых гетероциклов. Синтез, ингибирующая активность и биологические свойства / Смирнов Л. Д., Дюмаев К. М. // Хим.-фарм. ж. – 1982. – Т. 16, № 4. – С. 28–44.
48. Использование метаболических средств в комплексной терапии ишемической болезни сердца / Стаценко М. Е., Туркина С. В., Лемперт Б. А. [и др.] // Леч. врач. – 2012. – № 3. – С. 81–84.
49. Янтарная кислота и ее применение в медицине. Часть II. Применение янтарной кислоты в медицине / Смирнов А. В., Нестерова О. Б., Голубев Р. В. [и др.] // Нефрология. – 2014. – № 4. – С. 12–24.
50. Влияние изменения метаболического и антиоксидантного статуса миокарда на выраженность его ишемического и реперфузионного поражения / Сыренский А. В., Галагудза М. М., Егорова Е. И. [и др.] // Рос. физиол. журнал им. Сеченова. – 2008. – Т. 94, № 10. – С. 1171–1180.
51. *Соколов А. С.* Эффективность метаболической терапии в комплексном лечении острого коронарного синдрома / Соколов А. С., Шульженко А. В. // Український журнал екстремальної медицини ім. Г. О. Можаєва. – 2012. – Т. 13, № 3. – С. 22–25.
52. Применение мексидола в остром периоде ишемического инсульта / Новикова Л. Б., Шарафутдинова Л. Р., Шарапова К. М. // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2013. – Т. 113, № 9. – С. 83–85.
53. Применение сукцинатов для коррекции метаболических нарушений в зоне ишемической полутени у пациентов с инсультом / Одинак М. М., Янишевский С. Н., Цыган Н. В. [и др.] // Неврологический вестник. – 2014. – № 4. – С. 26–31.
54. *Никонов В. В.* Коррекция энергетического гомеостаза в остром периоде сочетанной черепно-мозговой травмы / Никонов В. В., Павленко А. Ю., Белецкий А. В. // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2013. – Т. 113, № 7. – С. 32–36.
55. *Стельмах В. В.* Метаболические корректоры на основе янтарной кислоты как средства патогенетической терапии при хронических вирусных гепатитах / Стельмах В. В., Радченко В. Г., Козлов В. К. // Тер. архив. – 2011. – Т. 83, № 2. – С. 67–70.
56. Возможности «ремаксола» для профилактики токсических гепатитов при химиотерапии онкологических больных / Черенков В. Г., Петров А. Б., Васильева Т. М. [и др.] // Вопросы онкологии. – 2013. – Т. 59, № 3. – С. 369–374.
57. Применение инфузионного раствора ремаксол в комплексном лечении больных лептоспирозом / Лебедев В. В., Журавлев А. Ю., Зотов С. В. [и др.] // Терапевтический архив. – 2013. – Т. 85, № 11. – С. 58–61.
58. *Трашков А. П.* Метаболическая терапия мочекаменной болезни на различных моделях поражения почек у крыс / Трашков А. П., Васильев А. Г., Коваленко А. Л. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2015. – № 3. – С. 22–26.
59. *Якубовский С. В.* Использование сукцинатсодержащих препаратов в комплексном лечении пациентов с диффузным токсическим зобом / Якубовский С. В., Кондратенко Г. Г., Попова И. И. // Клиническая медицина. – 2014. – № 8.–С. 50–53.

60. *Мазина Н. К.* Клиническая эффективность сукцинатсодержащего инфузионного препарата при фармакотерапии поражений печени разного генеза: результаты метаанализа / Мазина Н. К., Мазин П. В., Суханов Д. С. // Терапевтический архив. –2013. –Т. 85, № 1. – С. 56–61.
61. *Дрозд О. А.* Эффективность озонотерапии и цитофлавина в комплексном лечении миастении / Дрозд О. А., Ефремов В. В., Дударев И. В. // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2013. – Т. 113, № 1. – С. 46–49.
62. Влияние сукцинатсодержащих препаратов на интенсивность процессов пероксидации в условиях ультрафиолетового облучения / Доровских В. А., Ли О. Н., Симонова Н. В. [и др.] // Дальневосточный медицинский журнал. – 2014. – № 4. – С. 85–89.
63. Влияние соединений на основе янтарной кислоты и хитозана на активность аконитатгидратазы и содержание цитрата в тканях крыс при ишемии/реперфузии головного мозга / Сафонова О. А., Попова Т. Н., Сливкин А. И. [и др.] // Химико–фармацевтический журнал. – 2014 .– № 12. – С. 3–6.
64. Изучение антимикробной активности некоторых двухосновных карбоновых кислот в сочетании с прополисом / Шишкова Ю. С., Симонян Е. В. Абрамовских О. С. [и др.] // Медицинский альманах. – 2014. – № 1. – С. 99–101.
65. *Лабенська І. Б.* Прогноз біологічної активності сполук як основа для пошуку нових біорегуляторів в ряду N-ацильних похідних S-(2–метилхінолін–4–іл)–L–цистеїну / Лабенська І. Б. // Питання біоіндикації та екології. – 2013. – Вип. 18, № 2. – С. 314–324.
66. Залежність біологічної активності N–ацильних похідних 6–алкокси–2–метил–4–меркаптохіноліну від природи замісників у шостому положенні гетероциклу / Лабенська І. Б., Шаповал Г. С., Кругляк О. С. [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2010. – Т. 82, № 3. – С. 49–54.
67. Пат. №100654, Україна, МПК C07D213/16; C07C55/10; C07C153/01. Динатрієва сіль 2–(піридин–4–ілтіо)бурштинової кислоти, що має антиоксидантну, антигіпоксичну, антидепресивну та ноотропну активність / Ю. Ю. Петруша, Л. О. Омельянчик, І. Ф. Бєлєнічев (Україна) – № а 201203302; Заявл. 20.03.12; Опубл. 10.01. 13. – Бюл. №1.
68. *Петруша Ю. Ю.* Дослідження антидепресивної активності динатрієвої солі 2–(піридин–4–ілтіо) бурштинової кислоти / Петруша Ю. Ю. // Науковий вісник Східноєвропейського нац. університету імені Лесі Українки. – 2015. – № 2. – С. 189–193.

І. Б. Лабенська

Бурштинова кислота – потенційний фармакофор при моделюванні нових біорегуляторів на основі азотовмісних гетероциклів

В огляді літератури відображено сучасний погляд на проблему моделювання, створення та застосування біологічно активних речовин метаболічного типу дії. Цікавим і важливим у практичному відношенні фармакофором виступає бурштинова кислота та її солі – фізіологічний субстрат циклу трикарбонових кислот та ланцюга мітохондріального окиснення. Сукцинат метаболізується в мітохондріях активніше, ніж будь-який інший субстрат циклу Кребса, що й визначає значний діапазон біологічної активності. За результатами численних клінічних досліджень відомо, що препарати бурштинової кислоти наділені низкою органо- і цитопротективних ефектів та знаходять застосування в різних галузях медицини. Протягом багатьох років їх використовують у кардіології, неврології, токсикології, педіатрії, хірургії, відновній медицині. Унікальне поєднання властивостей бурштинової кислоти виступати щодо здорового організму як адаптоген, а при наявності патологічних змін проявляти терапевтичний ефект вказує на доцільність екзогенного введення сполуки. Використання сукцинатовмісних сполук є патогенетично обгрунтованим і ефективним як для монотерапії, так і в поєднанні з іншими препаратами.

Результати експериментальних досліджень речовин, які поєднують у своїй структурі гетероциклічну систему і похідні бурштинової кислоти, вказують на перспективність синтезу та біологічного скринінгу сполук даного ряду.

У статті проаналізовано властивості й механізми дії бурштинової кислоти та її препаратів. Огляд наукових публікацій свідчить про те, що поєднання азотовмісних гетероциклічних сполук і бурштинової кислоти призводить до появи нових ефектів і посилення біологічної дії. Аналіз наукових робіт підтверджує актуальність продовження моделювання, синтезу та дослідження нових ефективних сукцинатовмісних біологічно активних речовин метаболічного типу дії.

Ключові слова: бурштинова кислота, біологічна дія, азотовмісні гетероцикли

И. Б. Лабенская

Янтарная кислота – потенциальный фармакофор при моделировании новых биорегуляторов на основе азотсодержащих гетероциклов

В обзоре литературы отражен современный взгляд на проблему моделирования, создания и применения биорегуляторов метаболического типа действия. Интересным и важным в практическом отношении фармакофором выступает янтарная кислота и ее соли – физиологический суб-

страт цикла трикарбоновых кислот и цепи митохондриального окисления. Сукцинат метаболизируется в митохондриях активнее, чем любой другой субстрат цикла Кребса, что и определяет значительный диапазон биологической активности. Как следует из многочисленных клинических исследований, препараты янтарной кислоты обладают рядом органо- и цитопротекторных эффектов и находят применение в различных областях медицины. На протяжении многих лет их применяют в кардиологии, неврологии, токсикологии, педиатрии, хирургии, восстановительной медицине. Уникальное свойство янтарной кислоты являться адаптогеном для здорового организма, а при наличии патологических состояний оказывать терапевтический эффект указывает на целесообразость длительного экзогенного введения препаратов. Использование сукцинатсодержащих соединений является патогенетически обоснованным и эффективным как для монотерапии, так и в сочетании с другими препаратами.

Результаты экспериментальных исследований веществ, которые объединяют в своей структуре гетероциклическую систему и производные янтарной кислоты, указывают на перспективность синтеза и биологического скрининга соединений данного ряда.

В статье проанализированы свойства и механизмы влияния янтарной кислоты и ее препаратов. Обзор научных публикаций свидетельствует о том, что сочетание азотсодержащих гетероциклических соединений и янтарной кислоты приводит к появлению новых эффектов и усилению биологического действия. Анализ научных работ подтверждает актуальность продолжения моделирования, синтеза и исследования новых эффективных сукцинатсодержащих биорегуляторов метаболического типа действия.

Ключевые слова: янтарная кислота, биологическое действие, азотсодержащие гетероциклы

I. B. Labenska

Succinic acid as a potential pharmacophore for modeling of new bioregulators based on nitrogen containing heterocycles

The review of the literature shows the modern approach to the problem of modeling, development and application of bioregulators of metabolic action. The succinic acid and its salts as physiological substrates of the tricarboxylic acid cycle and the mitochondrial oxidation are interesting and important in practical terms as pharmacophore. Succinate metabolizes in the mitochondrias more actively than any other substrate of the Krebs cycle, that determines the considerable range of biological activity. The evidents of numerous clinical studies show that the drugs which containe succinic acid have a number organo- and cytoprotective effects and find effective application in many fields of medicine. Over the years, they are used in cardiology, neurology, toxicology, pediatrics, surgery, rehabilitation medicine. The unique combination of properties of succinic acid that is an adaptogen in a healthy body and have a therapeutic effect in cases of pathological manifestations refers to expedient of exogenous administration of a compound. The usage of succinate-containing compounds is pathogenetically substantiated and effective as for a monotherapy, and in combination with other drugs.

The results of experimental studies of substances which combine in its structure a heterocyclic system and derivatives of succinic acid indicate the prospects of synthesis and biological screening of such compounds series.

In the article analyzes the characteristics and mechanisms of action of succinic acid and its preparations. Review of scientific publications indicates that the combination of nitrogen-containing heterocyclic compounds and succinic acid leads to the appearance of new effects and the intensification of the biological effect. The analysis of studies confirms the continuation of searching, modeling and research of new effective succinate-containing bioregulators with metabolic type of action.

Key words: succinic acid, biological effects, nitrogen heterocycles

Надійшла: 1 лютого 2016 р.

Контактна особа: Лабенська Ірина Борисівна, кандидат біологічних наук, кафедра хімії, Запорізький національний університет, буд. 66, вул. Жуковського, м. Запоріжжя, 69600.
Тел.: +38 067 932 70 85. Електронна пошта: Labenska@rambler.ru

УДК 612.13:612.273.2

А. С. Хромов

Липосомальные препараты – реализация нанотехнологий в медицине

Государственное учреждение «Институт фармакологии и токсикологии Национальной академии медицинских наук Украины», г. Киев

Ключевые слова: липосомы, гипоксия, сердечно-сосудистая система, наномедицина

Цель исследования – проанализировать данные литературы, касающиеся использования липосомальных препаратов/структур как способа реализации нанотехнологий в медицине.

Становление наномедицины тесно связано с достижениями геномики и протеомики, которые позволили приблизиться к пониманию молекулярных механизмов развития и течения болезней, и с возможностями современных технологий, позволяющими создать материалы с новыми свойствами на нанометрическом уровне.

По мнению Р. Фрейтаса, одного из ведущих специалистов данной области [1], наномедицина – это «слежение, исправление, конструирование и контроль над биологическими системами человека на молекулярном уровне с помощью наноустройств и/или наноструктур». Таким образом, в медицине перспектива применения нанотехнологий заключается, в конечном счете, в необходимости изменять структуру клетки на молекулярном уровне с помощью нанороботов либо иных нанотехнологий.

Выделяют 5 основных областей применения нанотехнологий в медицине:

1) доставка активных лекарственных веществ, 2) новые методы и средства лечения на нанометровом уровне, 3) диагностика *in vivo*, 4) диагностика *in vitro*, 5) медицинские имплантаты и трансплантаты.

Конкретные задачи нанотехнологий в медицине можно разделить на несколько групп: наноструктурирование материалов, включая поверхности с нанорельефом и мембраны с наноотверстиями; создание наночастиц (включая фуллерены и дендримеры), микро- и нанокапсул; разработка нанотехнологических сенсоров и анализаторов; внедрение в практическую медицину сканирующих зондовых микроскопов; проектирование наноинструментов и наноманипуляторов; микро- и наноустройств различной степени автономности. Некоторые из этих задач уже частично решены в экспериментальных условиях, большинство еще предстоит решить. В любом случае, конкретные решения будут развиваться и совершенствоваться.

Имеющиеся факты подчеркивают большое значение мембранопатий и нарушений энергообеспечения в развитии практически всех патологических процессов. Иными словами, возникает вопрос о необходимости проведения системной фармакологической коррекции функций эффекторных элементов сердечно-сосудистой системы. Под этим подразумевается фармакологическое воздействие, которое приводит к одновременному восстановлению и поддержанию функциональной активности плазматических мембран мио- и эндотелиоцитов.

Нанотехнологии, открывая новые возможности для медицины и здравоохранения, уже сейчас вполне реальны и доступны. Одним из примеров применения нанотехнологий в медицине является использование липосом и созданных на их основе лекарственных препаратов.

В настоящее время отдельные типы природных липидных веществ, их биологически активные молекулярные фрагменты и модифицированные синтетические аналоги рассматриваются как перспективный источник для соз-

© А. С. Хромов, 2016

дания лекарственных и диагностических препаратов нового поколения. Применение липидов для целей практической медицины основано на их высокой активности и проводится с учетом конкретного вида функциональной активности, проявляемой теми или иными липидами в биологической системе. Препараты липидной природы только начинают широко осваиваться в медицинской практике, поэтому для такого сравнительно нового класса лекарственных средств актуальным является определение показаний и противопоказаний к применению, изучение механизмов их действия, эффективности и безопасности. Наиболее перспективным представляется изучение фосфолипидов, а именно: их особой формы – везикул (липосом).

Известно, что липосомы различного химического состава малотоксичны и легко подвергаются биодеградации, а продукты их процессинга легко утилизируются в организме, включаясь в обменные процессы, с образованием H_2O и CO_2, что делает возможным использование липосом как в качестве носителей, так и в качестве самостоятельного препарата. Кроме того, фосфолипиды (основной компонент липосом) являются важнейшей составной частью большого количества структурных образований клетки, и, обмениваясь своими молекулами с ее клеточными структурами, способны восстанавливать наружный слой биомембран [2].

Липосомы (от греч. *lipos* жир – и *sōma* – тело) представляют собой искусственно созданные сферические структуры нанодиапазона, образуемые одно- или двухслойной мембраной. Они относятся к обширному семейству везикулярных структур, образуемых амфифильными молекулами. За сравнительно небольшой период, прошедший с момента их открытия (середина 60-х годов прошлого века), липосомы превратились из простой модели, имитирующей клеточные мембраны, в объект активных научных исследований и разнообразного практического применения в различных областях – от медицины до математики [3–5].

Впервые липосомами были названы частицы, образующиеся при механическом диспергировании взвеси набухших фосфолипидов в воде. Эти частицы могут образовываться одним липидным бислоем (моноламеллярные везикулы размером около 20 нм) или несколькими десятками, а то и сотнями липидных бислоев, разделенных водными промежутками (мультиламеллярные везикулы размером до 50 мкм). Между этими двумя крайностями находятся разнообразные липосомные структуры, различающиеся размерами, формой, количеством липидных бислоев и строением. Структура липосомы представляет собой водную полость, окруженную липидным бислоем, и напоминает структуру клетки, в первую очередь, структуру ее клеточной мембраны.

Свойства липосом и их поведение определяются, прежде всего, наличием у них замкнутой липидной оболочки, то есть нахождением фосфолипида в везикулярной форме. Несмотря на незначительную толщину (около 4 нм), липидный бислой липосом, как и плазматические мембраны клеток, отличается исключительной механической прочностью и подвижностью, что обуславливает способность мембран к восстановлению. Это их свойство применяют для встраивания интегральных мембранных белков в липидный бислой с целью получения протеолипосом. Стабильность и относительная непроницаемость липидных везикул сделала их потенциальным биологическим носителем различных лекарственных субстанций для доставки в клетки и ткани организма.

Липосомы сами по себе нетоксичны, легко биодеградируемы, их оболочка может сливаться с клеточной мембраной, обеспечивая тем самым доставку содержимого липосом в клетку. В липосомы могут включаться различные субстанции, при этом низкомолекулярные водорастворимые вещества содержатся преимущественно во внутренней водной фазе, а высокомолекулярные липофильные – сорбируются на или в наружных поверхностях, в основном, за счет образования водородных связей с полярными группами липидов [2].

Вещество, заключенное в липосомы, защищено от воздействия ферментов, что увеличивает эффективность препаратов, подверженных деструкции в биосредах. Еще одно важное преимущество липосом в качестве носителя – это постепенное высвобождение лекарственной субстанции, что увеличивает время ее действия [6].

Способность липосом включать в себя самые разные вещества практически без ограничений в отношении их химической природы, свойств и размера молекул предоставляет уникальные возможности для решения различных медицинских проблем. Так, многие лекарственные препараты имеют низкий терапевтический индекс или быстро теряют свою активность под действием инактивирующих агентов. Включение таких препаратов в липосомы может значительно повысить их терапевтическую эффективность, поскольку, с одной стороны, препарат, находящийся в липосоме, защищен ее мембраной от действия неблагоприятных факторов, а с другой стороны, та же мембрана не позволяет токсичному препарату превысить допустимую концентрацию в биологических жидкостях организма. Липосома в данном случае играет роль хранилища, из которого препарат высвобождается постепенно, в нужных дозах и в течение необходимого времени. Данные, накопленные за последние годы, подтверждают способность липосом транспортировать лекарственное средство, снижать его общетоксическое действие, повышать терапевтический эффект.

С точки зрения биологической совместимости липосомы идеальны в роли переносчиков лекарственных препаратов. Они изготавливаются из природных липидов и поэтому нетоксичны, не вызывают нежелательных иммунных реакций и биодеградируемы. Однако липосомы недостаточно стабильны в крови и быстро выводятся из кровотока макрофагами, которые находятся в печени, селезенке и костном мозге. По этой причине липосомные носители не всегда удается направить именно в те органы и ткани, где происходит патологический процесс. Хотя иногда такие «недостатки» удается использовать в качестве достоинств. Естественная нацеленность макрофагов на липосомы может быть использована для их активации, что очень полезно для борьбы с различными инфекциями [2, 7]. Тот факт, что липосомы не накапливаются такими «интактными» внутренними органами, как сердце, почки, мозг, а также клетками нервной системы, позволяет за счет использования липосомальных лекарственных форм значительно снизить кардиотоксичность, нефротоксичность и нейротоксичность противоопухолевых препаратов [8].

Прикрепление к поверхности липосом молекул, специфичных по отношению к клеткам-мишеням (например, иммуноглобулинов), в некоторых случаях оказывается эффективным для направленной доставки противоопухолевых, противоинфекционных и противовоспалительных препаратов [6, 9]. Проблема доставки лекарства в нужное место может быть также решена путем местного применения липосомальных препаратов, как это было сделано в случае противоартритных препаратов [10, 11] и препаратов для лечения респираторного дистресс-синдрома новорожденных и взрослых [12, 13], а также бронхиальной астмы [14].

Все эти приемы были предложены для обычных липосом, время пребывания которых в кровотоке невелико (от нескольких минут до нескольких часов). Поэтому они не решали общей проблемы преодоления естественных барьеров для липосом в организме, основным из которых является печень. Решить эту проблему удалось путем создания липосом с сильно гидрофильной поверхностью за счет включения ковалентно связанного синтетического полимера полиэтиленгликоля. В результате время жизни липосом в кровотоке превысило двое суток, и, что более важно, такие липосомы постепенно накапливались в тех местах, где кровеносные сосуды имели дефекты структуры, обладали повышенной проницаемостью или вообще были плохо развиты, что обычно характерно для инфекционных и воспалительных процессов.

Необычные свойства полиэтиленгликоль-содержащих липосом и их высокая терапевтическая эффективность настолько поразили исследователей, что эти липосомы получили образное название «липосомы-невидимки» (stealth liposomes) аналогично известному самолету-невидимке «стелс» [15, 16].

Применение липосом в медицине не ограничивается традиционной химиотерапией. Их использование представляется весьма перспективным в сочетании с новым поколением лекарств, созданных благодаря успехам белковой и генетической инженерии. Введение с помощью липосом фрагментов ДНК в клетки с тем, чтобы заставить их продуцировать нужные белки или полипептиды, может оказаться полезным для терапии наследственных заболеваний, которые обусловлены дефектами генов, кодирующих жизненно важные белки [17]. С помощью липосом в организм могут быть также введены различные белки, в частности, ферменты с целью энзимотерапии [18, 19] и цитокины для коррекции иммунного статуса организма [20]. Весьма серьезные работы ведутся по созданию гемоглобин-содержащих липосом (гемосом) с целью получения искусственных заменителей крови [21–23]. Активно ведется разработка и исследование липосомальной формы АТФ – препарата, предназначенного для лечения ишемических и реперфузионных повреждений миокарда [24, 25].

Делаются и попытки лечения острого респираторного дистресс-синдрома с помощью липосомальных форм лекарственных средств (простагландин Е1 и N-ацетилцистеин) [26–29].

Перспективным может оказаться и включение в состав липосом цитохрома С, водорастворимая форма которого используется при коррекции острой массивной кровопотери [30]. Есть сведения о положительных результатах применения липосомальной формы цитохрома С на модели острой ишемии миокарда. Введение такого препарата при окклюзии коронарной артерии снижало количество случаев нарушений ритма сердечных сокращений. При этом было продемонстрировано уменьшение индекса повреждения миокарда с 30,3 до 13,8 % [31].

С целью усиления антигипоксического и антиоксидантного действия липосом эффективным оказалось введение в их структуру кверцетина (зарегистрированный в Украине препарат Липофлавон®). Использование этого препарата приводило к полноценному восстановлению коронарного кровотока в послеокклюзионном периоде при ишемии миокарда в условиях *in vitro* и *in vivo* [32, 33]. Получены также доказательства целесообразности применения этого препарата при лечении диабетической ретинопатии [34].

Транспорт лекарственных средств, инкапсулированных в липосомы для целенаправленной доставки препарата в органы или клетки-мишени при различных заболеваниях, несомненно, является перспективным направлением в медицине. Однако, как оказалось, липосомы сами по себе обладают определенной фармакологической активностью, что обязательно следует учитывать при их применении в медицине [35–38].

Из всей совокупности опубликованных данных изучению самостоятельной физиологической активности липосом посвящено не так уж много работ [29, 39–43]. Тем не менее, в этих исследованиях была показана выраженная активность «пустых» липосом в организме животных и человека.

В основном, такие исследования проводились и проводятся представителями отечественной школы. Несомненным основоположником украинской липосомологии был академик НАМН Украины Александр Викторович Стефанов. В результате исследовательских работ его коллег и учеников в этом направлении (А. И. Соловьева, В. П. Пожарова, Т. Д. Миняйленко, А. С. Григорьевой, Н. Ф. Конахович, С. А. Брыгинского, В. Я. Тютюнник, А. В. Паршикова, А. С. Хромова, В. А. Юхимец, Л. Н. Шереметы, Е. В. Стрелкова, Н. В. Добрели) в Украине были разработаны и внедрены в практику здравоохранения такие препараты, как Липин®, Липофлавон®, Лиолив®). Следует сразу отметить, что промыш-

ленный выпуск липосомального препарата впервые в мире был освоен на заводе «Биолек» (Харьков), а Липин в 1992 году стал вторым в мире разрешенным к клиническому применению липосомальным лекарственным средством.

Особая заслуга в изучении влияния липосом на функциональное состояние кровеносных сосудов принадлежит профессору А. И. Соловьеву. Так, им совместно с А. В. Стефановым была продемонстрирована способность фосфатидилхолиновых липосом (ФХЛ) оказывать влияние на электрическую и сократительную активность сосудистых гладких мышц [44]. Было показано, что при гипоксии ФХЛ восстанавливают измененную для ионов проницаемость плазматических мембран гладких мышц сосудов [45], а у крыс со спонтанной артериальной гипертензией улучшают дилататорные реакции сосудов [46]. Кроме того, было показано, что «пустые» ФХЛ эффективно восстанавливают вызванное ацетилхолином эндотелий-зависимое расслабление изолированных колец грудной аорты, нарушенное воздействием гамма-облучения, и не влияют на эндотелий-независимые сосудистые реакции на терапевтические доноры оксида азота [47, 48]. Липосомы также восстанавливают пониженную после облучения чувствительность сосудистой ткани к ацетилхолину и оксиду азота [49]. В экспериментах на сосудистых гладкомышечных препаратах было также показано, что ФХЛ способны поддерживать сократительную активность гладких мышц сосудов в условиях гипоксии [50].

В экспериментальных исследованиях было продемонстрировано, что липосомы оказывают антигипоксическое, антиоксидантное действие и способствуют поддержанию энергетического метаболизма гипоксигенированных тканей [42, 46, 51, 52].

К настоящему времени были сделаны попытки использования липосом, как самостоятельно, так и в сочетании с другими лекарственными средствами, для лечения гиповолемического шока. Введение лецитиновых липосом в инфузионную среду способствует более полноценной коррекции кровопотери. Это проявляется в предупреждении развития лактат-ацидоза и избыточной активации свободно-радикального окисления, нормализации и длительной стабилизации центральной гемодинамики без развития синдрома «централизации кровообращения» [53, 54]. Вместе с этим, липосомы, благодаря взаимодействию с липидным бислоем поврежденных клеточных мембран, приводят к восстановлению целостности и функциональной активности мембран [55]. Установлено, что применение фосфатидилхолиновых липосом при геморрагическом шоке приводит к восстановлению фосфолипидного состава митохондрий мозга у кошек [56].

При изучении влияния фосфатидилхолиновых липосом на макро- и микроэлементный состав сурфактанта легких у крыс, которым предварительно ингаляционно вводили диоксид серы, было установлено, что применение липосом сопровождается мембранопротекторным действием и нормализацией содержания микро- и макроэлементов в сурфактанте легких у крыс [57]. Практическое подтверждение эффективности применения липосом было получено при клиническом изучении их специфической фармакологической активности в исследованиях с участием пациентов с гнойно-деструктивными заболеваниями легких, осложненными синдромом дыхательной недостаточности [58, 59].

Введение ФХЛ непосредственно перед восстановлением кровотока в коронарной артерии способствовало сохранению насосной и сократительной функции сердца в реперфузионном периоде и приводило к стабилизации как центральной гемодинамики, так и коронарного кровотока. Феномен «no-reflow» не развивался. На электрокардиограмме регистрировали лишь единичные экстрасистолы. Концентрации малонового диальдегида и восстановленного глутатиона практически не отличались от своих первоначальных величин. Это также не сопровождалось увеличением токсичности плазмы крови [51].

Кроме того, в экспериментах на животных были продемонстрированы гипотензивные эффекты ФХЛ при артериальной гипертензии различного генеза [60, 61].

Делались попытки лечения с помощью липосом как локальных [62], так и генерализованных гнойных процессов [63]. Было показано, что введение липосом предупреждает развитие нарушений микроциркуляции при генерализованной гнойной инфекции [64].

Возможность использования липосом как средства неспецифической детоксикации была продемонстрирована в экспериментах на животных при моделировании синдрома длительного раздавливания, бактериального шока, острой ишемии и реперфузии миокарда. Введение фосфатидилхолиновых липосом способствовало значительному снижению токсичных свойств крови и нормализации параметров системной гемодинамики [65–68].

На модели субтотальной ишемии-реперфузии миокарда и в условиях гипоксической констрикции легочной артерии была показана способность фосфатидилхолиновых липосом практически полностью устранять легочную гипертензию [51, 69].

Совокупность материалов, представленных в этой работе, указывает на способность фосфатидилхолиновых (лецитиновых) липосом влиять на основные механизмы развития многих патологических процессов, повышая оксигенацию тканей, подавляя избыточное перекисное окисление липидов, уменьшая накопление в крови токсичных продуктов метаболизма, тем самым, восстанавливая функциональную полноценность плазматических мембран, в том числе и эндотелия. Результатом такого комплексного действия является устранение гипоксии тканей, ограничение процессов перекисного окисления липидов, эндотелио-, вазо- и кардиопротекция, что приводит к нормализации параметров системного кровообращения. При этом фосфатидилхолиновые липосомы не нарушают функциональную активность органов и систем здорового организма и не вызывают побочных реакций.

Если рассматривать липосомы и липосомальные препараты как пример реальных нанотехнологий в медицине, то уже в настоящее время они используются и могут использоваться сразу в нескольких областях наномедицины, а именно: в доставке активных лекарственных веществ, разработке новых методов и средств лечения на нанометровом уровне, диагностике *in vivo* и *in vitro*, а дальнейшее изучение липосом и разработка новых липосомальных фармакологических средств является перспективным направлением наномедицины.

1. *Freitas R. A. Jr.* Some Limits to Global Ecophagy by Biovorous Nanoreplicators, with Public Policy Recommendations, 2000. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.foresight.org/
2. Liposome Technology : [in 3 vol.]. –New York–London : Informa, 2006. – 2007. [Ed. G. Gregoriadis]. – [3-ed edition]. – V. 1: Liposome Preparation and Related Techniques. – 2006. – 296 p.; V. 2: Entrapment of drugs and other materials into liposomes. – 2006. – 424 p.; V. 3: Interactions of liposomes with the biological milieu. – 2007. – 464 p.
3. *Bangham M.* Preparation and use of liposomes as a model of biological membranes / M. Bangham, N. Hill, P. Miller // Methods in membrane biology. –N.Y. : Acad. Press, 1974. – 365 p.
4. *Хромов О. С.* Експериментальне обґрунтування застосування фосфатидилхолінових ліпосом в медицині / О. С. Хромов, А. І. Соловйов // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2008. – № 4–5. – С. 88–98.
5. *Gromov M.* Crystals, proteins and isoperimetry / M. Gromov // Bull. Am. Math. Soc. – 2011. – V. 48. – P. 229–257.
6. *Sapra P.* Ligand-targeted liposomal anticancer drugs / P. Sapra, T. M. Allen // Progress in Lipid Research. – 2003. – V. 42. – V. 439–462.
7. The Interaction of Liposomes with the Complement System: *In Vitro* and *In Vivo* Assays / J. Szebeni, L. Baranyi, S. Savay [et al.] // Methods in Enzymology. – 2003. – V. 373. – P. 136–154.
8. Preparation, characterization, and use of antioxidant-liposomes / H. Yang, V. Paromov, M. Smith, W. L. Stone // Methods Mol. Biol. – 2008. – V. 477. – P. 277–292.
9. *Patel S. S.* Liposome: A versatile platform for targeted delivery of drugs / S. S. Patel // Pharmaceutical review. – 2006. – V. 4, Iss. 5. – P. 1–10.

10. Targeting of angiogenic endothelial cells at sites of inflammation by dexamethasone phosphate-containing RGD peptide liposomes inhibits experimental arthritis / G. A. Koning, R. M. Schiffelers, M. Wauben [et al.] // Arthritis Rheum. – 2006. – V. 54. – P. 1198–1206.
11. *Vanniasinghe A. S.* The Potential of Liposomal Drug Delivery for the Treatment of Inflammatory Arthritis / A. S. Vanniasinghe, V. Bender, N. Manolios // Arthritis and Rheumatism. – 2009. – V. 39, Iss. 3. – P. 182–196.
12. *Пожаров В. П.* Синдром стрессорного легкого и коррекция его фосфолипидами / В. П. Пожаров, Т. Д. Миняйленко, М. М. Середенко // Доклады АН СССР. – 1990. – Т. 310, № 8. – С. 754–757.
13. Roles of protease-activated receptors in a mouse model of endotoxemia / E. Camerer, I. Cornelissen, H. Kataoka [et al.] // Blood. – 2006. – V. 107, № 10. – P. 3912–3921.
14. Liposome-entrapped D. pteronyssinus vaccination in mild asthma patients: effect of 1-year double-blind, placebo-controlled trial on inflammation, bronchial hyper-responsiveness and immediate and late bronchial responses to the allergen / M. J. Alvarez, S. Echechipi´a, B. Garci´a [et al.] // Clin. Experim. Allergy. – 2002. –V. 32, № 11. – P. 1574–1582.
15. Development of stealth liposome formulation of 2'-deoxyinosine as 5-fluorouracil modulator: *in vitro* and *in vivo* study / R. Fanciullino, S. Giacometti, C. Aubert [et al.] // Pharm. Res. – 2005. – V. 22, № 12. – P. 2051–2057.
16. Application of boron-entrapped stealth liposomes to inhibition of growth of tumour cells in the *in vivo* boron neutron-capture therapy model / H. Yanagie, K. Maruyama, T. Takizawa [et al.] // Biomed. Pharmacother. – 2006. – V. 60, № 1. – P. 43–50.
17. *Kaneda Y.* Improvements in gene therapy technologies / Y. Kaneda // Mol. Urol. – 2001. – V. 5, № 2. – P. 85–89.
18. *Yang V. C.* Biosensors and Their Applications / V. C. Yang, T. T. Ngo. – Sringer, 2000. – 368 p.
19. Thousands of Subcompartments: Enzyme-Loaded Liposomes within Polymer Capsules / B. Städler, R. Chandrawati, A. D. Price [et al.] // Angewandte Chemie International Edition. – 2009. – V. 48, № 24. – P. 4359–4362.
20. Dynamical and structural properties of lipid membranes in relation to liposomal drug delivery systems / K. J. Rgensen, P. H. Yrup, T. B. Pedersen, O. G. Mouritsen // Cellular & Molecular Biology Letters. – 2001. – V. 6. – P. 255–263.
21. Hemoglobin-Encapsulated Liposome, Neo Red Cell, in Rats / K. Nakai, A. Usuba, T. Ohta [et al.] // Artificial Organs. – 2002. – V. 22, Iss. 4. – P. 320–325.
22. Improved short-term survival with polyethylene glycol modified hemoglobin liposomes in critical normovolemic anemia / A. Pape, H. Kertscho, J. Meier [et al.] // Intensive Care Med. – 2008. – V. 34, № 8. – P. 1534–1543.
23. Development of Hemosomal Drug Delivery System / N. F. Idris, Y. R. Hundekar, R. N. Chilkawar [et al.] // Austin J. Anal. Pharm. Chem. – 2014. – V. 1, Iss. 3. – 5 p. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: www.austinpublishinggroup.com.
24. ATP-loaded liposomes and immunoliposomes protect ischemic myocardium in isolated rat hearts and in rabbits with experimental myocardial infarction / V. P. Torchilin, D. D. Verma, T. S. Levchenko [et al.] // Cell. Mol. Biol. Lett. –2005. – V. 10. – P. 53–54.
25. Role of Lipid Excipients in Modifying Oral and Parenteral Drug Delivery: Basic Principles and Biological Examples [Ed. K. M. Wasan]. – Wiley, 2006. –205 p.
26. The Effect of Liposome-Encapsulated PGE1 on Systemic Oxygen Delivery and Consumption in Patients With the Acute Respiratory Distress Syndrome / S. O. Heard, K. Longtine, N. Smyrnios, J.C. Puyana // J. Intensive Care Med. – 2002. – V. 17 (3). – P. 127–131.
27. *Groeneveld A. B. J.* Vascular pharmacology of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome / A. B. J. Groeneveld // Vascular Pharmacology. – 2003. – V. 39. – P. 247–256.
28. Effectiveness of liposomal-N-acetylcysteine against LPS-induced lung injuries in rodents / P. Mitsopoulos, A. Omri, M. Alipour [et al.] // International Journal of Pharmaceutics. – 2008. – V. 363, Iss. 1–2. – P. 106–111.
29. Ability of Antioxidant Liposomes to Prevent Acute and Progressive Pulmonary Injury / L. M. Hoesel, M. A. Flierl, A. D. Niederbichler [et al.] // Antioxidants & Redox Signaling. – 2008. – V. 10 (5). – P. 973–981.
30. *Андриянова И. Г.* Результаты клинического применения препарата ЦИТОХРОМ С / И. Г. Андриянова, Н. Д. Сидорова, Е. А. Селиванов // Поликлиника. – 2011. – № 1. – С. 39–41.
31. Патент РФ № 2110990 (А61К9/127) Липосомальная везикула с цитохромом С / А. И. Шанская; Б. И. Криворучко; Е. В. Булушева [и др.]. – 20.05.1998.
32. Вплив ліпосомальної форми кверцетину на зміни гемодинаміки, кардіодинаміки та коронарного кровообігу при ішемії та реперфузії міокарда / О. О. Мойбенко, О. В. Стефанов, О. С. Хромов [та ін.] // Ліки. – 1995. – № 4. – С.95–103.
33. Arrhythmogenic Peroxynitrite-Induced Alterations in Mammalian Heart Contractility and Its Prevention with Quercetine-Filled Liposomes / A. Soloviev, A. Stefanov, A. Khromov [et al.] // Cardiovascular Toxicology – 2002. – V. 2, № 2. – P. 129–140.
34. *Іванова Н. В.* Патогенетичне обгрунтування застосування ліпофлавону у хворих з різними формами діабетичної ретинопатії / Н. В. Іванова, Н. А. Ярошева // Клінічна фармація. – 2008. – Т. 12 (2). – С. 11–16.

35. Pulmonary Aspergillosis in Corticosteroid-Immunosuppressed Mice / R. E. Lewis, G. Chamilos, R. A. Prince, D. P. Kontoyiannis // Antimicrob. Agents Chemother. – 2007. – V. 51, № 3. – P. 1078–1081.
36. Pretreatment with Empty Liposomes Attenuates the Immunopathology of Invasive Pulmonary Aspergillosis in Corticosteroid-Immunosuppressed Mice / R. E. Nakai, G. Chamilos, R. A. Prince, D. P. Kontoyiannis // Antimicrob. Agents Chemother. – 2007. – V. 51, № 3. – P. 1078–1081.
37. *Howell B.* Amitriptyline Overdose Treatment by Pegylated Anionic Liposomes / B. Howell, A. Chauhan // J. Colloid and Interface Sci. – 2008. – V. 324. – P. 61–70.
38. *Howell B. A* physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model for predicting the efficacy of drug overdose treatment with liposomes in man / B. Howell, A. Chauhan // J. Pharm Sci. – 2010. – V. 99, № 8. – P. 3601–3619.
39. Биологический эффект липосом при гипоксических состояниях различной этиологии / А. В. Стефанов, В. П. Пожаров, Т. Д. Миняйленко [и др.] // Вестник АМН СССР. – 1990. – № 6. – С. 47–51.
40. Некоторые физиологические механизмы антигипоксического действия липосом / В. П. Пожаров, Т. Д. Миняйленко, А. В. Стефанов [и др.] // Физиол. журнал СССР им. И. М. Сеченова. – 1990. – Т. 76, № 7. – С. 897 –902.
41. Functional Reconstitution into Liposomes of Purified Human RhCG Ammonia Channel [электронный ресурс] / I. Mouro-Chanteloup, S. Cochet, M. Chami [et al.] // PLoS ONE. – 2010. – V. 5, Iss. 1. – P. e8921. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0008921.
42. *Хромов О. С.* Протигіпоксична та антиоксидантна дія різних фосфоліпідів у ліпосомальній формі / О. С. Хромов, О. В. Стефанов, І. В. Данова // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2010 – № 4 (17). – С. 70–78.
43. Engineered liposomes sequester bacterial exotoxins and protect from severe invasive infections in mice / B. D. Henry, D. R. Neill, K. A. Becker [et al.] // Nat. Biotechnol. – 2014. – Nov 2. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.nature.com/nbt/journal/vaop/ncurrent/full/nbt.3037.html.
44. *Стефанов А. В.* Влияние липосом на электрическую и сократительную активность сосудистых гладких мышц / А. В. Стефанов, А. И. Соловьев // Докл. АН СССР. – 1983. – Т. 273, № 1. – С. 227–230.
45. Changes in plasma membrane ionic permeability and related contractile responses in vascular smooth muscle at hypoxia / A. Soloviev, A. Stefanov, O. Bazilyuk [et al.] // Pathophysiology – 1996. – V. 3. – P. 11–20.
46. Phospholipid vesicles (liposomes) restore endothelium-dependent cholinergic relaxation in thoracic aorta from spontaneously hypertensive rats / A. I. Soloviev, A. V. Stefanov., O. V. Bazilyuk, V. F. Sagach // J. Hypertension. – 1993. – V. 11, № 6. – P. 623–627.
47. Mechanisms of Endothelial Dysfunction after Whole-Body Ionized Irradiation Relationship Between Changes in Smooth Muscle Sensitivity to Nitric Oxide and its Release by Endothelial Cells / A. Soloviev, S. Tishkin, A. Parshikov [et al.] // Nitric Oxide. – 2000. – V. 4. – P. 236.
48. The EDHF-dependent but not the NO-dependent component of the acetylcholine-induced relaxation of the rabbit aorta resistant to ionized radiation / A. I. Soloviev, S. M. Tishkin, A. V. Parshikov [et al.] // EDHF - 2000.– London and New York : Taylor & Francis, 2001. – P. 400–410.
49. Saline containing phosphatidylcholine liposomes possess the ability to restore endothelial function damaged resulting from γ-irradiation / A. I. Soloviev, A. V. Stefanov, S. M. Thishkin [et al.] // J. Physiol. Pharmacol. – 2002. – V. 53, № 4. – P. 701–712.
50. Phospholipid vesicle (liposomes) posses the ability to support vascular smooth muscle contractive activity under hypoxia / A. I. Soloviev, O.V. Baziluk, A. V. Stefanov, V. K. Lishko // Biol. Membr. – 1993. – V. 6, № 5. – P. 667–675.
51. Предупреждение постишемических повреждений миокарда с помощью липосом / А. В. Стефанов, А. С. Хромов, А. В. Жукова [и др.] // Бюлл. эксперим. биол. и медицины. – 1992. – Т. 113, № 6. – С. 590–593.
52. *Швец В. И.* Исследования в области создания эффективных лекарственных препаратов нового поколения включением классических субстанций в наноконтейнеры / В. И. Швец, А. И. Лютик // Вестник МИТХТ. – 2014. – Т. 9, № 3. – С. 11–20.
53. *Хромов О. С.* Коррекція за допомогою ліпосом (ліпіну) порушень центральної гемодинаміки у щурів під час геморагічного шоку / О. С. Хромов, О. В. Стефанов, В. П. Пожаров // Ліки. – 1995. – № 4. – С. 54–60.
54. Патент РФ № 2191583 (A61K31/66, A61K9/127, A61P3/00) Способ коррекции геморрагического шока / Г. Ф. Лескова, Г. Н. Крыжановский, Ю. В. Архипенко [и др.]. – 27.10.2002.
55. *Gregoriadis G.* The physiology of the liposome / G. Gregoriadis // NIPS. –1989. – V. 4. – P. 146–152.
56. *Лескова Г. Ф.* Коррекция фосфолипидного состава митохондрий продолговатого мозга с помощью фосфатидилхолиновых липосом при геморрагическом шоке у кошек / Г. Ф. Лескова, В. И. Удовиченко // БЭБиМ. – 1997. – Т. 123,№ 4. – С. 374–377.
57. *Шестаков В. І.* Вплив ліпіну на макро- та мікроелементний склад сурфактантів легенів у щурів за умов інгаляційної дії діоксиду сірки / В. І. Шестаков // Ліки. – 1995. – № 5. – С. 50–53.

58. *Маизев К. А*. Двойное слепое исследование эффективности фосфатидилхолиновых липосом в лечении бронхообструктивного синдрома / К. А. Маизев, Е. А. Сиротин, Е. А. Лимаренко // Пульмонология. – 1993. – № 3. – С. 51–55.
59. *Юхимець В. О.* Нові можливості використання препарату Ліпіну в пульмонології / В. О. Юхимець // Укр. пульм. журнал. – 1994. – № 3. – С. 40–43.
60. Скорочувальна функція судин при артеріальній гіпертензії різного генезу та її корекція за допомогою фосфатидилхолінових ліпосом / А. І. Соловйов, С. М. Тишкін, О. С. Хромов, О. В. Стефанов // Фізіол. журнал. – 2002. – Т. 48, № 6. – С. 10–16.
61. *Добреля Н. В*. Особливості антигіпертензивної дії фосфатидилхолінових ліпосом при артеріальній гіпертензії різного ґенезу (експериментальне дослідження) / Н. В. Добреля, О. С. Хромов, А. І. Соловйов // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – № 4. – С. 16–21.
62. Применение взвеси липосом при экспериментальном локальном гнойном процессе / Т. И. Шраер, В. М. Крейнес, Н. А. Голубчикова [и др.] // Хирургия. – 1988. – № 4. – С. 30–34.
63. Нарушения функций сердечно-сосудистой системы при молниеносном сепсисе / К. В. Крикуновский, В. М. Крейнес, И. М. Вамбург [и др.]. // Патол. физиол. и экспер. терапия. – 1989. – № 1. – С. 52–54.
64. Сдвиги параметров кардио- и гемодинамики в процессе развития септического шока и их коррекция с помощью липосом / А. С. Хромов, В. Ф. Сагач, А. В. Дмитриева [и др.] // Анестезиология и реаниматология. – 1989. – № 6. – С. 35–37
65. *Стефанов А. В.* Использование липосом в качестве неспецифического детоксикатора при синдроме длительного раздавливания / А. В. Стефанов, В. М. Крейнес, В. К. Лишко // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1984. – Т. 97. – № 5. – С. 569–571.
66. *Хромов О. С.* Вивчення механізмів лімфостимулюючої дії ліпосом / О. С. Хромов // Фізіологічний журнал. – 1998. – Т. 44, № 5–6. – С. 49–58.
67. *Хромов О. С.* Усунення важких порушень кровообігу за допомогою ліпіну у тварин з моделлю септичного шоку / О. С. Хромов, І. В. Іванова, О. В. Стефанов // Ліки. – 2004. – № 3–4. – С. 63–68.
68. *Хромов О. С.* Корекція ендотоксемії при критичних станах в експерименті за допомогою ліпосом / О. С. Хромов, А. В. Жукова, О. В. Стефанов // Ліки. – 2005. – № 1–2. – С. 22–26.
69. *Стрєлков Є. В.* Механізм розвитку гіпоксичної легеневої гіпертензії та її фармакологічна корекція / Є. В. Стрєлков, О. С. Хромов // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2009. – № 4 (11). – С. 20–25.

А. С. Хромов

Липосомальные препараты – реализация нанотехнологий в медицине

Статья посвящена обсуждению возможностей использования липосом и липосомальных препаратов как примера реализации нанотехнологий в медицине. В статье указываются перспективы и задачи применения нанотехнологий в медицине. Часть работы посвящена описанию свойств самих липосом. Совокупность представленных материалов указывает на способность липосом влиять на основные механизмы развития многих патологических процессов, повышая оксигенацию тканей, подавляя избыточное перекисное окисление липидов, уменьшая накопление в крови токсичных продуктов метаболизма, тем самым, восстанавливая функциональную полноценность плазматических мембран, в том числе и эндотелия. Результатом такого комплексного действия является устранение гипоксии тканей, ограничение процессов перекисного окисления липидов, эндотелио-, вазо- и кардиопротекция, что приводит к нормализации параметров системного кровообращения. При этом фосфатидилхолиновые липосомы не нарушают функциональную активность органов и систем здорового организма и не вызывают побочных реакций. Основное внимание в статье уделяется работам отечественных исследователей.

Делается вывод о целесообразности дальнейшего изучения липосом и создания на их основе новых лекарственных средств, способных воздействовать на клеточные мембраны в тканях, вовлеченных в патологический процесс.

Ключевые слова: липосомы, гипоксия, сердечно-сосудистая система, наномедицина

О. С. Хромов

Ліпосомальні препарати – реалізація нанотехнологій у медицині

Стаття присвячена обговоренню можливостей використання ліпосом та ліпосомальних препаратів як приклада реалізації нанотехнологій у медицині. У статті вказуються перспективи та завдання застосування нанотехнологій у медицині. Частина роботи присвячена опису властивостей самих ліпосом. Сукупність представлених матеріалів вказує на здатність ліпосом впливати на основні механізми розвитку багатьох патологічних процесів шляхом підвищення оксигенації тканин, пригнічення надлишкового перекисного окиснення ліпідів, зменшення накопичення в крові токсичних продуктів метаболізму, завдяки чому відбувається відновлення функціональної повноцінності плазматичних мембран, у тому числі ендотелію. Результатом такої комплексної дії є усунення гіпоксії тканин, обмеження процесів перекисного окиснення ліпідів, ендотеліо-, вазо- і кардіопротекція, що

призводить до нормалізації параметрів системного кровообігу. При цьому фосфатидилхолінові ліпосоми не порушують функціональної активності органів і систем здорового організму та не викликають побічних реакцій. Основна увага в статті приділяється роботам вітчизняних дослідників.

Зроблено висновок щодо доцільності подальшого вивчення ліпосом і створення на їхній основі нових лікарських засобів, здатних впливати на клітинні мембрани у тканинах, залучених у патологічний процес.

Ключові слова: ліпосоми, гіпоксія, серцево-судина система, наномедицина

A. S. Khromov

Liposomal drugs – implementation of nanotechnology in medicine

The article is devoted to discussing the possibilities of using liposomes and liposomal drugs as an example of nanotechnology implementation in medicine. The prospects and goals of nanotechnology using in medicine are stated in this article. A part of the work describes the liposome properties. All represented materials indicate an ability of liposomes to affect the basic mechanisms of many pathological processes by increasing the tissue oxygenation, inhibiting the redundant lipid peroxidation, reducing an accumulation of toxic metabolic products in blood, thereby restoring a functional adequacy of the plasma membranes, including the endothelium. As a result of this complex action, there is elimination of tissue hypoxia, limitation of lipid peroxidation, assurance of endothelio-, vaso- and cardioprotection with following normalization of the system circulatory parameters. In addition to that, phosphatidylcholine liposomes do not disturb a functional activity of healthy organs and systems and do not cause any adverse reactions. The main attention in the article is paid to the studies of domestic researchers.

It concludes an expediency of further studying liposomes and creating on their basis of new drugs able to influence the cellular membranes in tissues involved in a pathologic process.

Key words: liposomes, hypoxia, cardiovascular system, nanomedicine

Надійшла: 20 січня 2016 р.

Контактна особа: Хромов Олександр Станіславович, провідний науковий співробітник, відділ експериментальної терапії, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Ежена Потьє, м. Київ, 03680. Тел.: + 38 0 44 456 02 88.

УДК 616.89-48-02-091.8

И. Ф. Беленичев, Т. В. Кучер

Влияние тиольных антиоксидантов на состояние нитрозирующего стресса в головном мозге крыс, подверженных хронической алкогольной интоксикации

Запорожский государственный медицинский университет

Ключевые слова: хроническая алкогольная интоксикация, нитрозирующий стресс, N-ацетилцистеин, гептрал, тиоцетам

В соответствии с критериями ВОЗ, алкоголизм – хроническое психическое заболевание, в результате которого снижается энергетический потенциал нейронов, нарушается активный транспорт ионов через мембраны, происходят дистрофические изменения нейронов и др. [1], что приводит к развитию алкогольной энцефалопатии и когнитивного дефицита [2]. Алкоголь также может запускать механизмы апоптоза путем блокирования протективных факторов роста нервных клеток и инсулиноподобного фактора роста IGF, нарушает экспрессию гена bcl-2, который ингибирует апоптоз [3, 4]. К наиболее изученным факторам запуска апоптоза в нейроне относится оксид азота [4]. Хроническая алкогольная интоксикация приводит к активации nNOS, гиперпродукции NO [5], что вызывает повреждение макромолекул, ухудшает чувствительность и специфичность рецепторов, генерацию, образование и проводимость нервного импульса, синаптическую передачу и необратимо повреждает клетку [5, 6].

Исходя из этого, становится более очевидной роль тиоловых соединений и тиолдисульфидной системы в целом в механизме антиоксидантной защиты головного мозга [7]. Описаны свойства «ловушки» пероксинитрита и NO у тиольного антиоксиданта N-ацетилцистеина [8].

В качестве перспективного антиоксиданта можно рассматривать адеметионин (гептрал), являющийся предшественником цистеина, таурина, а также глутатиона [9]. Гептрал за счет увеличения активности глутатион-S-трансферазы повышает эффективность глутатиона, что обеспечивает конъюгацию продуктов свободнорадикальных реакций с глутатионом и их инактивацию [10]. В качестве средства фармакоррекции нитрозирующего стресса представляет интерес тиоцетам [3]. Однако до настоящего времени не обосновано использование тиольных антиоксидантов и, в частности, ацетилцистеина, гептрала и тиоцетама, в комплексной терапии хронической алкогольной интоксикации как средств нормализующих нитроксидергическую систему головного мозга и оказывающих нейропротективное действие.

Цель исследования – изучение влияния ацетилцистеина, гептрала и тиоцетама на показатели нитрозирующего стресса в головном мозге крыс, подверженных хронической алкогольной интоксикации.

Материалы и методы. В исследовании использовали 60 белых беспородных крыс самцов с массой тела 180–220 г и возрастом 4,5 месяца, полученных из ЧП «Биомодельсервис». Все экспериментальные процедуры осуществляли в соответствии с «Положением об использовании животных в биомедицинских исследованиях». Хроническую алкогольную интоксикацию (ХАИ) вызывали ежедневным внутрижелудочным введением первые 10 дней 15 % раствора этанола в дозе 4 г/кг, следующие 10 дней – 15 % раствора этанола в дозе 6 г/кг, и последующие 10 дней крысам вводили 25 % раствор этанола в дозе 4 г/кг. С 30 суток прекращали алкоголизацию и проводили экспериментальную терапию изучае-

© Колектив авторів, 2016

мыми препаратами, продолжали наблюдение в течение 14 дней [3, 4].

Все животные были разделены на 6 групп по 10 особей в каждой. Исследуемые препараты вводили внутрижелудочно с помощью металлического зонда – Гептрал® (Abbott S.r.L., Италия) в дозе 100 мг/кг; N-ацетилцистеин (АЦЦ®Hexal AG, Германия) – 100 мг/кг; Пирацетам (Артериум) – 250 мг/кг; Тиоцетам (Артериум) – 250 мг/кг [3]. Контрольная и интактная группы получали физиологический раствор. По окончании эксперимента животных выводили из эксперимента через 2–4 мин после инъекции тиопентала натрия (40 мг/кг) (до потери рефлекса выпрямления) с целью минимализации нейрометаболических сдвигов. Из головного мозга быстро удаляли кровь, отделяли от мозговой оболочки и исследуемые кусочки измельчали в жидком азоте до порошкообразного состояния и гомогенизировали в 10-кратном объеме среды при 2 °С, содержащей (в ммолях/л): сахарозы – 250, трис-HCl-буфера – 20, ЭДТА-1 (pH 7,4) [3]. При температуре +4 °С методом дифференциального центрифугирования на рефрижераторной центрифуге Sigma 3-30k (Германия) выделяли митохондриальную и цитозольную фракции (20 мин при 17 000 g). Для оценки состояния нитроксидергической системы биохимически определяли активность NOS и уровень нитритов [3]. Экспрессию индуцибельной NOS определяли методом вестернблотинга. Белки разделяли на 10 % полиакриламидном геле методом электрофореза. Использовали первичные антитела против iNOS (Santa Cruz Biotechnology) и вторичные (биотинилированный анти-мышиный IgG, SIGMA, USA, кат. № 051M4885). Маркер нитрозирующего стресса – нитротирозин определяли с помощью ELISE-набора NITROTYROSINE (набор № HK501-02, серия 12825k1212-k).

Результаты исследования обработаны с применением статистического пакета лицензионной программы «STATISTICA for Windows 6.1» (StatSoft Inc., № AXX R712D833214SAN5), а также «SPSS 16.0», «Microsoft Excel 2003». Достоверность отличий между экспериментальными группами проводили по критерию Уитни-Манна.

Результаты и их обсуждение. В результате проведенных исследований было установлено, что ХАИ приводит к нарушению нитроксидергической системы и инициированию нитрозирующего стресса в мозге экспериментальных животных, о чем свидетельствовало достоверное повышение в цитозольной и митохондриальной фракциях гомогената головного мозга животных активности NOS на 355,8 % и 322,3 %, нитритов на 143,3 % и 131,3 %, а также нитротирозина на 391,1 % и 359,7 % соответственно (табл. 1 и 2). Также было впервые установлено увеличение концентрации iNOS в цитозоле в 7,2 раза и на 187,5 % в митохондриях головного мозга животных, перенесших хроническую интоксикацию этанолом. Как известно, нитрозирующий стресс приводит к гиперпродукции цитотоксических дериватов NO – иона нитрозония, пероксинитрита, которые атакуют белковые молекулы, образуя 6-нитротриптофан, 3-нитротирозин, 3-хлортирозин, 2-оксогистидин, а также различные карбонильные производные [3]. N-, S-нитрозирование белковых фрагментов мембран нейронов ухудшает чувствительность и специфичность рецепторов, генерацию, образование и передачу нервного импульса, нарушает синаптическую передачу [3, 6]. Кроме того, цитотоксические дериваты NO нарушают проницаемость митохондриальной поры и участвуют в формировании митохондриальной дисфункции [3, 4].

Курсовое применение гептрала животным с ХАИ приводило к достоверному снижению в цитозоле и митохондриях головного мозга активности NOS на 45,9 % и 17,6 %, нитритов на 54,7 % и 34,2 %, нитротирозина на 28,7 % и 22,9 % соответственно по сравнению с контролем (табл. 1, 2). Гептрал приводил к снижению экспрессии iNOS в цитозоле и митохондриях головного мозга на 18,7 % и 21,7 % соотвественно. Выявленный эффект гептрала может быть обусловлен тем, что, во-первых, S-аденозилметионин, способствуя синтезу глутатиона, создает условия для коньюгации продуктов свободнорадикальных реакций, в частности АФК, с глутатионом и их инактивацию [10].

Таблица 1

Показатели нитроксидергической системы и нитрозирующего стресса в цитозольной фракции гомогената головного мозга крыс с хронической алкогольной интоксикацией

Группа животных	Активность NOS нмоль/мг белка · мин	Содержание нитритов, мкмоль/г белка	Содержание нитротирозина, нмоль/мг белка	iNOS, у. е./г белка
Интактные	2,65 ± 0,08	5,36 ± 0,46	21,40 ± 1,74	0,15 ± 0,01
Хроническая алкогольная интоксикация (контроль)	12,08 ± 1,54**	13,04 ± 1,21**	105,10 ± 3,67**	1,23 ± 0,08**
Хроническая алкогольная интоксикация + АЦЦ	4,45 ± 0,40*,**	5,68 ± 0,47*	64,20 ± 4,08*,**	0,61 ± 0,04*
Хроническая алкогольная интоксикация + гептрал	6,54 ± 0,48*,**	6,91 ± 0,41*	74,90 ± 8,71*,**	1,00 ± 0,09*,**
Хроническая алкогольная интоксикация + тиоцетам	3,55 ± 0,30*	5,71 ± 0,41*	37,20 ± 3,11*	0,43 ± 0,03*
Хроническая алкогольная интоксикация + пирацетам	10,60 ± 0,30**	11,06 ± 1,29**	98,50 ± 8,33**	1,19 ± 0,10**

*Примечание. Здесь и в табл. 2: *p ≤ 0,05 по отношению к контролю, **p ≤ 0,05 по отношению к показателям интактных животных.*

Таблица 2

Показатели нитроксидергической системы и нитрозирующего стресса в митохондриальной фракции гомогената головного мозга крыс с хронической алкогольной интоксикацией

Группа животных	Активность NOS нмоль/мг белка · мин	Содержание нитритов, мкмоль/г белка	Содержание нитротирозина, нмоль/мг белка	iNOS, у.е./г белка
Интактые	1,21 ± 0,04	2,11 ± 0,17	7,20 ± 0,60	0,080 ± 0,007
Хроническая алкогольная интоксикация (контроль)	5,11 ± 0,35**	4,88 ± 0,40**	33,10 ± 1,71**	0,23 ± 0,02**
Хроническая алкогольная интоксикация + АЦЦ	3,11 ± 0,22*,**	2,87 ± 0,17*	17,20 ± 1,51*	0,12 ± 0,01*
Хроническая алкогольная интоксикация + гептрал	4,21 ± 0,41*,**	3,21 ± 0,30*	25,50 ± 1,72*,**	0,180 ± 0,011*,**
Хроническая алкогольная интоксикация + тиоцетам	2,35 ± 0,21*	2,61 ± 0,17*	12,08± 1,40*	0,0950 ± 0,0041*
Хроническая алкогольная интоксикация + пирацетам	5,21 ± 0,37**	4,21 ± 0,39**	31,50 ± 2,12**	0,10 ± 0,04**

Курсовое применение N-ацетилцистеина животным с ХАИ оказывало более выраженное, чем у гептрала действие на показатели системы NO и нитрозирующего стресса. Так, в в цитозоле и митохондриях головного мозга животных, получавших N-ацетилцистеин, снижалась активность NOS на 63,2 % и 39,1 %, содержание нитритов на 56,4 % и 41,2 % и нитротирозина на 38,9 % и 48,0 % соотвественно по сравнению с контролем (табл. 1, 2). Уменьшение активности NOS под действием N-ацетилцистеина происходило за счет снижения экспрессии ее индуцибельной формы – на 50,4 % и 47,8 % соответственно в цитозоле и митохондриях головного мозга. Оценивая полученные результаты, можно предположить, что снижение содержания нитротирозина и нитритов обусловлено способностью N-ацетилцистеина инактивировать АФК и цитотоксические формы NO, возможно, образуя нитрозотиолы [8], а также за счет снижения экспрессии iNOS. Снижение экспрессии iNOS под действием N-ацетилцистеина можно объяснить не только его способностью связывать АФК, участвующих в ее экспрессии [8], но и способностью образуемого из ацетилцистеина глутатиона прерывать IL-1b-зависимые механизмы экспрессии этого энзима [8]. N-ацетилцистеин легко, в отличие от других прекурсоров глутатиона, проникает в митохондрию, особенно на фоне ее дисфункции, и приводит к увеличению внутримитохондриального глутатиона [8]. Оказывая нормализующее действие на функционирование нитроксидергической системы митохондрий мозга при ХАИ за счет ограничения активности NOS, посредством снижения ее индуцибельной формы, ацетилцистеин, возможно, будет тормозить NO-зависимые механизмы нейроапоптоза.

Курсовое введение тиоцетама животным с ХАИ оказывало наиболее значимое воздействие на показатели системы NO и нитрозирующего стресса (табл. 1, 2). Так, в цитозоле и митохондриях головного мозга животных, получавших тиоцетам, снижалась активность NOS на 70,6 % и 54,0 %, содержание нитритов на 56,2 % и 46,5 %, нитротирозина на 64,6 % и 61,3 %, а также экспрессия iNOS на 65,0 % и 58,7 % соответственно по сравнению с контролем. Тиоцетам оказывал наиболее значимое влияние на показатели нитрозирующего стресса, причем по степени снижение нитротирозина и экспрессии iNOS в цитозоле и, особенно, в митохондриях головного мозга он превосходил действие не только референс-препарата пирацетама, но гептрала и N-ацетилцистеина. Подобное действие тиоцетама связано с наличием в его составе 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоацетата, что является специфическим скавенджером цитотоксических дериватов NO, а также тормозит гиперпродукцию АФК биоэнергетическими системами митохондрий [3].

Кроме того, 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоацетат снижает экспрессию iNOS, возможно через прерывание АФК-зависимых механизмов экспрессии IL-1b и TNF-a [3]. Курсовое применение пирацетама животным с ХАИ не оказывало достоверного влияния на показатели системы оксида азота и нитрозирующего стресса.

Выводы

1. Экспериментальное моделирование хронической алкогольной интоксикации приводило к инициированию нитрозирующего стресса в мозге экспериментальных животных, о чем свидетельствовало увеличение активности NOS, содержания стабильных метаболитов NO и нитротирозина.
2. Курсовое введение тиольных антиоксидантов тиоцетама, N-ацетилцистеина и гептрала приводило к нормализации нитроксидергической системы и торможению нитрозирующего стресса, что выражалось в снижении активности NOS, экспрессии iNOS, снижении гиперпродукции NO и нитротирозина в цитозоле и митохондриях головного мозга. Наибольшую активность в условиях ХАИ проявляет тиоцетам.
3. Экспериментальные данные являются обоснованием для применения тиольных антиоксидантов тиоцетама, N-ацетилцистеина и гептрала в качестве нейропротекторов в комплексной терапии хронической алкогольной интоксикации.

1. *Zahr N. M.* Clinical and pathological features of alcohol-related brain damage/ Zahr N. M., Kaufman K. L., Harper C. G // Nat Rev Neurol. – 2011. – V. 7. – P. 284–294.
2. *Brust J. C.* Ethanol and cognition: indirect effects, neurotoxicity and neuroprotection: a review / Brust J. C. // Int. J. Environ Res. Public Health. – 2010. – V. 7. – P. 1540–1557.
3. Нейропротекция и нейропластичность / И. Ф. Беленичев, В. И. Черний, Е. А. Нагорна [и др.]. – Киев : Логос, 2015. – 512 с.
4. *Соколик О. П.* Нейропротективна дія цереброкурину, кортексину та церебролізину в умовах експериментальної алкогольної інтоксикації: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук; *спеціальність «фармакологія» 14.03.05.* – Київ, 2013. – 23с.
5. *Kharchenko O.* Long-term alcohol consumption provokes oxidative and nitrosative stress in albino rats brain / Kharchenko O. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2015. – № 3. – С. 49–54.
6. *Alexander A.* Mongin. Selective Vulnerability of Synaptic Signaling and Metabolism to Nitrosative Stress / Alexander A. Mongin, Preeti Dohare, David Jourd'heuil // Antioxid Redox Signal. – 2012. – V. 17 (7). – P. 992–1012.
7. Тиол-дисульфидное равновесие - определяющий фактор резистентности нейронов к нитрозирующему стрессу в условиях ишемии мозга (обзор литературы) / Колесник Ю. М. [и др.] // Журн. НАМН України. – 2013. –Т. 19, № 1. – С. 3–11.
8. *Fengjiao Zhang* The Cytoprotective Effect of N-acetyl-L-cysteine against ROS - Induced Cytotoxicity Is Independent of Its Ability to Enhance Glutathione Synthesis / Fengjiao Zhang, Serrine S. Lau, Terrence J. Monks // Toxicol. Sci. – 2011. – V. 120 (1). – P. 87–97.
9. *Aquilano K.* Glutathione: new roles in redox signaling for an old antioxidant / K. Aquilano, S. Baldelli, Maria R. Ciriolo // Front Pharmacol. – 2014. – V. 5. – 196 p.
10. The cyclic pattern of blood alcohol levels during continuous ethanol feeding in rats: the effect of feeding S-adenosylmethionine / F. Bardag-Gorce, J. Li, J. Oliva [et al.] // Experimental and Molecular Pathology. – 2010. – V. 88 (3). – P. 380–387.

І. Ф. Бєленічев, Т. В. Кучер

Вплив тіольних антиоксидантів на стан нітрозуючого стресу в головному мозку щурів, яких піддавали хронічній алкогольній інтоксикації

У статті висвітлено проблему пошуку нових методів корекції нітрозуючого стресу, який виникає при хронічній алкогольній інтоксикації, шляхом застосування тіольних скаведжерів NO. Дана концепція базується на тому, що однією з ланок пошкодження нейронів при хронічному вживанні етанолу є порушення нітроксидергічної системи та ініціація нітрозуючого стресу. Як препарати кандидати були обрані тіольні антиоксиданти – адеметіонін (гептрал), N-ацетилцистеїн і тіоцетам.

Мета дослідження – вивчення впливу ацетилцистеїну, гептралу і тіоцетаму на показники нітрозуючого стресу в головном мозку щурів, яких піддавали хронічній алкогольній інтоксикації. Досліди проводили на білих безпородних щурах-самцях з масою тіла 180–220 г. Хронічну алкогольну інтоксикацію (ХАІ) викликали щоденним внутрішньошлунковим введенням перші 10 днів 15 % розчину етанолу в дозі 4 г/кг, наступні 10 днів – 15 % розчину етанолу в дозі 6 г/кг, і наступні 10 днів щурам вводили 25 % розчин етанолу в дозі 4 г/кг. З 30 доби припиняли алкоголізацію та проводили експериментальну терапію, продовжували спостереження протягом 14 діб.

Досліджувані препарати вводили внутрішньошлунково за допомогою металевого зонда: гептрал –100 мг/кг, N-ацетилцистеїн – 100 мг/кг, пірацетам – 250 мг/кг, тіоцетам – 250 мг/кг. Контрольна і інтактна групи отримували фізіологічний розчин.

У результаті проведеного дослідження було встановлено, що експериментальне моделювання хронічної алкогольної інтоксикації призводило до ініціювання нітрозуючого стресу в мозку експериментальних тварин, про що свідчило підвищення активності NOS, умісту стабільних метаболітів NO і нітротирозину. Курсове введення тіоцетаму, N-ацетилцистеїну і гептралу після хронічної алкоголізації сприяло нормалізації показників системи і гальмуванню нітрозуючого стресу, що виражалося в зниженні активності NOS, експресії iNOS, зниженні гіперпродукції NO і нітротирозину в цитозолі і мітохондріях головного мозку. Найбільша активність притаманна тіоцетаму, який знижує активність NOS на 70,6 і 54,0 %, нітритів на 56,2 і 46,5 %, нітротирозину на 64,6 і на 61,3 %, а також експресії iNOS на 65,0 і 58,7 % у цитозолі й мітохондріях головного мозку експериментальних тварин відповідно. Тіоцетам за ступенем зниження вмісту нітротирозину та експресії iNOS у цитозолі і, особливо, у мітохондріях головного мозку переважає дію не тільки референс-препарату пірацетаму, але й гептралу та N-ацетилцистеїну. Експериментальні дані є обґрунтуванням для застосування тіольних антиоксидантів тіоцетаму, N-ацетилцистеїну і гептралу як нейропротекторів у комплексній терапії при хронічній алкогольній інтоксикації.

Ключові слова: хронічна алкогольна інтоксикація, нітрозуючий стрес, N-ацетилцистеїн, гептрал, тіоцетам

И. Ф. Беленичев, Т. В. Кучер

Влияние тиольных антиоксидантов на состояние нитрозирующего стресса в головном мозге крыс, подверженных хронической алкогольной интоксикации

В статье освещена проблема поиска новых методов коррекции нитрозирующего стресса, возникающего при хронической алкогольной интоксикации, путем применения тиольных скаведжеров NO. Данная концепция базируется на том, что одним из звеньев повреждения нейронов при хроническом потреблении этанола является нарушение нитроксидергической системы и инициация нитрозирую-

щего стресса. В качестве препаратов кандидатов были выбраны тиосодержащие антиоксиданты – адеметионин (гептрал), N-ацетилцистеин и тиоцетам. *Цель исследования* – изучение влияния ацетилцистеина, гептрала и тиоцетама на показатели нитрозирующего стресса в головном мозге крыс, подверженных хронической алкогольной интоксикации. Опыты проводили на белых беспородных крысах-самцах с массой тела 180–220 г. Хроническую алкогольную интоксикацию (ХАИ) вызывали ежедневным внутрижелудочным введением первые 10 дней 15 % раствора этанола в дозе 4 г/кг, следующие 10 дней – 15 % раствора этанола в дозе 6 г/кг, и последующие 10 дней животным вводили 25 % раствор этанола в дозе 4 г/кг. С 30 суток прекращали алкоголизацию и проводили экспериментальную терапию изучаемыми препаратами, продолжали наблюдение в течение 14 дней.

Исследуемые препараты вводили внутрижелудочно с помощью металлического зонда: гептрал – 100 мг/кг, N-ацетилцистеин – 100 мг/кг, пирацетам – 250 мг/кг, тиоцетам – 250 мг/кг. Контрольная и интактная группы получали физиологический раствор.

В результате проведенного исследования было установлено, что экпериментальное моделирование хронической алкогольной интоксикации приводило к инициированию нитрозирующего стресса в мозге экспериментальных животных, о чем свидетельствовало повышение активности NOS, содержания стабильных метаболитов NO и нитротирозина. Курсовое введение тиоцетама, N-ацетилцистеина и гептрала после хронической алкоголизации способствовало нормализации показателей нитроксидергической системы и торможению нитрозирующего стресса, что выражалось в снижении активности NOS, экпрессии iNOS, снижении гиперпродукции NO и нитротирозина в цитозоле и митохондриях головного мозга. Наибольшую активность проявляет тиоцетам, который снижает активность NOS на 70,6 и на 54,0 %, нитритов на 56,2 и на 46,5 %, нитротирозина на 64,6 и на 61,3 %, а также экспрессию iNOS на 65,0 и на 58,7 % в цитозоле и митохондриях головного мозга экспериментальных животных соответственно. Тиоцетам по степени снижения нитротирозина и экспрессии iNOS в цитозоле и, особенно, в митохондриях головного мозга превосходит действие не только референс-препарата пирацетама, но и гептрала и N-ацетилцистеина. Экспериментальные данные являются обоснованием для применения тиольных антиоксидантов тиоцетама, N-ацетилцистеина и гептрала в качестве нейропротекторов в комплексной терапии при хронической алкогольной интоксикации.

Ключевые слова: хроническая алкогольная интоксикация, нитрозирующий стресс, N-ацетилцистеин, гептрал, тиоцетам

I. F. Belenichev, T. V. Kucher

The influence of thiol antioxidants on the state of nitrosating stress in brain of rats with chronic ethanol intoxication

The article focuses on the problem of search of new methods of nitrosating stress correction which occurs during chronic ethanol intoxication with thiol scavengers of NO. The conception is based on the fact that the main mechanisms of neuron injury in chronic alcohol intoxication are the disturbance of nitric oxide synthesis and initiation of nitrosating stress. Thiol antioxidants – heptral, N-acetylcysteine, and thiocetam were studied. *The aim of research* was to study the influence of heptral, N-acetylcysteine and thiocetam on the indices of nitrosating stress in the brain of rats exposed to chronic ethanol intoxication. The research was provided on outbred male rats with body mass 180–220 g. Chronic alcohol intoxication was caused by daily administration of ethanol into the stomach. For the first 10 days 15 % ethanol was given in the dose 4 g/kg, next 10 days 15 % ethanol was given in the dose 6 g/kg, the last 10 days 25 % ethanol was given in the dose 4 g/kg. After that alcoholisation was ended and experimental therapy with the named drugs started. The observation of animals was held for the next 14 days.

The drugs were administered into the stomach with the help of metallic tube in the following doses: heptral – 100 mg/kg, N-acetylcysteine – 100 mg/kg, pyracetam – 250 mg/kg, thiocetam – 250 mg/kg. The control and intact groups of animal were given saline solution.

The results of study demonstrate that experimental modeling of chronic alcohol intoxication led to activation of nitrosating stress in the experimental rats brain. The increase of NOS activity, content of stable NO metabolites and nitrotyrosine evidenced about it.

The course administration of thiocetam, N-acetylcysteine and heptral after chronic alcoholisation resulted in different degrees of nitroxidergic system stabilization and braking of nitrosative stress. It was manifested as decrease of NOS activity, decrease of iNOS expression and NO production in the cytosol and mitochondria of the brain. Thiocetam showed the most expressed activity – decrease of NOS activity by 70,6 % and by 54,0 %, nitrotyrosine by 64,6 % and by 61,3 %, and iNOS expression by 65,0 % and by 58,7 % respectively in the cytosol and mitochondria of the experimental animals brain. Thiocetam exceeded the influence of reference-drug pyracetam and also heptral and N-acetylcysteine in the degree of nitrotyrosine and iNOS expression decrease. Experimental data form the basis for the use of thiol antioxidants thiocetam, N-acetylcysteine and heptral as the neuroprotectors in the complex therapy of chronic alcohol intoxication.

Key words: chronic ethanol intoxication, nitrosating stress, N-acetylcysteine, heptral, thiocetam

Надійшла: 5 лютого 2016 р.

Контактна особа: Бєленічев Ігор Федорович, доктор біологічних наук, професор, кафедра фармакології та медичної рецептури, Запоріжський державний медичний університет, буд. 26, просп. Маяковського, м. Запоріжжя, 39035. Тел.: + 38 0 61 234 27 41.
Електронна пошта: ifb1914@mail.ru

УДК 612.822.014.1:577.112

И. Ф. Беленичев, Е. С. Литвиненко, Т. И. Субачева

Маркеры окислительной модификации белка и нитрозирующего стресса при экспериментальном ишемическом инсульте и фармакологической модуляции системы глутатиона

Запорожский государственный медицинский университет

Ключевые слова: селеназа, глутоксим, глутаредоксин, церебральная ишемия, оксидативный стресс, антиоксиданты

В механизмах ишемической нейродеструкции важную роль играет оксидативный стресс, в основе которого лежит гиперпродукция активных форм кислорода (АФК) биоэнергетическими и нейрохимическими системами головного мозга [1–3]. Накопление в нейрональной клетке продуктов окислительной модификации белков (ОМБ), липидов, нуклеиновых кислот приводит к дисфункции митохондрий, дефициту энергии, снижению чувствительности и специфичности рецепторов, нарушению синаптической передачи, а в дальнейшем – к некротической или апоптической (в зависимости от концентрации АФК и антиоксидантного дефицита) гибели определенной популяции нервных клеток и как следствие – развитию у выживших пациентов когнитивного дефицита [4–6]. Вышеизложенное обосновывает применение антиоксидантов в качестве средств вторичной нейропротекции. Сегодня проходят клинические испытания такие антиоксиданты, как PBN, троллокс, раксофлат. В клинике широко применяются эмоксипин, мексидол, тиотриазолин. В качестве перспективного направления вторичной нейропротекции рассматривается модуляция различных звеньев глутатионовой системы нейрона – Se-глутатионпероксидаза, синтез и восстановление глутатиона. Глутатионпероксидаза, относящаяся к третьей защитной системе, катализирует распад гидроперекисей липидов нерадикальным путем, регулирует синтез трансмиттеров, апоптический АФК-зависимый сигналитет нейроапоптоза [7–9]. Селенсодержащие белки являются «ловушками» алкоксильных радикалов и участвуют в неферментативном распаде гидроперекисей липидов [10–12]. Нами получены убедительные данные о позитивном влиянии на энергетический обмен ишемизированного мозга модуляторов глутатионовой ситемы – глутоксима, селеназы и глуторедоксина. Оправданным является исследование собственного антиоксидантного действия этих препаратов

Цель исследования – оценить антиоксидантное действие глутоксима, селеназы, глутаредоксина в условиях острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) по влиянию на основные показатели оксидативного и нитрозирующего стресса.

Материалы и методы. Экспериментальная часть выполнена на 60 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 крово-

© Колектив авторів, 2016

обращения – необратимую односторонню 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 [13]. Препараты вводили в течение 4 суток, внутрибрюшинно, 1 раз в 1 сутки в дозах: селеназу (Arzneimittel GmbH, Germany) – 50 мкг/кг (10 особей), глутоксим (ФАРМАВАМ, Москва) – 50 мг/кг (10 особей), глутаредоксин (Sigma Aldrich) – 200 мкл/кг (10 особей), референс-препарат пирацетам (Пирацетам – Дарница) (500 мг/кг). Животным контрольной и интактной групп на протяжении исследования внутрибрюшинно вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме. По окончании эксперимента согласно протоколу исследования животных наркотизировали тиопенталом натрия (40 мг/кг), вскрывали черепную коробку и извлекали головной мозг [14]. Для исследования биохимических маркеров получали гомогенат головного мозга. Мозг промывали в 0,25 моль/л сахарозном буфере (pH 7,4), охлажденном до 2 °С, и измельчали в 10-кратном объеме (содержание белка 0,8–1,0 г/л) этого же буфера в гомогенизаторе Silent Crusher S (фирмы Heidolph). Грубую часть гомогената удаляли путем центрифугирования при 4 °С на центрифуге Eppendorf-5804R в течение 20 мин. Для получения цитозольной и митохондриальной фракций, гомогенат центрифугировали при 11 000 g при 4 °С на центрифуге Sigma 3-30K. Полученный материал использовали для проведения биохимических и иммуноферментных методик.

Содержание продуктов окислительной модификации белка определяли по уровню альдегидфенилгидразонов (АФГ) и кетондинитрофенилгидразонов (КФГ) методом B. Halliwell [17], супероксидисмутазу (СОД) по методу Чевари с соавт. [17], каталазу по методу Королюк. Нитротирозин и стабильный метаболит оксида азота определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА), используя наборы реактивов фирмы Hycult и R&D Systems, Inc.

Нормальность распределения оценивали по критериям Колмогорова-Смирнова (D) и Shapiro-Wilk (W). Полученные данные были проанализированы вариационно-статистическим методом с использованием критерия Стьюдента (t). Результаты исследования обработаны с применением статистического пакета лицензионной программы «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5), а также «SPSS 16.0», «Microsoft Excel 2003». Все результаты представлены в виде M ± m, где M – среднее значение, m – ошибка среднего, p – уровень значимости. Для всех видов анализа статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Моделирование острого нарушения мозгового кровообращения приводит к активации оксидативного и нитрозирующего стрессов в головном мозге экспериментальных животных. Так, у животных с ОНМК на 4 сутки эксперимента регистрировали снижение показателей антиоксидантной системы (активность каталазы снизилась на 43,9 %, СОД –на 31,96 % в сравнении с группой интактных животных). На фоне истощения антиоксидантной системы организма отмечается увеличение содержания продуктов ОМБ в головном мозге животных с ОНМК (АФГ – на 125,2 %, КФГ – на 201,8 %) и маркеров нитрозирующего стресса, уровень стабильного метаболита оксида азота – нитротирозина выше в 4,36 раза, а общих нитритов – на 75,53 % в сравнении с интактной группой в этот срок наблюдения.

В условиях оксидативного стресса АФК атакует макромолекулы клеточной мембраны нейрона, что приводит к их окислительной модификации и деструкции. Пероксидные продукты окисления мембранных липидов нарушают регулярную упаковку мембранного бислоя и вызывают образование в мембране дефектных зон [1]. Окислительная модификация белковых молекул приводит к нарушению способности мембран генерировать, проводить нервный импульс к нарушению рецеп-

торных, медиаторных, энергетических, секреторных и метаболических систем клетки [1]. Накопление нейротоксических продуктов оксидативного и нитрозирующего стрессов приводит к инициации и активному протеканию апоптоза и в конечном итоге к формированию стойкого неврологического и когнитивного дефицита и гибели нейрона [1]. Введение модуляторов тиолдисульфидной ситемы животным с ОНМК привело к угнетению реакций оксидативного и нитрозирующего стресса, разной степени выраженности. Так, на фоне введения препаратов отмечено снижение маркеров ОМБ и нитрозирующего стресса: глутоксима – АФГ на 49,24 %, КФГ на 52,40 %, нитротирозина на 73,94%, общих нитритов на 39,85 %; селеназы – АФГ на 39,60 %, КФГ на 49,39 %, нитротирозина на 55,00 %, общих нитритов на 23,96 %; глутаредоксина – АФГ на 54,38 %, КФГ на 63,25 %, нитротирозина на 75,00 %, общих нитритов – на 41,10 %. В группе животных, получавших пирацетам, статистически значимых отличий от группы контроля не наблюдали. На фоне введения препаратов экспериментальным животным отмечено повышение активности в системе антиоксидантных ферментов: глутоксима – СОД на 22,2 %, каталазы на 23,9 %; селеназы – СОД на 29,96 %, каталазы – на 28,26 %; глутаредоксина – СОД на 33,21 % и каталазы на 36,95 % (табл. 1, 2).

Изучаемые модуляторы системы глутатиона оказывают антиоксидантное действие в условиях ОНМК, позитивно влияя на отдельные звенья-мишени этой системы. Сила этого действия напрямую зависит от значимости этих звеньев в механизмах эндогенной нейропротекции и нейропластичности [15, 16]. Так, селеназа, активируя селенозависимую ГПР, снижает уровень пероксидных соединений, а также способна снижать уровень провоспалительных медиаторов, образующихся на ГПР-регулируемом участке липоксигеназного пути. Последний механизм антиоксидантного действия селеназы ограничивает экспрессию iNOS и продукцию цитотоксических дериватов NO [1]. Однако, судя по уровню нитротирозина в группе селеназы, это звено регуляции нитрозирующего стресса не является приоритетным, так как избыток АФК подавляет экспрессию, а не активность ГПР [1]. Кроме того, нитрозирующий стресс может инициироваться не только лейкотриенами, но и другими молекулярными факторами [18]. Глутоксим

Таблица 1

Маркеры окислительного и нитрозирующего стресса в гомогенате мозга монгольских песчанок в условиях церебральной ишемии и применения глутоксима, селеназы и глутаредоксина, M ± m

Группа животных	Нитротирозин, нмоль/г ткани	Нитриты, мкмоль/г ткани	АФГ, у. е./г белка	КФГ, у. е./г белка
Интактные, n = 10	10,90 ± 1,28	23,30 ± 1,32	1,47 ± 0,17	0,55 ± 0,04
Ишемия (контроль), n = 10	47,60 ± 4,20	40,90 ± 1,98	3,31 ± 0,26	1,66 ± 0,15
Ишемия + глутоксим 50 мг/кг, n = 10	12,40 ± 1,15*#	24,60 ± 1,08*	1,68 ± 0,12*#	0,79 ±0,50*#
Ишемия + селеназа 50 мкг/кг, n = 10	21,40 ± 2,24*#	31,10 ± 2,10*	2,00 ± 0,19*	0,84 ± 0,07*
Ишемия + глутаредоксин 200 мкл/кг, n = 10	11,90 ± 1,13*#	24,10 ± 1,72*	1,51 ± 0,17*#	0,61 ± 0,05*#
Ишемия + пирацетам 500 мг/кг, n = 10	45,00 ± 3,52	37,95 ± 1,20	2,80 ± 0,20	1,20 ± 0,16

*Примечание. Здесь и в табл. 2: *изменения статистически значимы по отношению к группе контроля ($p < 0,05$), #изменения статистически значимы по отношению к группе референс-препарата пирацетама ($p < 0,05$).*

Таблица 2

Активность антиоксидантных ферментов в гомогенате мозга монгольских песчанок в условиях церебральной ишемии и применения глутоксима, селеназы и глутаредоксина, M ± m

Группа животных	Активность СОД, у. е./мг белка · мин	Активность каталазы, мкат/мг белка	Активность глутатион-редуктазы, мкмоль/ мин · г белка	Активность глутатион-пероксидазы, нмоль/ мин · г белка
Интактные, n = 10	244,30 ± 9,40	8,20 ± 0,26	19,50 ± 1,35	61,80 ± 2,90
Ишемия (контроль), n = 10	166,20 ± 4,50	4,60 ± 0,22	5,20 ± 0,72*	14,20 ± 1,54*
Ишемия + глуток-сим 50 мг/кг, n = 10	203,10 ± 4,50*#	5,70 ± 0,21*	9,20 ± 0,57*	24,87 ± 2,42*
Ишемия + селеназа 50 мкг/кг, n = 10	216,00 ± 6,50*#	5,90 ± 0,23*	10,10 ± 0,85*	31,70 ± 2,19*
Ишемия + глутаре-доксин 200 мкл/кг, n = 10	221,40 ± 4,71*#	6,30 ± 0,43*	21,80 ± 1,70*	25,93 ± 2,77*
Ишемия + пираце-там 500 мг/кг, n = 10	168,42 ± 4,10	4,90 ± 0,22	5,50 ± 0,6	19,03 ± 1,42*

опосредовано через подавление экспрессии провоспалительных факторов – IL-1B, TNF-α, возможно, тормозит сигнальные пути митоптоза и формирование митохондриальной дисфункции. И таким образом тормозит НАДН – оксиредуктазную продукцию АФК биоэнергетическими реакциями в митохондриях [19]. Глутоксим также значительно подавляет IL-1B – зависимую экспрессию iNOS и инициацию нитрозирующего стресса. Глутоксим защищает мембраны митохондрий от повреждающего действия свободных радикалов в качестве субстрата для ГР, γ-глутамилтрансферазы (γ-GT) и реакции S-глутатионилирования [20–22]. Глутоксим, являясь структурным аналогом глутатиона и воздействуя на более важные звенья-мишени, по ряду показателей превосходит селеназу [1].

Глутаредоксин вносит существенный вклад в регуляцию сигнальной трансдукции через соотношение процессов глутатионилирования и деглутатионилирования. Когда значение отношения GSH/GSSG снижено, глутаредоксин временно может осуществлять процесс S-глутатионилирования, а при снижении действия окислительного стресса катализирует реакцию деглутатионилирования [23]. Тиолы активного центра глутаредоксина формируют комплексы с железо-серными кластерами (Grx2/Fe–S), которые являются редокс-сенсорами: при высоких значениях GSH/GSSG, глутаредоксин удерживается им в неактивном состоянии, а вот высвобождение ферментативно активного Grx происходит при окислительном сдвиге клеточного редокс-статуса [23]. Также данные литературных источников отмечают у глутаредоксина способность выступать в качестве сенсорного фактора регуляции сигнальных каскадов MAP-киназ JNK1 и p38, чувствительного к редокс-статусу микроокружения [1, 23].

Выводы

1. Курсовое введение модуляторов системы глутатиона селеназы (50 мкг/кг/сут), глутоксима (50 мг/кг/ сут) и глуторедокина (200 мкл/кг/сут) животным (монгольским песчанкам) с ОНМК приводит на 4 сутки эксперимента к повышению активности антирадикальных ферментов

СОД и каталазы на фоне снижения маркеров оксидативного – (АФГ, КФГ) и нитрозирующего – (нитротирозина, NO) стресса в головном мозге, что свидетельствует о снижении интенсивности этих патобиохимических процессов.

2. Введение селеназы, глутоксима и глутаредоксина в представленных дозах приводит к активации одного из звеньев эндогенной нейропротекции – глутатионового звена тиолдисульфидной системы – повышению активности ГР и ГПР.
3. Селеназа, глутоксим и глутаредоксин по влиянию на маркеры оксидативного и нитрозирующего стресса и активность антиоксидантных ферментов достоверно превосходят пирацетам. Наиболее значимым действием среди модуляторов ТДС обладает глутаредоксин.

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. *Шанько Ю. Г.* 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. Трансактивация рецептора эпидермального фактора роста окисленным глутатионом и его фармакологическим аналогом глутоксим в клетках А 431 / Бурова Е. Б., Василенко К. П., Антонов В. Г., Никольский Н. Н. // Доклады академии наук. – 2005. – Т. 404, № 1. – С. 1–3.
6. Антиоксиданти: клініко-фармакологічний аспект / Чекман І. С., Бєленічев І. Ф., Горчакова Н. О. [та ін.] // Український медичний часопис. – 2014. – Т. I/II, № 1 (99). – С. 22–28.
7. *Орлова А. С.* Соматические расстройства и свободнорадикальные процессы при цереброваскулярной болезни / Орлова А. С. // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 8. – С. 220–224.
8. Рациональная нейропротекция / Беленичев И. Ф., Черний В. И., Колесник Ю. М. [и др.]. – Донецк : Издатель Заславский А. Ю., 2009. – С. 262.
9. Современные возможности терапии мозгового инсульта. В прицеле – нейропротекция / Одинак М. М., Янишевский С. Н., Цыган Н. В.[и др.] // Обозрение психиатрии и медицинской психологии. – 2012. – № 4. – С. 9–102.
10. *Луцкий М. А.* Некоторые особенности этиологии и патогенеза ишемического инсульта / Луцкий М. А., Фролов В. М., Бочарникова Н. М. // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2011. – Т. 10, № 3. – С. 652–655.
11. *Aldwin Suryo Rahmanto* Selenium-containing Amino Acids as Direct and Indirect Antioxidants / Aldwin Suryo Rahmanto, Michael J. Davies // Life. – 2012. – № 64 (11). – P. 863–871.
12. 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.
13. *Xiangjia Zhu* Selenium effectively inhibits 1,2-dihydroxynaphthalene-induced apoptosis in human lens epithelial cells through activation of PI3-K / Xiangjia Zhu, Kun Guo, Yi Lu // Akt pathway. Molecular Vision. – 2011. – № 17. – P. 2019–2027.
14. *Ганцгорн Е. В.* Патофизиологические основы современной фармакотерапии острой нейропротекции / Ганцгорн Е. В., Хлопонин Д. П., Макляков Ю. С. // Медицинский вестник Юга России. – 2013.– № 2. – С. 4–12.
15. Frequency and determinants of lipid testing in ischemic stroke and transient ischemic attack: findings from get with the guidelines-stroke / Smith E. E., Pan W., Olson D. [et al.] // Stroke. – 2010. – V. 41 (2). – P. 232–238.
16. *Арушанян Э. Б.* Инсульт и эпифиз / Арушанян Э. Б., Наумов С. С. // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2009. – № 12 (Вып. 2). – С. 67–74.
17. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов: методические рекомендации // Чекман И. С., Губский Ю. И., Беленичев И. Ф.[и др.]. – Киев, 2010 – 81 с.
18. *Буй Тхи минь Тху*. Фармакологическая характеристика селенсодержащих 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.
19. *Колесник Ю. М*. Экспрессия васкулоэндотелиального фактора роста и характеристика эндотелиоцитов сосудов головного мозга животных с церебральной ишемией: Фармакологические эффекты нового метаболитропного препарата Лизиний / Колесник Ю. М., Беленичев И. Ф., Мазур И. А.[и др.] // Патология. – 2011. – Т. 8, № 2. – С. 89–95.

20. *Кулинский В. И.* Изучение глутатиона и ферментов его метаболизма у больных старших возрастных групп с хронической церебральной ишемий / Кулинский В. И., Колесниченко Л. С., Шпрах В. В. [и др.] // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2005. –Т. 1 (39). – С. 63–65.
21. Free radical in Biology and Medicine./ Halliwell B., Gutteridge M. C. // Oxford. Clarendon press. – 1999. – 320 p.
22. *Велесницкая Д. В.* Использование глутатиона для перорального приема в целях увеличения его концентрации в крови крыс / Велесницкая Д. В., Пехота Н. Н., Ценкель Н. А. // Фундаментальные науки – медицине. Материалы международной научной конференции: тез. док. – Минск, 2013. – С. 122–124.
23. *Калинина Е. В.* Роль глутатиона, глутатионтрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов / Калинина Е. В., Чернов Н. Н., Новичкова М. Д.// Успехи биологической химии. – 2014. – Т. 54. – С. 299–348.

І. Ф. Бєленічев, Е. С. Литвиненко, Т. І. Субачьова

Маркери окиснювальної модифікації білка та нітрозуючого стресу за умов експериментального ішемічного інсульту та фармакологічної модуляції системи глутатіону

Мета дослідження – вивчення антиоксидантних властивостей модуляторів системи глутатіону (селенази, глутоксиму, глутаредоксину) за умов експериментальної ішемії головного мозку. Дослідження проведено на 60 самцях монгольських піщанок масою 60–80 г. Ішемічний інсульт моделювали шляхом незворотної однобічної перев'язки загальної сонної артерії. Ефективність модуляторів системи глютатіону (селенази – 50 мкг/кг, глутоксиму – 50 мг/кг, глутаредоксину – 200 мкл/кг) та препарату порівняння пірацетаму (500 мг/кг) оцінювали за впливом на маркери оксидативного (уміст продуктів окисної модифікації білка – ОМБ, активність СОД та каталази) та нітрозуючого (уміст нітротирозину та NO) стресу в тканині головного мозку тварин. Експериментальні препарати, препарат порівняння та фізіологічний розчин (контрольна група) вводили внутрішньоочеревинно 1 раз на 1 добу протягом 4 діб, розпочинаючи введення після виходу тварин з наркозу. Виводили тварин з експерименту під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг) на 4 добу спостереження.

Встановлено, що модельована ішемія мозку призводить до зниження активності антирадикальних ферментів – каталази та СОД й до збільшення вмісту нейротоксичного маркера нітрозуючого стресу – нітротирозину і маркерів ОМБ. У дослідженні представлено здатність модуляторів системи глутатіону позитивно впливати на молекулярно-біохімічні зміни в ішемізованому головному мозку експериментальних тварин, що проявилося збільшенням активності антирадикальних ферментів, СОД та каталази, зниженням вмісту маркерів нейродеструкції – нітротирозину та ОМБ. Результати дослідження свідчать про зниження інтенсивності процесів оксидативного і нітрозуючого стресу у разі застосування модуляторів системи глутатіону, що підтверджує наявність у них антиоксидантних властивостей.

Ключові слова: селеназа, глутоксим, глутаредоксин, антиоксидантна активність, ішемічний інсульт, оксидативний стрес

И. Ф. Беленичев, Е. С. Литвиненко, Т. И. Субачева

Маркеры окислительной модификации белка и нитрозирующего стресса при экспериментальном ишемическом инсульте и фармакологической модуляции системы глутатиона

Цель исследования – изучение антиоксидантных свойств модуляторов системы глутатиона (селеназы, глутоксима, глутаредоксина) в условиях экспериментальной ишемии головного мозга. Исследование проведено на 60 самцах монгольских песчанок массой 60–80 г. Ишемический инсульт моделировали путем необратимой односторонней перевязки общей сонной артерии. Эффективность модуляторов системы глютатиона (селеназы – 50 мкг/кг, глутоксима – 50 мг/кг, глутаредоксина – 200 мкл/кг) и препарата сравнения пирацетама (500 мг/кг) оценивали по влиянию на маркеры оксидативного (содержание продуктов окисной модификации белка – ОМБ, активность СОД та каталазы) и нитрозирующего (содержание нитротирозина и NO) стресса в ткани головного мозга животных. Экспериментальные препараты, препарат сравнения и физиологический раствор (контрольна группа) вводили внутрибрюшинно 1 раз в 1 сутки на протяжении 4 суток, начиная введение после выхода животных из наркоза. Животных выводили из эксперимента под тиопенталовым наркозом (40 мг / кг) на 4 сутки наблюдения.

Установлено, что моделированная ишемия мозга приводит к снижению активности антирадикальных ферментов – каталазы и СОД и к увеличению содержания нейротоксического маркера нитрозирующего стресса – нитротирозина и маркеров ОМБ. В исследовании представлена способность модуляторов системы глутатиона положительно влиять на молекулярно-биохимические изменения в ишемизированном головном мозге экспериментальных животных, что проявилось увеличением активности антирадикальных ферментов, СОД и каталазы, снижением содержания

маркеров нейродеструкции – нитротирозина и ОМБ. Результаты исследования свидетельствуют о снижении интенсивности процессов оксидативного и нитрозирующего стресса при использовании модуляторов системы глутатиона, что подтверждает наличие антиоксидантных свойств у изученных препаратов.

Ключевые слова: селеназа, глутоксим, глутаредоксин, антиоксидантная активность, церебральная ишемия, оксидативный стресс

I. F. Belenichev, E. S. Lytvynenko, T. I. Subachova

Markers of oxidative modification of proteins and nitrosating stress in the experimental ischemic stroke and pharmacological modulation of glutathione system

The aim of this work was to study the antioxidant properties of glutathione system modulators (selenase, glutoxim, glutaredoxin) in experimental brain ischemia. The study was conducted on 60 male Mongolian gerbils with weight of 60–80 g. Ischemic stoke vas modeled by an irreversible one-way ligation of the common carotid artery. Efficiency of glutathione system modulators (selenase – 50 µg/kg, glutoxim – 50 mg/kg, glutaredoxin – 200 µl/kg) and comparison drug (pyracetam – 500 mg/kg) evaluated by their influences on the markers of oxidative (content of products oxidative modification of proteins – OMP, SOD and catalase activities) and nitrosating (content of nitrotyrosine and NO) stresses in brain tissue.

Experimental drugs, comparison drug and physiological solution (control group) were administered intraperitoneally one time daily for 4 days, starting from the first ones, after recovery from anesthesia. The animals were taken out from the experiment under thiopental anesthesia (40 mg/kg) on the 4th day of observation. It was found that simulated ischemia of the brain leads to a decrease in antiradical enzymes activity – catalase and SOD, and an increase in the content of nitrosating stress neurotoxic marker – nitrotyrosine, and markers OMP also. The work presents the ability of modulators of glutathione positive influence on molecular – biochemical changes in the ischemic brain of experimental animals, which manifested by an increase in activity of antiradical enzymes – SOD and catalase and decrease in levels of neurodestruction markers – nitrotyrosine and OMP.

The results obtained show the decrease in intensity of the processes of oxidative and nitrosating stresses that confirms the presence of the antioxidant properties of experimental drugs – glutathione system modulators (selenase, glutoxim, glutaredoxin).

Key words: selenase, glutoxim, glutaredoxin, antioxidant activity, cerebral ischemia, oxidative stress

Надійшла: 21 січня 2016 р.

Контактна особа: Бєленічев Ігор Федорович, доктор біологічних наук, професор, кафедра фармакології та медичної рецептури, Запоріжський державний медичний університет, буд. 26, просп. Маяковського, м. Запоріжжя, 39035. Тел.: + 38 0 61 234 27 41.
Електронна пошта: ifb1914@mail.ru

УДК 579.61+625

Н. О. Боброва, О. М. Важнича

Антимікробні властивості метилетилпіридинолу

Вищий державний науковий заклад України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Ключові слова: емоксипін, метилетилпіридинол, антимікробна дія, чутливість мікроорганізмів

Похідні 3-гідроксипіридину були синтезовані шляхом надання структурі вітаміну B_6 (піридоксолу) антиоксидантних властивостей за рахунок екранування алкільними групами фенольного гідроксилу [1]. На їхній основі розроблені й впроваджені в клінічну практику лікарські препарати емоксипін і мексидол, які широко застосовують в медичній практиці завдяки численним ефектам, що визначаються їхнім механізмом дії [2]. Емоксипін (метилетилпіридинолу гідрохлорид) нині є одним з відомих офтальмологічних засобів. Його призначають при внутрішньоочних крововиливах різного генезу, ангіоретинопатії, хоріоретинальній дистрофії, тромбозі центральної вени сітківки, ангіосклеротичній макулодистрофії, травмах та опіках рогівки [2, 3]. Препарат також застосовують для нейрота кардіопротекції в інших галузях медицини [2, 4]. Механізм дії цього похідного 3-гідроксипіридину пов'язують, насамперед, з антиоксидантною та антигіпоксантною активністю, що підтверджено численними експериментальними дослідженнями [5–8]. Останнім часом з'являються роботи, які стосуються використання емоксипіну при інфекційних процесах та порушеннях мікробіоценозу організму [9, 10]. Вони засвідчують антиоксидантні, протизапальні та дезінтоксикаційні властивості препарату за цих умов, але водночас ставлять питання про його власну антимікробну активність та вплив на ефекти традиційних антимікробних засобів. За даними літератури, емоксипін виявляє пригнічуючу дію на кишкову паличку й модифікує вплив гентаміцину й цефтазидиму на культури *Klebsiella pneumoniae* та *Escherichia. coli*, посилюючи чи послаблюючи його залежно від дози та періоду культивування [11–13]. Така неоднозначність даних потребує поглиблення досліджень у цьому напрямі, оскільки, на думку фахівців, вплив на мікроорганізми неантимікробних засобів може мати як позитивне значення, відкриваючи нові шляхи терапії інфекційних захворювань, так і негативні наслідки – формування резистентності до антибіотиків та хіміотерапевтичних засобів [14].

Мета дослідження – визначити антибактеріальні та антифунгальні властивості емоксипіну (метилетилпіридинолу гідрохлориду) та його вплив на специфічну активність антимікробних засобів.

Матеріали та методи. Для визначення чутливості мікроорганізмів до емоксипіну готували 20 % розчин цієї субстанції на воді для ін'єкцій. Субстанцію препарату було надано для дослідження ПАТ «Лубнифарм» (Україна). Концентрацію основного розчину вибирали згідно з даними літератури [13] таким чином, щоб відома з цього джерела концентрація препарату, яка пригнічує ріст культури *E. coli*, знаходилась у середині діапазону серійних розведень.

Використовували еталонні штами *E. coli* АТСС 25922, *S. aureus* АТСС 25923, *S. epidermidis* АТСС 14990 та *C. albicans* АТСС10231, одержані з ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб імені Л. В. Громашевського НАМН України» (м. Київ). Із зазначених штамів бактерій готували добові культури на скошеному поживному агарі (ТОВ «Фармактив», Україна) при температурі +37 °С. *C. albicans* культивували на агарі Сабуро (ТОВ «Фармактив», Україна) 48 год при + 30–32 °С.

© Колектив авторів, 2016

Одержані культури використовували для приготування інокулятів. Дослідження проводили стандартним методом серійних розведень, визначаючи для кожної тест-культури мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК) та мінімальну бактерицидну (або фунгіцидну) концентрацію (МБК або МФК) емоксипіну [15]. У ході роботи з основного розчину препарату готували всі наступні розведення в живильному середовищі (поживний бульйон ТОВ «Фармактив», Україна), після чого до кожного розведення додавали тест-культури *E. coli* АТСС 25922, *S. aureus* АТСС 25923, *S. epidermidis* АТСС 14990 або *C. albicans* АТСС 10231 (10^6 мікробних тіл/1 мл). В останню пробірку вносили 1 мл бульйону та 0,1 мл суспензії бактерій або грибів (контроль культури). Посіви інкубували 24 год при + 37 °С у разі використання еталонних штамів бактерій або 48 год при + 30–32 °С для *C. albicans*, після чого відмічали результати за ступенем помутніння живильного середовища. Остання пробірка з прозорим середовищем вказувала на затримку росту мікроорганізмів під впливом МІК досліджуваного препарату. Для визначення МБК та МФК описане вище визначення МІК доповнювали другим етапом, на якому з пробірок, де немає ознак накопичення бактерійної маси, робили висів на сектори агару чи середовища Сабуро в чашках Петрі й через 24 або 48 год інкубації відмічали наявність росту мікроорганізмів, беручи за МБК найменшу концентрацію препарату, яка показала бактерицидний чи фунгіцидний ефект [15]. Зазначені дослідження повторювали тричі.

Комбіновану дію емоксипіну та відомих антимікробних засобів вивчали диско-дифузійним методом [16]. Використовували клінічний штам *E. coli*, який попередньо був перевірений на чутливість до рекомендованих антибіотиків основних класів [16]. За прийнятими критеріями [16], він характеризувався чутливістю до ампіциліну (19 мм), цефазоліну (22 мм), цефтріаксону (25 мм), амікацину (20 мм), доксацикліну (19 мм), хлорамфеніколу (23 мм), норфлоксацину (30 мм), ципрофлоксацину (31 мм), ко-тримоксазолу (20 мм), нітрофурантоїну (22 мм) та проміжною чутливістю до цефтазидиму (15 мм) і тетрацикліну (17 мм).

На порожні стерильні паперові диски діаметром 6 мм (Munktell, Швеція) наносили 50 мкл 20 % розчину емоксипіну – 1000 мкг/диск. Антисептик хлоргексидину біглюконат у вигляді 0,05% водного розчину (Хімфармзавод «Червона зірка», Україна) наносили на порожні диски – 25 мкг/диск. Також використовували стандартні паперові диски з антибіотиками та синтетичними хіміотерапевтичними засобами («Система Оптимум», Україна), які обирали з урахуванням спектра дії: цефтазидим (30 мкг/диск), тетрациклін (30 мкг/диск), норфлоксацин (10 мкг/диск), нітрофурантоїн (300 мкг/диск). На частину дисків з антимікробними засобами додатково наносили по 50 мкл 20 % розчину емоксипіну – 1000 мкг/диск. Диски висушували при кімнатній температурі й застосовували для визначення чутливості вказаного вище штаму *E. coli*. Зони затримки росту мікроорганізмів визначали через 24 год. Результати статистично обробляли за стандартними комп'ютерними програмами Microsoft Excel. Вірогідність різниці між групами визначали з використанням критерію t Стьюдента з поправкою Бонферроні [17] при порівнянні трьох груп (емоксипін – антимікробний засіб – антимікробний засіб + емоксипін), граничний рівень $p < 0,017$.

Результати та їх обговорення. При вивченні впливу емоксипіну на еталонні штами кишкової палички, стафілококу та дріжджоподібних грибів показано здатність препарату пригнічувати ріст цих культур мікроорганізмів у рідкому середовищі, що повністю співпадало в трьох повторних визначеннях (табл. 1).

Видиме накопичення бактерійної маси тест-культури *E. coli* АТСС 25922 було відсутнє за концентрацій емоксипіну 10 000 та 5000 мкг/мл, тобто МІК досліджуваного препарату становила 5000 мкг/мл. Пересів обох цих розведень на тверде середовище продемонстрував повну відсутність росту мікроорганізмів. Це означало, що МБК емок-

Таблиця 1

Антимікробна активність емоксипіну щодо музейних штамів мікроорганізмів

Музейний штам мікроорганізму	Концентрація емоксипіну, мкг/мл								
	10 000	5000	2500	1250	625	312	156	78	39
E. coli ATCC 25922	–	–	+	+	+	+	+	+	+
S. aureus ATCC 25923	–	–	–	–	+	+	+	+	+
S. epidermidis ATCC 14990	–	–	–	–	+	+	+	+	+
C. albicans ATCC 10231	–	–	+	+	+	+	+	+	+

Примітка. «–» – відсутність росту мікроорганізмів; «+» – наявність росту мікроорганізмів.

сипіну стосовно *E. coli* ATCC 25922 співпадало з МІК.

При дослідженні дії препарату на музейний штам *S. aureus* було встановлено відсутність росту тест-культури за концентрацій емоксипіну 10 000–1250 мкг/мл, МІК становила 1250 мкг/мл (табл. 1), а МБК – 5000 мкг/мл.

Чутливість музейного штаму *S. epidermidis* до досліджуваного препарату була подібна до такої в *S. aureus* ATCC 25923 і відрізнялася лише нижчим значенням МБК, яка дорівнювала 2500 мкг/мл.

Під впливом емоксипіну пригнічення росту *C. albicans* спостерігалося за концентрацій 10 000–5000 мкг/мл, тобто МІК дорівнювала 5000 мкг/мл (табл. 1). При пересіві на тверде живильне середовище цих розведень росту грибів не було. Це вказує, що МФК емоксипіну стосовно *C. albicans* ATCC10231 становила 5000 мкг/мл.

Отже, емоксипін демонстрував пригнічуючу дію на еталонні штами грампозитивних коків, кишкової палички та дріжджоподібних грибів, що свідчить про наявність у нього антимікробних властивостей та певну широту спектра дії. МІК препарату залежала від виду мікроорганізму й була в діапазоні 1250–5000 мкг/мл. Такі результати узгоджуються з даними літератури про виразний антимікробний ефект емоксипіну стосовно штаму *E. coli* ATCC 25922 за концентрацій препарату 2–4 ммоль/л (315–730 мкг/мл) [13]. Дещо вищі значення бактеріостатичних концентрацій в нашому дослідженні, вочевидь, можуть пояснюватись візуальною оцінкою результатів, тоді як у зазначеній роботі було використано апаратне денситометричне визначення оптичної густини бактерійних суспензій [13]. Ці автори вважають ефект емоксипіну бактеріостатичним і припускають, що його механізм полягає в інгібуванні синтезу білка [12, 13], однак, бактерицидність певних концентрацій препарату та його вплив як на бактерії, так і на гриби не дозволяє повністю прийняти таке припущення. На нашу думку, скоріше за все, у

Таблиця 2

Чутливість E. coli до антимікробних засобів та емоксипіну, M ± m, (n = 5)

Препарат на диску	Діаметр зони затримки росту, мм		
	емоксипін	антимікробний засіб	антимікробний засіб + емоксипін
Емоксипін, 1000 мкг/диск	19,2 ± 4,0	–	–
Хлоргексидину біглюконат, 25 мкг/диск.	–	19,2 ± 3,3	25,8 ± 2,0
Норфлоксацин, 10 мкг/диск	–	29,6 ± 2,9	35,2 ± 0,8*
Нітрофурантоїн, 300мкг/диск	–	22,4 ± 2,1	30,0 ± 3,3
Цефтазидим, 30 мкг/диск	–	14,8 ± 2,5	28,2 ± 3,0**
Тетрациклін, 30 мкг/диск	–	17,0 ± 2,1	32,4 ± 3,4**

*Примітка. *Вірогідно порівняно з емоксипіном, **вірогідно порівняно з антимікробним засобом без емоксипіну.*

мікробній клітині емоксипін діє на ті самі мішені, що й у клітинах макроорганізму – енергетичні процеси, структуру й функції мембран.

Емоксипін не тільки виявляв власну протимікробну дію, а й збільшував чутливість мікроорганізмів до інших антимікробних засобів, що було показано на прикладі штаму *E. coli* (табл. 2).

Після 24 год інкубації зони відсутності росту бактерій навколо дисків з норфлоксацином були більші на 10,4 мм ($p < 0,1$), а навколо дисків з хлоргексидином, нітрофурантоїном, цефтазидимом і тетрацикліном не мали відмінностей порівняно з такими з емоксипіном. Діаметр зони затримки бактерійного росту при поєднанні норфлоксацину з емоксипіном перевищував аналогічний показник при застосуванні окремо взятого емоксипіну в середньому на 16 мм ($p < 0,005$). У всіх інших випадках чутливість тест-культури кишкової палички до комбінацій антимікробних засобів з емоксипіном вірогідно не відрізнялася від такої до окремо взятого емоксипіну (табл. 2).

При цьому комбінована дія хлоргексидину та емоксипіну не викликала збільшення зони інгібування росту *E. coli* порівняно з цим антисептиком без додавання досліджуваного засобу (табл. 2). Комбінування з емоксипіном сприяло тенденції до збільшення ефектів фторхінолону на 5,6 мм ($p < 0,1$) та нітрофурантоїну на 7,6 мм ($p < 0,1$). При поєднанні емоксипіну з цефтазидимом і тетрацикліном зони інгібування росту культури *E. coli* збільшувалися відповідно на 13,4 мм ($p < 0,01$) та на 15,4 мм ($p < 0,005$) порівняно з такими для самих цих антибіотиків.

Як бачимо, емоксипін був здатний посилювати чутливість *E. coli* до антибіотиків різного механізму дії, що узгоджується з даними інших дослідників [11, 13]. З огляду на власну антимікробну активність емоксипіну такий синергізм можна розцінювати як сумацію. Вочевидь антимікробну дію широкого спектра й синергізм з певними антибіотиками можна вважати закономірними складовими фармакодинаміки емоксипіну (метилетилпіридинолу гідрохлориду), які слід враховувати при клінічному застосуванні препарату, особливо в комбінованій терапії інфекцій.

Висновки

1. Емоксипін (метилетилпіридинолу гідрохлорид) виявляє антибактеріальну дію стосовно еталонних штамів *E. coli* АТСС 25922, *S. aureus* АТСС 25923, *S. epidermidis* АТСС 14990 та антифунгальний ефект стосовно *C. albicans* АТСС 10231 з МІК 1250–5000 мкг/мл, МБК 2500–5000 мкг/мл та МФК 5000 мкг/мл.
2. Емоксипін діє синергічно з антибіотиками, підвищуючи чутливість *E. coli* до цефтазидиму й тетрацикліну при 24 год інкубації.

1. *Дюмаев К. М.* Антиоксиданты в профилактике и терапии патологий ЦНС / К. М. Дюмаев, Т. А. Воронина, Л. Д. Смирнов. – Москва, 1995. – 272 с.
2. *Машковский М. Д.* Лекарственные средства / М. Д. Машковский; под ред. Н. А. Литвина. – [16-е изд., перераб., испр. и доп.]. – Москва : АО «Издательство Новая волна», 2012. – 1216 с.
3. Офтальмология: национальное руководство / [Егоров Е. А., Алексеев В. Н., Аклаева Н. и др.]; под ред. Е. А. Егорова, С. Э. Аветисова, Л. К. Мошетовой. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 944 с.
4. Опыт применения эмоксипина в комплексном лечении полиорганной недостаточности у новорожденных детей / П. И. Миночкин, И. А. Волчегорский, Д. К. Волосников [и др.] // Педиатрия. – 2011. –Т. 90, № 4. – С. 98–103.
5. *Пасевич С. П.* Антиоксидантний потенціал похідних 3-оксипіридину за умов хронічної гіпоксичної гіпоксії / С. П. Пасевич, І. І. Заморський // Український біофармацевтичний журнал. – 2014. – № 5 (34). – С. 9–11.
6. Механизмы восстановления коронарного протока изолированного сердца в период реперфузии при кардиопротекции липосомальной формой эмоксипина / Я. Г. Торопова, Л. В. Антонова, Р. А. Мухамадияров [и др.] // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова.– 2013. – № 6 (99).– С. 755–761.
7. *Ясенявская А. Л.* Влияние антиоксидантов на нейроэндокринный статус в условиях иммобилизационного стресса / А. Л. Ясенявская, М. А. Самотруева, С. А. Лужнова // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2014 – № 8. – С. 57–59.

8. *Пашкевич И. В.* Динамика показателей перекисного окисления липидов в сыворотке крови под влиянием производных 3-оксипиридина при индуцированных и перевиваемых неоплазиях / И. В. Пашкевич, Е. О. Букаева, Н. А. Плотникова // Современные технологии в медицине. – 2011. – № 3. – С. 110–112.
9. Изменение состава микробиоценоза толстого кишечника и антиоксидантных свойств колоноцитов в условиях экспериментального дисбиоза и профилактики эмоксипином / А. В. Агейченко, П. В. Калуцкий, О. А. Медведева [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2015. – № 4. – С. 84–88.
10. Влияние некоторых антиоксидантов на течение экспериментального перитонита / А. Г. Мирошниченко, В. М. Брюханов, Л. Ю. Бутакова [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 9. – С. 1057–1060.
11. Фармакологические и микробиологические аспекты влияния метилэтилпиридинола на активность цефтазидима *in vitro* / А. Г. Мирошниченко, В. М. Брюханов, Л. Ю. Бутакова [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 2. – С. 124–130.
12. Антиоксидантная модуляция чувствительности *Klebsiella pneumoniae* к цефтазидиму / А. Г. Мирошниченко, В. М. Брюханов, Л. Ю. Бутакова [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 3. – С. 337–341.
13. Влияние антиоксидантов на развитие чистой культуры *Escherichia coli* и ее чувствительность к гентамицину / А. Г. Мирошниченко, В. М. Брюханов, Л. Ю. Бутакова [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 5. – С. 339–343.
14. *Максимов Ю. Н.* Ятрогенный фактор в формировании резистентности микроорганизмов к химиотерапевтическим средствам / Ю. Н. Максимов, Н. А. Врынчану // Современные проблемы токсикологии. – 2008. – № 3. – С. 58–60.
15. Практична мікробіологія: Посібник / С. І. Климнюк, І. О. Ситник, М. С. Творко, В. П. Широбоков. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2004. – 440 с.
16. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам (Методические указания МУК 4.2.1890-04) / С. А. Семина, С. В. Сидоренко, С. П. Резван и др.; утв. главн. гос. сан. врачом РФ Г. Г. Онищенко 04.03.2004 // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2004. – Т. 6, № 4. – С. 306–359.
17. *Гланц С.* Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – [пер. с англ. Ю. А. Данилова]. – Москва : Практика, 1999. – 459 с.

Боброва Н. О., Важнича О. М.

Антимікробні властивості метилетилпіридинолу

Мета дослідження – вивчення антибактеріальних та антифунгальних властивостей емоксипіну (метилетилпіридинолу гідрохлориду) та його впливу на специфічну активність антимікробних засобів. Ефект препарату стосовно розвитку культур *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *S. epidermidis* ATCC 14990 та *C. albicans* ATCC10231 визначали стандартним методом серійних розведень. Комбіновану дію емоксипіну та антимікробних засобів (хлоргексидину, норфлоксацину, нітрофурантоїну, цефтазидиму, тетрацикліну) на культуру *E. coli* вивчали диско-дифузійним методом. Показано, що емоксипін має пригнічуючу дію на еталонні штами стафілококів, кишкової палички та дріжджоподібних грибів, що свідчить про наявність у нього антимікробних властивостей та їхній широкий спектр. Мінімальні інгібуючі концентрації препарату знаходяться в діапазоні 1250–5000 мкг/мл. Емоксипін також здатний посилювати чутливість *E. coli* до антибіотиків різного механізму дії і виявляє синергізм з цефтазидимом та тетрацикліном.

Ключові слова: емоксипін, метилетилпіридинол, антимікробна дія, чутливість мікроорганізмів

Н. А. Боброва, Е. М. Важничая

Антимикробные свойства метилэтилпиридинола

Цель исследования – изучение антибактериальных и антифунгальных свойств эмоксипина (метилэтилпиридинола гидрохлорида) и его влияния на специфическую активность антимикробных средств. Эффект препарата в отношении развития культур *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *S. epidermidis* ATCC 14990 и *C. albicans* ATCC10231 определяли стандартным методом серийных разведений. Комбинированное действие эмоксипина и антимикробных средств (хлоргексидина, норфлоксацина, нитрофурантоина, цефтазидима, тетрациклина) на культуру *E. coli* изучали диск-диффузионным методом. Показано, что эмоксипин оказывает угнетающее действие на эталонные штаммы стафилококков, кишечной палочки и дрожжеподобных грибов, что свидетельствует о наличии у него антимикробных свойств и их широком спектре. Минимальные ингибирующие концентрации препарата находятся в диапазоне 1250–5000 мкг/мл. Эмоксипин также способен усиливать чувствительность *E. coli* к антибиотикам и проявляет синергизм с цефтазидимом и тетрациклином.

Ключевые слова: эмоксипин, метилэтилпиридинол, антимикробное действие, чувствительность микроорганизмов

N. A. Bobrova, E. M. Vazhnichaya

Antimicrobial properties of methylethylpiridinol

Emoxypine (methylethylpiridinol hydrochloride) is well known 3-hydroxypyridine derivative used in ophthalmology, cardiology and other branches of medicine due to its antioxidant and antihypoxic properties, but data on antimicrobial effects of the drug are limited and contradictory. Presented article is devoted to studying the antibacterial and antifungal properties of emoxypine and its influence on the specific activity of antimicrobial agents. The effect of the drug on the development of cultures of *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *S. epidermidis* ATCC 14990 and *C. albicans* ATCC 10231 was determined by the standard serial dilution method. Combined action of emoxypine and other antimicrobials (chlorhexidine, norfloxacin, nitrofurantoin, ceftazidime, and tetracycline) on the culture of *E. coli* was studied by disc diffusion method. It is shown that emoxypine has an inhibitory effect on the reference strains of staphylococci, coli bacillus and Candida fungi, suggesting that it has antimicrobial properties of wide spectrum. Minimal inhibitory concentrations of the drug range between 1250–5000 μg/ml. Among the studied strains, *S. epidermidis* ATCC 14990 is the most susceptible to the drug. Emoxypine also is able to enhance the susceptibility of *E. coli* strain to antibiotics. This synergism is clearly manifested in the combination with ceftazidime or tetracycline, when emoxypine adding the growth inhibition zone of test culture increases by 1,9 times as compared with the parent antibiotic. Changes in the activity of fluorquinolone, nitrofuran, or detergent antiseptic combined with emoxipine are not significant. It is supposed that cell membrane and energy processes in the microbial cell are targets for bactericidal or fungicidal action of emoxypine. The data obtained indicate that antimicrobial action is a characteristic part of methylethylpiridinol's pharmacodynamics that should be taken into account when the drug is used in the combined therapy of infections.

Key words: emoxypine, methylethylpiridinol, antimicrobial action, microorganisms' susceptibility

Надійшла: 21 січня 2016 р.

Контрактна особа: Важнича Олена Митрофанівна, доктор медичних наук, професор, кафедра експериментальної та клінічної фармакології, ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», Тел.: + 38 0 66 634 72 73. Електронна пошта: vazhnichaya@ukr.net

УДК 615.322: 615.225: 001.891.53

А. С. Калениченко, Л. Н. Малоштан

Скрининговое исследование антикоагулянтной, мембраностабилизирующей и противовоспалительной активности густого экстракта из листьев лещины обыкновенной

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

Ключевые слова: экстракт из листьев лещины обыкновенной, лекарственные растения, фармакологический скрининг

Распространенность венозных заболеваний, постоянное омоложение контингента больных, прогрессирующее течение с развитием декомпенсированных форм хронической венозной недостаточности и развитие опасных осложнений свидетельствуют об актуальности и высокой значимости фармакотерапии варикозной болезни. Известно, что одними из ведущих факторов развития осложнений варикозной болезни является тромбообразование и воспаление [1]. Острые и хронические венозные тромбозы могут стать причиной таких тяжелых осложнений, как дерматиты, экземы, переходящие в гнойное воспаление с образованием абсцессов, трофических язв, тромбоэмболии легочной артерии, поэтому первоочередной задачей современной фармакотерапии венозных заболеваний является устранение тромботического состояния системы гемостаза и явлений воспаления в стенках сосудов и окружающих тканях [2]. Для профилактики и лечения тромбозов и тромбоэмболических осложнений широко используются антикоагулянтные препараты [3, 4]. Все они обладают недостатками при использовании у той или иной группы пациентов, что стимулирует поиск новых антикоагулянтов, которые не приводили бы к высокой частоте геморрагических осложнений, не вызывали бы активации тромбоцитов, развитие тромбоцитопении и были бы удобны в использовании.

На сегодняшний день существует ряд биологически активных добавок, в составе которых содержится лещина обыкновенная: Лещина форте (Россия), Антиварикоз (Украина), Веновит (Украина), Фитор (Украина), Асклезан А (Россия) и др., применяемые при варикозной болезни для нормализации кровообращения, повышения венозного тонуса, нормализации микроциркуляции в нижних конечностях. Настои и отвары из листьев и коры лещины обыкновенной широко применяются в народной медицине при варикозных язвах, капиллярных геморрагиях, кишечно-желудочных кровотечениях и других заболеваниях. Полученная сухой перегонкой древесины лещины – жидкость «Л-2 Лесная» – предназначалась для лечения кожных заболеваний: экземы, нейродермита, стрептодермии, псориаза, но лечебный эффект, по-видимому, был слабым и этот препарат сняли с производства [5]. Как следствие недостаточной изученности сырья, народная медицина предоставляет несравненно большее значение лещине обыкновенной, чем научная. В связи с этим было целесообразно провести исследование фармакологической активности густого экстракта лещины обыкновенной, полученного на кафедре химии природных соединений Национального фармацевтического университета под руководством профессора О. П. Хворост. Лещина обыкновенная была собрана на территории Украины.

Цель исследования – проведение скрининговых исследований фармакологической активности густого экстракта из листьев лещины обыкновенной, а именно антикоагулянтной, противовоспалительной и мембраностабилизирующей.

© Колектив авторів, 2016

Материалы и методы. Объектом скрининговых фармакологических исследований был экстракт из листьев лещины обыкновенной в концентрации 13 мг/мл. Все исследования проводили на белых беспородных крысах массой 180–250 г. Животные получали стандартное питание в соответствии с действующими нормами [6]. Экспериментальные исследования проводили в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях, и национальным законодательством Украины. Антикоагулянтную активность определяли в эксперименте *in vitro* методом Бюркера [7]. Принцип метода заключается в определении времени спонтанного появления первых нитей фибрина в цельной крови. 2–3 капли крови из хвоста белых нелинейных крыс помещали на часовое стекло и добавляли исследуемый экстракт в разведениях – 1:2, 1:4, 1:8. Как контроль использовали кровь, в которую добавляли 0,9 % раствор хлорида натрия в соотношении 1:1 и раствор гепарина в концентрации 1 ЕД/мл (Гепарин-Белмед). Следующим этапом исследования было определение антикоагулянтной активности экстракта из листьев лещины *in vivo*. Исследование проводили на белых беспородных крысах по 6 крыс в группе: 1 группа – интактный контроль (животные получали дистиллированную воду); 2, 3 и 4 группы – крысы, получавшие исследуемый экстракт в дозе 30 мг/кг, 60 мг/кг и 90 мг/кг соответственно. В течение 4 суток животным 1 раз в 1 сутки внутрижелудочно вводили исследуемый экстракт. На 4 сутки производили забор крови из хвоста крыс (через 60 мин после введения препарата) и определяли время свертывания крови [7].

Мембраностабилизирующую активность экстракта определяли в условиях *in vivo* методом Jager FC по сравнению с эскувитом (таблетки по 40 мг, производства Артериум, Украина) [8]. Экспериментальные животные (крысы) были распределены на 5 групп: 1 – интактный контроль – животные, которым внутрижелудочного вводили эквивалентное их массе количество воды; 2, 3 и 4 группы – крысы, получавшие в течение 4 суток 1 раз в 1 сутки внутрижелудочно экстракт из листьев лещины в дозах 30 мг/кг, 60 мг/кг и 90 мг/кг, 5 группа – животные, получавшие в аналогичном режиме препарат сравнения эскувит в дозе 10 мг/кг. Мембраностабилизирующее действие определяли на 4 сутки эксперимента (через 60 мин после введения экстракта). По значениям экстинкции растворов опытной и контрольной проб рассчитывали степень спонтанного гемолиза эритроцитов как показатель мембраностабилизирующего действия.

Исследование противовоспалительной активности экстракта проводили на модели карагенинового отека [9]. Животные были разделены на группы по 6 крыс: 1 группа – контрольная патология (животные с карагениновым отеком, которые получали дистиллированную воду); 2, 3 и 4 группы – животные, которые получали исследуемый экстракт из листьев лещины в дозе 30 мг/кг, 60 мг/кг и 90 мг/кг соответственно; 5 группа – животные, которые получали препарат сравнения диклофенак натрия (таблетки по 50 мг производства «Червона зірка») в его эффективной дозе 8 мг/кг. Исследуемый экстракт из листьев лещины вводили в лечебно-профилактическом режиме – внутрижелудочно 1 раз в 1 сутки в течение 3 суток и на 4 сут за 1 ч до инъекции карагенина. Диклофенак вводили внутрижелудочно однократно в виде водного раствора за 1 ч до инъекции карагенина. Для воспроизведения острого асептического воспаления у крыс использовали 1 % раствор карагенина, который вводили субплантарно в заднюю стопу крысы в объеме 0,1 мл. Измерение объема стопы у крыс проводили с помощью механического онкометра по А. С. Захаревському. О развитии отека судили по увеличению объема лапы в динамике через 1, 2, 3, 4 и 24 ч после введения карагенина. Антиэксудативную активность веществ определяли по способности уменьшать отеки в опытных группах животных по сравнению с контрольной группой и выражали в процентах [9].

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного

пакета Statistica 6.0. Статистический анализ данных выполняли с помощью критерия Ньюмена-Кейлса на уровне значимости $P < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Поскольку при развитии варикозной болезни наблюдается замедление кровотока, что со временем приводит к повышению свертываемости крови и тромбообразованию, цель исследования – изучение влияния экстракта на процессы коагуляции. На этапе исследования *in vitro* было установлено, что под действием экстракта лещины в исходной концентрации 13 мг/мл наблюдали достоверное увеличение времени свертывания крови в 2 раза по сравнению с контролем, экстракт несколько уступал эффекту гепарина (табл. 1). Под влиянием экстракта в разведениях 1:2, 1:4, 1:8 время свертывания крови было на уровне контроля.

В дальнейшем исследовали антикоагулянтную активность экстракта из листьев лещины в опытах *in vivo* в дозах 30 мг/кг, 60 мг/кг и 90 мг/кг. По полученным данным, приведенным в таблице 2, экстракт в дозе 30 мг/кг достоверно увеличивал время свертывания крови в 1,5 раза по сравнению с контролем. Антикоагулянтная активность экстракта в дозе 60 мг/кг и 90 мг/кг была почти на одном уровне, об этом свидетельствует замедление времени свертывания крови по сравнению с контролем в 2,0 и 1,9 раза соответственно. Итак, исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что экстракт из листьев лещины проявляет антикоагулянтную активность, причем наиболее выраженную в дозе 60 мг/кг.

Известно, что необходимым условием для проявления венотонизирующего эффекта является наличие у препарата мембраностабилизирующей активности, которая зависит от устойчивости клеточных мембран. Поэтому следующим этапом исследования экстракта стало изучение этого вида активности на модели спонтанного гемолиза эритроцитов по Ягерю. В результате исследований было установлено, что густой экстракт из листьев лещины в дозе 90 мг/кг достоверно уменьшает степень гемолиза в 1,8 раза по сравнению с интактным контролем, а в дозах 30 мг/кг и 60 мг/кг уменьшает степень гемолиза более чем в 3 раза, превышая активность эскувита (табл. 3).

По данным литературы, в составе лещины обыкновенной содержатся

Таблица 1

Время свертывания крови крыс под влиянием различных концентраций экстракта из листьев лещины обыкновенной in vitro, M ± m (n = 6)

Условие эксперимента	Время свертывания крови, с	Изменения свертывания, %
Контроль (цельная кровь)	140,4 ± 1,52**	–
Экстракт без разведения	287,8 ± 3,11*/**	105
Разведенный экстракт (1:2)	144,0 ± 1,59**	3
Разведенный экстракт (1:4)	141,8 ± 3,03**	1
Разведенный экстракт (1:8)	142,6 ± 2,35**	1,6
Гепарин 1 ЕД/мл	309,0 ± 2,65*	120

*Примечание. *Достоверно по отношению к контролю ($p \leq 0,05$), **достоверно по отношению к гепарину ($p \leq 0,05$).*

Таблица 2

Время свертывания крови крыс после введения экстракта из листьев лещины обыкновенной в различных дозах , M ± m (n = 6)

Группа животных	Время свертывания крови, с
Интактный контроль	115,50 ± 2,95
Экстракт из листьев лещины, 30 мг/кг	172,50 ± 2,26*
Экстракт из листьев лещины, 60 мг/кг	231,34 ± 2,50*
Экстракт из листьев лещины, 90 мг/кг	219,17 ± 1,33*

*Примечание. Здесь и в табл. 3: *достоверно по отношению к контролю ($p \leq 0,05$).*

флавоноиды [10], которые широко известны своими антиоксидантными свойствами [11]. Согласно общепринятой точке зрения, антиоксидантное свойство флавоноидов основано на способности взаимодействовать со свободными радикалами, уменьшая интенсивность ПОЛ, таким образом стабилизируя мембранный комплекс клетки [11, 12]. Полученные результаты позволяют сделать вывод о выраженном мембраностабилизирующем действии густого экстракта из листьев лещины обыкновенной на модели спонтанного гемолиза эритроцитов.

Поскольку одним из ведущих симптомов тромбофлебита является воспаление, целью дальнейшего этапа исследования было изучение влияния экстракта из листьев лещины на течение воспалительного процесса на классической модели карагенинового отека, в механизме развития которого участвуют простагландины, биогенные амины и кининовая система. Считают, что в первые 30–90 мин в развитии отека участвуют гистамин и серотонин, в интервале между 1,5–2,5 ч – кинины, а между 2,5–5,5 ч – простагландины [9]. Как видно из данных таблицы 4, в первый час исследования наблюдали достоверное уменьшение отека в группе животных, получавших исследуемый экстракт в дозах 60 и 90 мг/кг. Противовоспали-

Таблица 3

Результаты изучения мембраностабилизирующей активности густого экстракта из листьев лещины обыкновенной, n = 7

Группа животных	Доза	Степень гемолиза эритроцитов, %	Мембраностабилизирующая активность, %
Интактный контроль	–	12,80 ± 0,01	-
Экстракт из листьев лещины	30 мг/кг	3,85 ± 0,01*	69,92
Экстракт из листьев лещины	60 мг/кг	3,72 ± 0,01*	70,93
Экстракт из листьев лещины	90 мг/кг	6,95 ± 0,02*	45,7
Эскувит	10 мг/кг	4,49 ± 0,01*	64,92

Таблица 4

Показатели противовоспалительной активности густого экстракта из листьев лещины обыкновенной на модели карагенинового отека лапы у крыс, n = 6

Время наблюдения	Vo–Vk, у. е. (А, %)				
	Контрольная патология	Экстракт из листьев лещины, 30 мг/кг	Экстракт из листьев лещины, 60 мг/кг	Экстракт из листьев лещины, 90 мг/кг	Диклофенак, 8 мг/кг
Первый час	18,50 ± 2,81 -	18,86 ± 1,57** (4,94 %)	8,00 ± 1,73* (56,76 %)	8,43 ± 1,90 (54,43 %)	7,67 ± 0,81* (61,34 %)
Второй час	20,67 ± 3,20 -	19,57 ± 5,53 (5,32 %)	17,43 ± 1,70** (15,67 %)	17,28 ± 1,98** (16,40 %)	9,50 ± 2,35* (54,04 %)
Третий час	21,17 ± 3,43 -	20,00 ± 4,20 (5,53 %)	20,14 ± 2,19** (4,87 %)	20,71 ± 1,80** (2,17 %)	11,34 ± 1,50* (46,43 %)
Четвертый час	20,84 ± 1,33 -	17,43 ± 3,10 (16,36 %)	19,57 ± 0,98** (6,09 %)	18,57 ± 1,72 (10,89 %)	12,50 ± 1,64* (40,02 %)
Двадцать четвертый час	5,67 ± 1,03 -	4,86 ± 3,44 -	4,57 ± 1,13 (19,4 %)	4,71 ± 1,38 (19,2 %)	3,50 ± 1,37 (38,27 %)

*Примечание. *Достоверно по отношению к контролю ($p \leq 0,05$), **достоверно по отношению к показателям группы диклофенака ($p \leq 0,05$), А – антиэкссудативная активность,%; Vo–Vk, разница между объемом отечной лапы и ее исходным размером, у. е.*

тельная активность экстракта в этих дозах составляла 56,76 и 54,43 % соответственно, достоверно не отличаясь в этот срок от эффекта диклофенака. Ко второму часу эксперимента наблюдалось уменьшение противовоспалительной активности экстракта в указанных дозах более чем в 3 раза по сравнению с препаратом сравнения. В течение последующих часов развития воспаления уменьшение отека пораженной конечности было незначительным (табл. 4).

У крыс, которым вводили экстракт в дозе 30 мг/кг, динамика развития воспалительного процесса не отличалась от нелеченных животных в течение всего эксперимента.

Итак, поскольку экстракт из листьев лещины в дозе 60 мг/кг и 90 мг/кг достоверно уменьшал отек лап крыс по сравнению с контрольной патологией в первые часы эксперимента, это может свидетельствовать о его влиянии на начальный этап воспаления, связанный с выделением гистамина и серотонина. Однако механизм противовоспалительного действия изучаемого экстракта, по-видимому, не связан с угнетением циклооксигеназной системы, поскольку активность на третий и четвертый час эксперимента (пик уровня простагландинов) не была достоверной относительно контрольной патологии ни в одной из опытных групп.

Выводы

1. Экстракт из листьев лещины обыкновенной увеличивает время свертывания крови в опытах *in vitro* и характеризуется высокой антикоагулянтной активностью в дозах 60 мг/кг и 90 мг/кг в опытах *in vivo*.
2. Установлено, что на модели спонтанного гемолиза эритроцитов экстракт из листьев лещины обыкновенной проявляет выраженное мембраностабилизирующее действие, эффективность экстракта в дозах 30 мг/кг и 60 мг/кг превысила эффективность препарата сравнения.
3. Экспериментально доказано, что на модели карагенинового отека лапы крыс экстракт из листьев лещины обыкновенной в дозах 60 мг/кг и 90 мг/кг проявляет активность на начальном этапе воспаления (выделение вазоактивных медиаторов), и не влияет на простагландиновую фазу воспаления.
4. Скрининговые исследования антикоагулянтной, противовоспалительной и мембраностабилизирующей активности густого экстракта из листьев лещины обыкновенной позволили установить условно-терапевтическую дозу – 60 мг/кг, которая может быть использована для дальнейшего фармакологического изучения.

1. *Bergan J.* Therapeutic approach to CVH and its complications: Place of Daflon 500 mg. / J. Bergan, G. W. Schmid – Schonbein // Angiology. – 2001. – V. 52, supp. 1. – P. 43–47.
2. Покровский А. В. Диагностика и лечение варикозной болезни / А. В. Покровский, Е. Г. Градусов, Р. А. Бредихин. – Москва : РМАПО, 2013. – 125с.
3. *Кириенко А. И.* Фармакотерапия хронической венозной недостаточности нижних конечностей / А. И. Кириенко, Р. А. Григорян // Consilium medicum.– 2000. – Т. 2, № 4. – С. 15–19.
4. *Ganetsky V.* Role of Novel and Emerging Oral Anticoagulants for Secondary Prevention of Acute Coronary Syndromes / V. Ganetsky, D. Hadley, T. Thomas // Pharmacotherapy. – 2014. – V. 34 (6). – P. 590–604.
5. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства Magnoliacae – Limoniaceae. Ленинград,1985. – 460 с.
6. *Западнюк М. П.* Лабораторные животные. Использование в эксперименте / М. П. Западнюк, В. И.Западнюк, Е. А.Захария. – Киев : Высшая школа, 1983. – 382 с.
7. Клиническая лабораторная диагностика: Справочник для врачей / В. В. Медведев, Ю. З. Волчек / Под ред. В. А. Яковлева. – Санкт-Петербург : Гиппократ, 2006. – 360 с.
8. *Колб В. Г.* Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – 2 изд., перераб. и доп. – Минск : Беларусь, 1982. – С. 81–87.
9. Доклінічні дослідження лікарських засобів (метод. рекомендації). За ред. чл.-кор. НАМН України О. В. Стефанова. – Київ : ВД «Авіцена», 2001. – 528 с.
10. Кількісний вміст флавоноїдів у рослинах роду ліщина / Т. М. Гонтова, О. П. Хворост, В.В. Беліков [та ін.] // Фармац. журн. – 1995. – № 6. – С. 65–66.
11. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / Тараховский Ю. С., Ким Ю. А., Абдрасилов Б. С., Музафаров Е. Н.; [отв. ред. Е. И. Маевский]. – Пущино : Synchrobook, 2013. – 310 с.
12. Биофлавоноиды и их значение в ангиологии. Фокус на диосмин / В. Ю. Богачев, О. В. Голованова, А. Н. Кузнецов, А. О Шекоян // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2013. – Т. 19, № 1. С. 73–81.

Г. С. Каленіченко, Л. М. Малоштан

Скринінгове дослідження антикоагулянтної, мембраностабілізуючої та протизапальної активності густого екстракту з листя ліщини звичайної

Проведено скринінгові дослідження фармакологічної активності густого екстракту з листя ліщини звичайної. Досліджено антикоагулянтну, мембраностабілізуючу та протизапальну активності.

Визначено, що екстракт збільшує час згортання крові в дослідженні *in vitro* та проявляє виражену антикоагулянтну дію в дослідженні *in vivo* методом Бюркера. Встановлено виражену мембраностабілізуючу активність на моделі спонтанного гемолізу еритроцитів за Ягером, яка перевищила ефективність препарату порівняння. Доведено, що на моделі карагенінового набряку лап щурів густий екстракт з листя ліщини проявляє протизапальну активність на початковому етапі запалення (виділення вазоактивних медіаторів), і не впливає на простагландинову фазу запалення.

Отримані результати дозволили встановити умовно-терапевтичну дозу густого екстракту з листя ліщини звичайної, яка може бути використана для подальшого дослідження ефективності екстракту за умов експериментальної патології.

Ключові слова: екстракт з листя ліщини звичайної, лікарські рослини, фармакологічний скринінг

А. С. Калениченко, Л. Н. Малоштан

Скрининговое исследование антикоагулянтной, мембраностабилизирующей и противовоспалительной активности густого экстракта из листьев лещины обыкновенной

Проведены скрининговые исследования фармакологической активности густого экстракта из листьев лещины обыкновенной. Исследована антикоагулянтная, мембраностабилизирующая и противовоспалительная активности.

Определено, что экстракт увеличивает время свертывания крови в исследовании *in vitro* и проявляет выраженное антикоагулянтное действие в исследовании *in vivo* методом Бюркера. Установлена выраженная мембраностабилизирующая активность на модели спонтанного гемолиза эритроцитов по Ягерю, которая превысила эффективность препарата сравнения. Доказано, что на модели карагенинового отека лап крыс густой экстракт из листьев лещины проявляет противовоспалительную активность на начальном этапе воспаления (выделение вазоактивных медиаторов), и не влияет на простагландиновую фазу воспаления.

Полученные результаты позволили установить условно-терапевтическую дозу густого экстракта из листьев лещины обыкновенной, которая может быть использована в дальнейшем исследовании эффективности экстракта в условиях экспериментальной патологии.

Ключевые слова: экстракт из листьев лещины обыкновенной, лекарственные растения, фармакологический скрининг

A. S. Kalenichenko, L. N. Maloshtan

Screening study of anticoagulant, membrane stabilizing and anti-inflammatory activity of the thick extract from the leaves of corylus avellana

A screening research of the pharmacological activity of the thick extract from the leaves of Corylus avellana has been conducted. It has been studied anticoagulant, anti-inflammatory and membrane stabilizing activities.

It has been determined that the extract increases the clotting time in experiment *in vitro* and shows a pronounced anticoagulant activity in experiment *in vivo* by Burker. It was determined that on the model of spontaneous hemolysis of red blood cells by Jager, the extract has membrane stabilizing activity that exceeded the efficacy of comparative drug. It has been proved that, on the model of karrageenan edema on rats, the thick extract of leaves of Corylus avellana exhibits anti-inflammatory activity in the initial stage of inflammation (secretion of vasoactive mediators), and does not affect prostaglandin phase of inflammation.

The results allowed to establish conditionallyi-therapeutic dose of thick extract from the leaves of Corylus avellana, that can be used for further research of the efficiency of the extract in experimental pathology.

Key words: extract from the leaves of of Corylus avellana, medicinal plants, pharmacological screening

Надійшла: 28 січня 2016 р.

Контактна особа: Каленіченко Ганна Станіславівна,аспірант, кафедра фізіології та анатомії людини, Національний фармацевтичний університет, буд. 12, вул. Мельникова, м. Харків, 61000. Тел.: + 38 0 95 327 60 32. Електронна пошта: anna.geiderikh@list.ru тел.

УДК 615.244:57.04

К. О. Калько[1], С. М. Дроговоз[1], Д-М. В. Пазюк[2]

Циркадіанна залежність впливу карсилу на активність маркерів цитолізу та вміст відновленого глутатіону за умов хронодетермінованого парацетамолового гепатиту

[1]Національний фармацевтичний університет, м. Харків
[2]Рівненський державний базовий медичний коледж

Ключові слова: печінка, маркери цитолізу, карсил, хроноефективність

Незважаючи на прогрес в області гепатології та медицини в цілому гепатобіліарні захворювання займають лідируючі позиції серед хвороб органів ШКТ, що зумовлено сучасним стилем життя, якістю продуктів харчування, необґрунтованою поліпрагмазією, екологічною ситуацією та ін. [1, 2]. Гепатопротектори – група препаратів, що часто застосовуються в терапії захворювань гепатобіліарної системи, інтегральний фармакологічний ефект яких визначається комплексом антиоксидантної, мембраностабілізуючої, протизапальної, детоксикаційної та імуностимулюючої активностей. Виразність ефектів цих препаратів певною мірою залежить від циркадіанних (добових) ритмів діяльності печінки та організму в цілому [3].

Дослідження циркадіанної залежності виразності фармакологічної активності гепатопротекторів допоможе встановити хронопортрети останніх, а врахування хроноособливостей даних препаратів дозволить оптимізувати терапію захворювань печінки та жовчовивідних шляхів. Натепер особливості хронопортретів гепатопротекторів не відомі, що зумовило проведення досліджень з метою їхнього встановлення.

Мета дослідження – встановлення циркадіанної залежності впливу карсилу на активність маркерів цитолізу та вміст відновленого глутатіону (ВГ) за умов хронодетермінованого парацетамолового гепатиту.

Об'єктом дослідження було обрано рослинний гепатопротектор на основі флавоноїдів розторопші – карсил. Причиною вибору саме даного препарату були його доведена ефективність з позицій доказової медицини (ступеня В та С), суттєвий рівень продажів на ринку України серед інших гепатопротекторів та дані маркетингових досліджень, проведених у країнах Європи, щодо вибору пацієнтами карсилу як найпопулярнішого гепатопротектора для самолікування [4]. Вищенаведене підтверджує актуальність проведення хронофармакологічних досліджень з метою встановлення хронопортрету карсилу.

Матеріали та методи. Циркадіанну залежність впливу карсилу на активність маркерів цитолізу в сироватці крові та вміст відновленого глутатіону в гепатоцитах щурів досліджували у весняний сезон на моделі хронодетермінованого однодобового парацетамолового гепатиту. Тварин утримували в розпліднику ЦНДЛ НФаУ (м. Харків) за стандартних умов температурного режиму, вологості повітря та світлового режиму, що відповідав природній тривалості світлового дня 12–13 год. Модельну патологію викликали одноразовим внутрішньошлунковим введенням парацетамолу в дозі 1000 мг/кг у вигляді суспензії на 2 % крохмальному гелі в наступні години доби: 03.00, 09.00, 15.00 та 21.00. Карсил застосовували в лікувально-профілактичному режимі (за 1 год до введення

© Колектив авторів, 2016

парацетамолу та через 2 год після, внутрішньошлунково на індиферентному розчиннику воді) в ефективній діючій дозі 100 мг/кг [5]. В експерименті використано 96 щурів-самиць по 8 особин у кожній з циркадіанних груп: інтактного контролю, модельної патології та тварин, яким вводили карсил. Евтаназію щурів (під тіопенталовим наркозом), забор крові та печінки проводили через 24 год після введення парацетамолу. Ступінь цитотоксичної дії парацетамолу та ефект карсилу оцінювали за маркерами цитолізу гепатоцитів – активністю аланінамінотрансферази (АлАТ) та аспартатамінотрансферази (АсАТ) у сироватці крові та за вмістом ВГ, ураховуючи участь його в процесах біотрансформації токсичних метаболітів парацетамолу [6]. Уміст відновленого глутатіону (ВГ) визначали в гомогенаті печінки за модифікованим методом G. L. Ellman [7], активність трансаміназ у сироватці крові – за реакцією Райтмана-Френкеля з використанням стандартних наборів виробництва НВП «Філісіт-Діагностика» (Україна) [8].

З метою нівелювання впливу світлового фактора на синтез мелатоніну у вечірній та нічний період досліди проводили під інфрачервоною лампою [9]. Дані обробляли статистично за допомогою програми «Statistica 8,0». Використовували непараметричний критерій Манна-Уїтні. У разі порівняння статистичних показників було прийнято рівень значущості $p < 0,05$ [10].

Усі маніпуляції та евтаназію тварин проводили відповідно до міжнародних та національних вимог (Страсбург, 1986 р., Київ, 2001 р.) [11]. Протокол дослідження схвалено локальним етичним комітетом (протокол від 18 березня 2015 р. № 3).

Результати та їх обговорення. Відомо, що токсичність парацетамолу залежить від часу доби, коли відтворюється модель даного гепатиту, що свідчить про циркадіанну залежність його токсичної дії [12]. Найбільшу токсичну дію парацетамолу за вищевказаними критеріями спостерігали при моделюванні патології в ранкові (09.00) та вечірні (21.00) години: реєстрували достовірне зростання активності АлАТ у 2,5 та 3,4 разу і АсАТ – у 3,0 та 3,4 разу відносно відповідних циркадіанних груп інтактного контролю (таблиця). Саме в дані періоди введення карсилу в лікувально-профілактичному режимі сприяло зменшенню активності АлАТ та АсАТ у 1,4 та 1,5 разу в ранковий період і в 1,4 та 1,2 разу у вечірній відповідно. Також, слід зазначити, що в ранковий та вечірній періоди реєструється зростання вмісту ВГ у 1,2 разу при застосуванні карсилу порівняно з показником тварин групи контрольної патології (таблиця).

Уведення карсилу не сприяло зменшенню активності трансміназ на тлі патології в денний та нічний періоди, коли моделювання парацетамолового гепатиту характеризувалося мінімальним розвитком цитолізу порівняно з іншими циркадіанними періодами (таблиця). Теж саме спостерігали з вмістом ВГ, який не змінювався під дією препарату в дані періоди порівняно з показниками тварин групи контрольної патології (таблиця). Вищезазначене ймовірно пов'язано з хронофармакодинамічними особливостями прояву антиоксидантної та мембраностабілізуючої активності карсилу.

Результати проведеного експерименту підтверджують наявність добових піків максимальної (акрофази) та мінімальної (батифази) фармакологічної ефективності карсилу, яка залежить від виразності ступеня патологічного процесу, що в свою чергу зумовлено впливом циркадіанних ритмів ендогенного та екзогенного характеру. Таким чином, акрофазу (найбільш виразна) активності карсилу при його застосуванні в лікувально-профілактичному режимі на тлі хронодетермінованого парацетамолового гепатиту спостерігали в ранковий та вечірній періоди, тоді як батифазу (мінімальна виразність) – в денний та нічний.

Особливості циркадіанної дії карсилу відповідають загальним принципам хронофармакології: найбільша виразність фармакологічного ефекту препарату проявляється в період значного порушення функції органу [13].

Таблиця

Циркадіанна залежність активності маркерів цитолізу в сироватці крові й рівня відновленого глутатіону в тканині печінки за умов хронодетермінованого парацетамолового гепатиту та впливу карсилу, M ± m (n = 8)

	Експериментальна група	Активність АлАТ, мкмоль/год • мл	Активність АсАТ, мкмоль/год • мл	Уміст ВГ, ум. од.
03.00	Інтактний контроль	0,97 ± 0,12	0,74±0,16	87,52 ± 8,25
	Гепатит (контрольна патологія)	1,68 ± 0,33	1,86 ± 0,22*	70,02 ± 19,78
	Зміна показника за умов патології (рази)	↑1,7	↑2,5*	–
	Гепатит + карсил	1,87 ± 0,06	1,66 ± 0,10	72,92 ± 13,40
	Зміна показника в разі застосування карсилу (рази)	–	–	–
09.00	Інтактний контроль	0,94 ± 0,05	0,75 ± 0,09	105,21 ± 11,65
	Гепатит	2,36 ± 0,44*/&	2,25 ± 0,23*/&	75,49 ± 12,45&
	Зміна показника за умов патології (рази)	↑2,5*	↑3,0*	↓1,4
	Гепатит + карсил	1,46 ± 0,17	1,42 ± 0,17**	93,72 ± 10,25
	Зміна показника в разі застосування карсилу (рази)	↓1,4	↓1,4**	↑1,2
15.00	Інтактний контроль	1,19 ± 0,09#	0,95 ± 0,05#	154,25 ± 13,52#
	Гепатит	1,26 ± 0,10	1,44 ± 0,17*	123,84 ± 8,57&
	Зміна показника за умов патології (рази)	–	↑1,5*	↓1,2
	Гепатит + карсил	1,06 ± 0,11	1,50 ± 0,08	110,19 ± 6,80
	Зміна показника в разі застосування карсилу (рази)	↓1,2	–	–
21.00	Інтактний контроль	0,87 ± 0,05	0,51 ± 0,09	78,33 ± 14,54
	Гепатит	2,92 ± 0,22*/&	1,75 ± 0,23*	68,45 ± 16,93&
	Зміна показника за умов патології (рази)	↑3,4*	↑3,4*	↓1,1
	Гепатит + карсил	1,54 ± 0,17**	1,35 ± 0,07	82,41 ± 12,21
	Зміна показника в разі застосування карсилу (рази)	↓1,5**	↓1,2	↑1,2

*Примітка. n – кількість тварин у групі; *відхилення показника достовірно значуще відрізняється від показника інтактних тварин ($p < 0,05$); **відхилення показника достовірно значуще відрізняється від показника в групі тварин з гепатитом ($p < 0,05$); #відхилення показника достовірно значуще відрізняється від мінімального показника в групі інтактних тварин ($p < 0,05$); &відхилення показника достовірно значуще відрізняється від мінімального показника в групі тварин з гепатитом ($p < 0,05$).*

Висновки

1. Максимальне зниження активності маркерів цитолізу та зростання вмісту ВГ під дією карсилу на тлі хронодетермінованого парацетамолового гепатиту спостерігали в ранковий та вечірній періоди.
2. На тлі мінімального циркадіанного збільшення активності маркерів цитолізу за умов парацетамолового гепатиту введення карсилу не змінювало величину активності АлАТ та АсАТ і вміст ВГ.
3. Циркадіанна залежність здатності карсилу зменшувати активність маркерів цитолізу та впливати на вміст ВГ на тлі хронодетермінованого парацетамолового гепатиту ймовірно зумовлена хронофармакодинамічними особливостями реалізації антиоксидантної і мемраностабілізуючої дії препарату.

1. Влияние препарата глутаргин на клинико-биохимические показатели у больных острым вирусным гепатитом А / А. О. Соломенник, Е. В. Юрко, Е. И. Могиленець, К. И. Никитина // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2010 – № 4. – С. 107–109.
2. *Tong X.* Circadian rhythms in liver physiology and liver diseases / X. Tong, L. Yin // Compr Physiol. – 2013. – № 3. – P. 917–940.
3. *Дроговоз С. М.* Фармакология в помощь студенту, провизору и врачу: учебник-справочник / С. М. Дроговоз, С. Ю. Штриголь, Е. Г. Щекина. – Харьков : Титул, 2013. – 900 с.
4. *Матвеев А. В.* Гепатопротекторы. Анализ международных исследований по препаратам группы лекарств для печени / А. В. Матвеев. – Симферополь : ИТ «Ариал», 2013 – 384 с.
5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под. ред. док. мед. наук. А. Н. Миронова. – Москва : Гриф и К, 2012. – Ч. 1. – 944 с.
6. Біохімія: підручник / за загальною редакцією проф. А. Л. Загайко, проф. К. В. Александрової. – Харків : Вид-во «Форт», 2014 – 728 с.
7. *Пустовалова Л. М.* Практикум по биохимии / Л. М. Пустовалова. – Ростов на Дону : Феникс, 1999. – 544 с.
8. *Камышников В. С.* Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. / В. С. Камышников.– Минск : Беларусь, 2000. – Т. 1. – 495 с.
9. *Семененко С. Б.* Особливості структури хроноритмів екскреторної функції нирок за умов гіперфункції шишкоподібної залози / С. Б. Семененко // Буковинський медичний вісник. – 2014. – Т. 18, № 2 (70).– С. 99–101.
10. *Реброва О. Ю.* Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA – [3 изд.] / О. Ю. Реброва. – Москва : МедиаСфера, 2006. – 312 с.
11. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації / За ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – Київ : ВД «Авіцена», 2001. – 528 с.
12. *Дроговоз С. М.* Оптимізація режиму прийому пара-ацетамінофенолу з врахуванням біоритмів печінки: інфор. лист Укрмедпатентінформу МОЗ України № 276-2015 / С. М. Дроговоз, К. О. Калько, Н. В. Захарко – Київ, 2015. – 4 с.
13. Хронофармакология наглядно (Хронофармакология в таблицах и рисунках): Справочник – учебное пособие / С. М. Дроговоз [и др.]. – Харьков : Титул, 2014. – 128 с.

К. О. Калько, С. М. Дроговоз, Д-М.В. Пазюк

Циркадіанна залежність впливу карсилу на активність маркерів цитолізу та вміст відновленого глутатіону за умов хронодетермінованого парацетамолового гепатиту

Мета дослідження – встановлення циркадіанної залежності впливу карсилу на активність маркерів цитолізу та вміст відновленого глутатіону (ВГ) за умов хронодетермінованого парацетамолового гепатиту. Оскільки в патогенезі пошкоджуючої дії парацетамолу спостерігається зростання активності маркерів цитолізу в сироватці крові та зменшення вмісту ВГ у гепатоцитах, то саме за ступенем зміни величин вищевказаних показників під дією препарату можна оцінити виразність прояву ним антиоксидантної та мембранопротекторної активностей, які є ключовою складовою гепатопротекторного ефекту. Дослідження проводили на самицях щурів на моделі гострого парацетамолового гепатиту, який відтворювали одноразовим введенням парацетамолу (1000 мг/кг внутрішньошлунково) у наступні періоди доби: ранковий (09.00), денний (15.00), вечірній (21.00) та нічний (03.00). Карсил вводили в лікувально-профілактичному режимі в дозі 100 мг/кг внутрішньошлунково за 1 год до введення парацетамолу та через 2 год після нього. Активність маркерів цитолізу в сироватці крові та вміст ВГ у тканині печінки визначали через 24 год після введення ксенобіотика.

Встановлено, що максимальне зниження активності маркерів цитолізу та зростання вмісту ВГ під дією карсилу на тлі хронодетермінованого парацетамолового гепатиту спостерігається в ранковий та вечірній періоди. На тлі мінімального циркадіанного збільшення активності маркерів цитолізу за умов парацетамолового гепатиту введення карсилу не змінювало величину активності АлАТ та АсАТ і вмісту ВГ. Циркадіанна залежність здатності карсилу зменшувати активність маркерів цитолізу та впливати на вміст ВГ на тлі хронодетермінованого парацетамолового гепатиту ймовірно зумовлена хронофармакодинамічними особливостями реалізації антиоксидантної й мемраностабілізуючої дії даного препарату. Особливості циркадіанної дії карсилу відповідають загальним принципам хронофармакології: найвиразніший фармакологічний ефект препарату проявляється в період значного порушення функції органу.

Ключові слова: печінка, маркери цитоліза, карсил, хроноефективність

Е. А. Калько, С. М. Дроговоз, Д-М. В. Пазюк

Циркадианная зависимость влияния карсила на активность маркеров цитолиза и содержание восстановленного глутатиона в условиях хронодетерминированного парацетамолового гепатита

Цель исследования – определение циркадианной зависимости влияния карсила на активность маркеров цитолиза и содержание восстановленного глутатиона (ВГ) в условиях хронодетермини-

рованного парацетамолового гепатита. Поскольку в патогенезе повреждающего действия парацетамола наблюдается увеличение активности макеров цитолиза в сыворотке крови и уменьшение содержания ВГ в гепатоцитах, то именно по степени изменения величин вышеуказанных показателей под действием препарата можно оценить выраженность проявления им антиоксидантной и мембранопротекторной активностей, которые являются ключевыми составляющими гепатопротекторного эффекта. Исследования проводили на самках крыс на модели острого парацетамолового гепатита, который воспроизводили однократным внутрижелудочным введением парацетамола в дозе 1000 мг/кг в такие периоды суток: утренний (09.00), дневной (15.00), вечерний (21.00) и ночной (03.00). Карсил вводили внутрижелудочно в дозе 100 мг/кг в лечебно-профилактическом режиме за 1 час до введения парацетамола и через 2 часа после. Определение активности маркеров цитолиза в сыворотке крови и содержания восстановленного глутатиона в ткани печени осуществляли через 24 ч после введения ксенобиотика.

Установлено, что максимальное снижение активности маркеров цитолиза и увеличение уровня ВГ под действием карсила на фоне хронодетерминированного парацетамолового гепатита наблюдается в утренний и вечерний периоды. На фоне минимального циркадианного увеличения активности маркеров цитолиза в условиях парацетамолового гепатита введение карсила не изменяло величину активности АлАТ и АсАТ и содержание ВГ. Особенности циркадианного действия карсила соответствуют общим принципам хронофармакологии: наибольшая выраженность фармакологического эффекта препарата проявляется в период значительного нарушения функции органа.

Ключевые слова: печень, маркеры цитолиза, карсил, хроноэффективность

K. O. Kalko, S. M. Drogovoz, D-M. V. Paziuk

Circadian dependence of karsil effect on the cytolysis markers activity and reduced glutathione content under time-determined paracetamol hepatitis

Aim of the study is the definition of circadian dependence of karsil effect on the cytolysis markers activity and content of reduced glutathione (RG) under the condition of time-determined paracetamol hepatitis. Because on the pathogenesis of the paracetamol damaging effect an increasing activity of cytolysis markers in the blood serum and decreasing of RG content in hepatocytes are observed, the degree of changes the above mentioned indicators under the influence of the karsil make it possible to assess key components of it's hepatoprotective effect: the parameters of antioxidant and membrane protective activities. The study was conducted on female rats using the model of acute paracetamol hepatitis that reproduced by the single intragastrical administration of paracetamol (1000 mg/kg) in such day periods: morning (09.00), day (15.00), evening (21.00) and night (03.00). Karsil (100 mg/kg) was administered in therapeutical and preventive mode, i. e. 1 hour before the administration of paracetamol and 2 hours after. The determination of cytolysis markers activity in the blood serum and content of reduced glutathione in liver tissue of animals was carried out 24 hours after administration of the xenobiotic.

It was found that the maximum decreasing of the cytolysis markers activity and increasing of the RG level under karsil on the background of time-determined paracetamol hepatitis were observed in the morning and evening periods. Against the background of minimal circadian increasing of the cytolysis markers activity under paracetamol hepatitis the administration of karsil did not change the magnitude of ALT and AST activity and the content of RG. Features of karsil circadian action consistent with the general chronopharmacology principles: the greatest intensity of the pharmacological effect of the drug manifests in a period of significant organ dysfunction.

Key words: liver, cytolysis markers, karsil, chronoeffectiveness

Надійшла: 21 січня 2016 р.

Контактна особа: Калько К. О., Національний фармацевтичний університет, буд. 12, вул. Мельникова, м. Харків. Тел.: + 38 0 96 943 17 94. Електронна пошта: kalko_sonkina@mail.ru

УДК 615.015:615.21/26:615.033:616.831:616-092.9

В. Д. Лук'янчук[1], Д. С. Кравець[2], І. Й. Сейфулліна[3], К. М. Міщенко[2], О. Е. Марцинко[3]

Порівняльна характеристика переходу потенційного церебропротектора з центральної камери кінетичної моделі розподілу до периферичних у нормі та на моделі закритої черепно-мозкової травми

[1]Державна установа «Інститут фармакології та токсикології Національної академії медичних наук України», м. Київ

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

[3]Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

Ключові слова: фармакокінетика, розподіл, органи, церебропротектор, черепно-мозкова травма

Механічні ушкодження черепа та головного мозку, зокрема, закрита черепно-мозкова травма (ЗЧМТ), займають лідируючі позиції серед причин смертності та інвалідизації потерпілих працездатного віку, особливо у великих промислових регіонах країни, де травматизм набуває характеру епідемії. Особливістю ЗЧМТ є різноманіття клінічних проявів та стійка інвалідизація [1, 2].

Усе це вказує на актуальність проблеми пошуку та розробки засобів патогенетичного лікування ЗЧМТ, а також лікарської профілактики вторинних ушкоджень головного мозку.

Проведеними раніше комплексними дослідженнями [3–5] доведено високу фармакотерапевтичну ефективність нової координаційної сполуки на основі германію та діетилентриамінпентаоцтової кислоти з натрієм (ВІТАГЕРМ-2) у ранньому посттравматичному періоді на моделі ЗЧМТ.

Відомо, що розробка нового лікарського засобу неможлива без наявності даних щодо його фармакокінетичного профілю. Це обґрунтовує необхідність проведення даного фрагмента роботи з визначення параметрів фармакокінетики сполуки ВІТАГЕРМ-2.

Мета дослідження – дати порівняльну характеристику процесу переходу ВІТАГЕРМ-2 з центральної камери кінетичної моделі розподілу до периферичних у межах багаточасткової фармакокінетичної моделі в нормі та за умов ЗЧМТ.

Матеріали та методи. Експерименти проводили на білих нелінійних щурах обох статей масою 160–200 г. ЗЧМТ моделювали за методикою В. Д. Лук'янчука та співавт. [6]. ВІТАГЕРМ-2 застосовували одноразово інтраперитонеально у вигляді 1 % розчину в раніше розробленому режимі дозування [7].

Усі параметри фармакокінетики ВІТАГЕРМ-2 вивчали в порівняльному аспекті, а саме: у нетравмованих щурів (норма) та за умов ЗЧМТ відповідно до методичних рекомендацій [8].

Кількісне визначення ВІТАГЕРМ-2 у біосубстратах, які досліджували (кров, головний мозок, печінка, серце, легені, нирки), проводили за методикою [9] у динаміці через 1, 3, 6, 12 і 24 год від моменту нанесення щурам ЗЧМТ.

Отримані в експерименті параметри фармакокінетики обробляли статистично на комп'ютері з використанням програми Microsoft Excel за допомогою критерію t Стьюдента ($P \leq 0,05$).

Результати та їх обговорення. Після абсорбції в кров ВІТАГЕРМ-2 відповідно до градієнта концентрації розподіляється по різним органам та тканинам. Варто зауважити, що етап розподілу ВІТАГЕРМ-2, як і будь-якого препарату в організмі, є динамічним процесом, і його направленість багато в

© Колектив авторів, 2016

чому визначається співвідношенням вмісту ксенобіотика в місці аплікації, а якщо мова йде про інтраперитонеальний шлях введення щурам, який прирівнюється до внутрішньовенного в людини, як це має місце у випадку з ВІТАГЕРМ-2, то треба також враховувати співвідношення концентрацій препарату в крові та органах.

Відомо, що характер розподілу лікарських засобів в організмі залежить від фізико-хімічних властивостей сполуки, ступеня васкуляризації тканин, а також, що важливо, від наявності патологічного процесу та його особливостей. Ураховуючи останній чинник, проведено дослідження етапу фармакокінетики, що характеризує перехід ВІТАГЕРМ-2 з центральної камери (кров) кінетичної моделі розподілу в периферичні (органи) у порівняльному аспекті, тобто в «нормі» та за умов моделювання екстремального стану (ЗЧМТ).

Отримані в експерименті та розраховані фармакокінетичні параметри, які характеризують процес переходу ВІТАГЕРМ-2 з центральної камери, тобто з системного кровотоку, у периферичні камери (органи, тканини) за умов експерименту, що досліджується, надано в таблиці.

Встановлено, що в щурів після отримання черепно-мозкової травми період напіврозподілу ВІТАГЕРМ-2 на 10,4 % менший порівняно з «нормою». Поясненням таких змін фармакокінетичного параметра може бути пошкодження гістогематичних бар'єрів під дією механічної травми. Одним з механізмів зменшення часу переходу ВІТАГЕРМ-2 з центральної камери до периферичних за умов порушення проникності гістогематичних бар'єрів може бути активація неконтрольованого збільшення вмісту вільних радикалів, яке спричиняє інтенсифікацію процесу переоксидації фосфоліпідів мембран клітин за умов ЗЧМТ, які відділяють у капілярах кров від тканин, що васкуляризують останні.

При інтенсифікації процесів ліпопереокиснення в мембранах клітин гістогематичних бар'єрів відбувається різке збільшення проникності для речовин з різною молекулярною масою, а отже, не виключено, що для ВІТАГЕРМ-2 також. При цьому варто зробити два акценти, по-перше, гематоенцефалічний бар'єр є одним з різновидів гістогематичного, а по-друге, усі вказані вище ланки механізму формування тканинної проникності відбуваються, що є вже добре відомим фактом, на фоні структурно-функціональної неспроможності компонентів системи антиоксидантного захисту організму в ранньому періоді травматичної хвороби головного мозку.

Обговорюючи причини зменшення періоду напіврозподілу ВІТАГЕРМ-2

Таблиця

Фармакокінетичні параметри, що характеризують процес переходу ВІТАГЕРМ-2 з центральної камери в периферичні за внутрішньоочеревинного введення в дозі 123 мг/кг (n = 7)

Параметр	Позначка, розмірність	Група тварин		P
		«Норма»	Закрита черепно-мозкова травма	
Період напіврозподілу	$t_{1/2}$,α, хв	1,25 ± 0,11	1,12 ± 0,10	P < 0,05
Константа швидкості прямого масопереносу	K_{12}, хв$^{-1}$	0,29 ± 0,02	0,33 ± 0,03	P > 0,05
Константа швидкості зворотного масопереносу	K_{21}, год$^{-1}$	0,34 ± 0,02	0,46 ± 0,03	P < 0,05
Об'єм розподілу в центральній камері	V_d, л	0,73 ± 0,05	0,77 ± 0,06	P > 0,05
Площа під кінетичною кривою	AUC, мг•год•мл$^{-1}$	304,61 ± 24,32	250,53 ± 21,12	P < 0,01

між кров'ю та органами в разі ЗЧМТ, не можна обійти увагою ще одну обставину, від якої залежить величина фармакокінетичного параметра, що аналізується. Справа в тому, що згідно з класичними уявленнями про механізм кровопостачання внутрішніх органів і тканин за умов такого тяжкого невідкладного стану, як ЗЧМТ, має місце порушення судинного тонусу, у результаті чого виникає виразна вазодилатація як резистивних, так і венозних судин, що, як відомо, є основою патогенезу колапсу, який є невід'ємним компонентом шокового стану при травмах різного генезу.

Аналіз швидкості прямого масопереносу ВІТАГЕРМ-2, тобто його перехід з крові в органи, показує (таблиця), що на тлі механічного пошкодження головного мозку величина даного фармакокінетичного параметра збільшується на 13,79 % порівняно з «нормою», але ця різниця не є вірогідною ($P > 0,05$). Проте встановлена тенденція до збільшення прямого масопереносу ВІТАГЕРМ-2 у разі ЗЧМТ у певному сенсі віддзеркалює характер змін раніше проаналізованого параметра – періоду напіврозподілу потенційного церебропротектора за умов експерименту. Тому не доцільно піддавати обговоренню зміни величин констант швидкостей прямого масопереносу в порівнюваних групах.

Результати визначення констант швидкості зворотного масопереносу (таблиця) свідчать, що черепно-мозкова травма призводить до достовірного ($P < 0,05$) збільшення величини даного параметра відносно групи «здорових» тварин на 35,29 %.

На нашу думку, основним механізмом збільшення зворотного масопереносу ВІТАГЕРМ-2 у разі ЗЧМТ є, головним чином, зміщення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в бік перекисних процесів, які сприяють збільшенню проникності практично всіх гістогематичних бар'єрів як для різних ендогенних речовин, так і для ВІТАГЕРМ-2.

Вкрай важливою кількісною характеристикою розподілу в організмі будь-якого ксенобіотика, у тому числі й лікарського засобу, є уявний об'єм розподілу. Цей фармакокінетичний параметр вказує, як відомо, на гіпотетичний об'єм рідини, у якому може розподілитися вся введена доза лікарського засобу, щоб утворилася концентрація, яка дорівнює початковій уявній концентрації в крові. Іншими словами, уявний об'єм розподілу вказує на відношення введеної дози, тобто загальної кількості препарату в організмі, до його концентрації в крові.

Розраховані величини об'ємів розподілу ВІТАГЕРМ-2 у центральній камері в обох порівнюваних групах наведено в таблиці, з якої видно, що даний показник за умов експерименту залишається незмінним. Цей факт можна пояснити тим, що швидкості прямого та зворотного масопереносу в обох досліджуваних групах суттєво не відрізняються. Це сприяє досягненню приблизно однакового рівня концентрації ВІТАГЕРМ-2 між кров'ю та органами як у нормі, так і в разі ЗЧМТ.

Приблизно однакові величини V_d на тлі травми голови та в «нормі» можуть свідчити про здатність ВІТАГЕРМ-2 накопичуватись в органах і тканинах. Іншими словами, потенційний церебропротектор має тенденцію до матеріальної кумуляції, не дивлячись на те, що є сполукою гідрофільною. Цей факт, на перший погляд, може видаватися дещо алогічним. Проте слід наголосити на порівняно великій молекулярній масі ВІТАГЕРМ-2 та великій просторовій структурі молекули цієї сполуки, і саме як координаційної, яка включає три компоненти: германій, натрій та діетилентриамінпентаоцтову кислоту.

Таке пояснення знаходить своє підтвердження в загальновідомому факті, що навіть водорозчинні сполуки з великою молекулярною масою здатні до кумуляції. У цьому сенсі доречно згадати головну причину суттєвого обмеження показань до застосування такого водорозчинного препарату, як Гемодез, основу хімічної будови якого складає високомолекулярний полівінілпіролідон, який має виразні кумулятивні властивості в органах і, особливо, у нирках [10, 11].

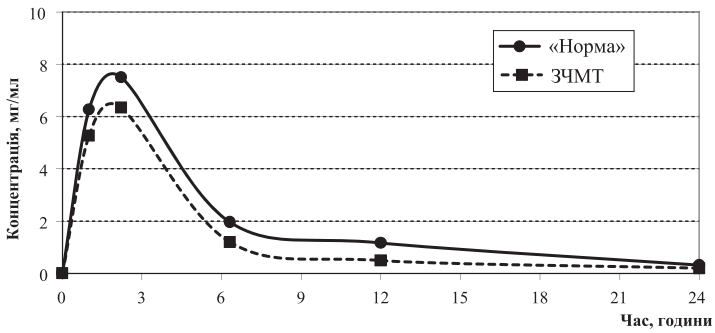


Рисунок. Концентрація ВІТАГЕРМ-2 у сироватці крові щурів у «нормі» та за умов закритої черепно-мозкової травми після внутрішньоочеревинного введення в дозі 123 мг/кг

Важливо порівняти такий фармакокінетичний параметр, як площа під кінетичною кривою, яка побудована за результатами визначення кінетики концентрації ВІТАГЕРМ-2 у крові щурів у «нормі» та в разі ЗЧМТ. Параметр розраховано на підставі кривої, що побудована в координатах «концентрація – час» і наведена на рисунку.

Вважаємо за необхідне наголосити, що даний фармакокінетичний параметр має суттєві відмінності в обох порівнюваних групах. Так, у тварин, що отримали механічну травму голови, величина AUC на 17,75 % менша порівняно з «нормою» ($P < 0,01$).

Отже, за отриманими величинами AUC в обох групах, що порівнюються, можна дійти висновку, що ЗЧМТ дійсно є тим реальним чинником, який модифікує фармакокінетику ВІТАГЕРМ-2. Підґрунтям для такого роду твердження є саме різниця між величинами AUC в «нормі» та в разі ЗЧМТ, оскільки даний параметр є інтегральним і достатньо об'єктивно віддзеркалює сукупний стан таких фармакокінетичних параметрів ВІТАГЕРМ-2, що характеризують процеси абсорбції, елімінації та етап розподілу потенційного церебропротектора в організмі щурів.

Висновки

1. Встановлено низку фармакокінетичних параметрів, що характеризують процес переходу потенційного засобу лікування наслідків ЗЧМТ – ВІТАГЕРМ-2 з центральної камери (кров) кінетичної моделі розподілу в периферичні (органи) при ЗЧМТ порівняно з нормою.
2. За умов ЗЧМТ відбувається достовірна модифікація кінетики ВІТАГЕРМ-2: зменшення величин періоду напіврозподілу та площі під кінетичною кривою, а також збільшення константи швидкості зворотного масопереносу.

1. *Мамытова Э. М.* Клинико-эпидемиологические особенности острой черепно-мозговой травмы / Э. М. Мамытова, М. М. Мамытов, М. Ж. Сулайманов // Вестник КРСУ. – 2014. – Т. 14, № 5. – С. 94–97.
2. Health-related quality of life during the first year after severe brain trauma with and without polytrauma / M. Lippertgruner, M. Maegele, H. Haverkamp [et al.] // Brain Inj. – 2012. – V. 21 (5). – P. 451–455.
3. Скринінговий аналіз координаційних сполук германію на моделі закритої черепно-мозкової травми / В. Д. Лук'янчук, О. І. Ніженковський, В. С. Федорова [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – № 6. – С. 63– 68.
4. *Лукьянчук В. Д.* Влияние потенциального церебропротектора ВИТАГЕРМ-2 на комплексообразующие свойства сывороточных белков при закрытой черепно-мозговой травме [Электронный ресурс] / В. Д. Лукьянчук, А. И. Ниженковский, Д. С. Кравец // Медицина и образование в Сибири (Электронный научный журнал). – 2013. – № 2. – Режим доступу: http://www.ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=953.
5. Пат. 83323 Україна. Спосіб фармакокорекції закритої черепно-мозкової травми комплексною сполукою на основі германію і діетилентриамінпентаоцтової кислоти з натрієм. В. Д. Лук'янчук, О. І. Ніженковський, В. С. Федорова, І. Й. Сейфулліна // Бюл. – 2013. – № 17.
6. Патент на корисну модель 13678, Україна, МПК G09B 23/28. Спосіб моделювання черепно-мозкової травми (В. Д. Лук'янчук, О. В. Шевчук, О. В. Бадінов. – № u 2005 09483; заяв. 10.10.05; Опубл. 17.04.06, Бюл. № 4. – 8 с.

7. Разработка дозового режима ВИТАГЕРМ-2 при закрытой черепно-мозговой травме с использованием многофакторного регрессионного анализа / В. Д. Лукьянчук, В. Й. Кресюн, А. И. Ниженковский [и др.] // Журнал АМН України. – 2013. – № 1. – С. 104–108.
8. Методические рекомендации по компьютерным расчетам фармакокинетических параметров лекарственных средств (линейные частевые модели) / Н. Я. Головенко, В. Д. Лукьянчук, О. В. Жук [и др.]. – Киев : Государственный научно-экспертный центр лекарственных средств, 1999. – 70 с.
9. *Кресюн В. Й.* Екстракційно-фотометричне визначення мікрокількостей германію у тканинах експериментальних тварин / В. Й. Кресюн, Г. Г. Відавська, К. Ф. Шемонаєва // Одеський медичний журнал. – 2000. – № 6 (62). – С. 7–11.
10. *Шевченко А. А.* Инфузионно-трансфузионная терапия (из прошлого в настоящее) / Шевченко А. А. // Медицина неотложных состояний. – 2006. – № 4 (5). – С. 132–139.
11. *Гуменюк Н. И.* Инфузионная терапия. Теория и практика / Н. И. Гуменюк, С. Н. Киркилевский. – Киев : Книга плюс, 2004. – 208 с.

В. Д. Лук'янчук, Д. С. Кравець, І. Й. Сейфулліна, К. М. Міщенко, О. Е. Марцинко

Порівняльна характеристика переходу потенційного церебропротектора з центральної камери кінетичної моделі розподілу до периферичних у нормі та на моделі закритої черепно-мозкової травми

Механічні ушкодження черепа та головного мозку, зокрема, закрита черепно-мозкова травма (ЗЧМТ), займають лідируючі позиції серед причин смертності та інвалідизації потерпілих працездатного віку. Тому проблема пошуку та розробки засобів патогенетичного лікування ЗЧМТ, а також лікарської профілактики вторинних ушкоджень головного мозку є актуальною.

Раніше проведеними комплексними дослідженнями доведено високу фармакотерапевтичну ефективність нової координаційної сполуки на основі германію та діетилентриамінпентаоцтової кислоти з натрієм (ВІТАГЕРМ-2) у ранньому посттравматичному періоді на моделі ЗЧМТ.

Мета дослідження – дати порівняльну характеристику процесу переходу ВІТАГЕРМ-2 з центральної камери кінетичної моделі розподілу до периферичних у межах багаточасткової фармакокінетичної моделі в нормі та за умов ЗЧМТ.

Отримані в експерименті дані дозволили встановити низку фармакокінетичних параметрів, що характеризують процес переходу потенційного засобу лікування наслідків ЗЧМТ – ВІТАГЕРМ-2 з центральної камери (кров) кінетичної моделі розподілу в периферичні (органи) в разі ЗЧМТ порівняно з нормою.

Експериментально доведено, що за умов ЗЧМТ відбувається достовірна модифікація кінетики ВІТАГЕРМ-2, а саме: зменшення величин періоду напіврозподілу та площі під кінетичною кривою, а також збільшення константи швидкості зворотного масопереносу.

Ключові слова: фармакокінетика, розподіл, органи, церебропротектор, черепно-мозкова травма

В. Д. Лукьянчук, Д. С. Кравец, И. И. Сейфуллина, Е. М. Мищенко, Е. Э. Марцинко

Сравнительная характеристика перехода потенциального церебропротектора из центральной камеры кинетической модели распределения в периферические в норме и на модели закрытой черепно-мозговой травмы

Механические повреждения черепа и головного мозга, в том числе закрытая черепно-мозговая травма (ЗЧМТ), занимают лидирующие позиции среди причин смертности и инвалидизации пострадавших трудоспособного возраста. Поэтому проблема поиска и разработки средств патогенетического лечения ЗЧМТ, а также лекарственной профилактики вторичных повреждений головного мозга является актуальной.

Ранее проведенными комплексными исследованиями доказана высокая фармакотерапевтическая эффективность нового координационного соединения на основе германия и диэтилентриаминпентауксусной кислоты с натрием (ВИТАГЕРМ-2) в раннем посттравматическом периоде на модели ЗЧМТ.

Цель исследования – провести сравнительную характеристику процесса перехода ВИТАГЕРМ-2 из центральной камеры кинетической модели распределения в периферические в пределах многочастевой фармакокинетической модели в норме и при ЗЧМТ.

Полученные в эксперименте данные позволили установить ряд фармакокинетических параметров, характеризующих процесс перехода потенциального средства лечения последствий ЗЧМТ – ВИТАГЕРМ-2 из центральной камеры (кровь) кинетической модели распределения в периферические (органы) при ЗЧМТ в сравнении с нормой.

Экспериментально доказано, что при ЗЧМТ происходит достоверная модификация кинетики ВИТАГЕРМ-2: уменьшение величин периода полураспределения и площади под кинетической кривой, а также увеличение константы скорости обратного массопереноса.

Ключевые слова: фармакокинетика, распределение, органы, церебропротекторы, черепно-мозговая травма

V. D. Lukyanchuk, D. S. Kravets, I. I. Seifullina, K. M. Mishchenko, O. E. Martsinko

Comparative characteristics of the potential cerebroprotector transition from the central chamber of kinetic distribution model to peripheral ones in norm and in traumatic intracranial injury model

Mechanical damages of the skull and brain, including closed head injury (intracranial injury), occupy a leading position among the causes of death and disability in the working-age victims. Therefore, the problem of finding and developing of the pathogenetic therapy of intracranial injury and drug prevention of secondary brain damage is definitely currently interesting nowadays.

Our comprehensive study proved earlier the high efficiency of the new pharmacotherapeutic coordination compound based on germanium and dietilentriaminpentacetic acid with sodium (VITAGERM-2) in the early posttraumatic period at the model of intracranial injury.

The purpose of research – the comparative characteristic of the transition VITAGERM-2 from the central chamber of the kinetic model of distribution to peripheral ones within multipart pharmacokinetic model in norm and in craniocerebral injury.

The experimental data allowed to establish a number of pharmacokinetic parameters characterizing the process of transition of the potential drug for intracranial injury treatment – VITAGERM-2 from the central chamber (blood) kinetic model of distribution to the peripheral (organs) under craniocerebral injury in comparison with the norm.

The reliable modification of VITAGERM-2 pharmacokinetics by reducing the value of the half-distribution period and area under the kinetic curve, as well as an increase in the rate constant of return mass transfer was proved.

Key words: pharmacokinetics, distribution, cerebroprotectors, traumatic intracranial injury

Надійшла: 28 грудня 2015 р.

Контактна особа: Міщенко Катерина Михайлівна, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, буд. 13, бульв. Тараса Шевченка, м. Київ, 01601. Тел : + 38 0 50 657 37 87.

УДК: 616.831.3:542.943:616-008.9:615.32:582.711.714:615.451.1:638.171-092.9

Н. О. Мархонь, В. І. Жилюк, В. Й. Мамчур, А. Е. Лєвих

Стан процесів вільнорадикального окиснення в неокортексі щурів з метаболічним синдромом за умов застосування ресвератролу, пропіленгліколевих екстрактів горобини та маточного молочка

Державний заклад «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України»

Ключові слова: метаболічний синдром, перекисне окиснення ліпідів, окисна модифікація білка, супероксиддисмутаза, стабільні метаболіти оксиду азоту, ресвератрол, пропіленгліколеві екстракти, горобина, маточне молочко

Останнім часом усе більше досліджень присвячено виявленню ролі окисного стресу в розвитку метаболічного синдрому (МС) та пов'язаних з ним патологій, що може стати додатковою мішенню комплексної терапії цього стану. Прийнято вважати, що основним патофізіологічним механізмом гормональних і метаболічних порушень, об'єднаних терміном МС, є залежність від резистентності до інсуліну, проте, є докази, що свідчать про тісний зв'язок між МС, станом хронічного низькорівневого запалення та окиснювальним стресом (ОС) [1].

Помірна активація окиснювальних реакцій лежить в основі оновлення ліпідів біологічних мембран і модифікації їхніх функцій. Обумовлена гіперглікемією і збільшенням кількості субстрату для окиснення, гіперпродукція вільних радикалів поліненасичених жирних кислот на фоні зниження активності системи антиоксидантного захисту (САОЗ) обумовлює утворення окиснених форм ліпідів з високим атерогенним потенціалом [2]. Подальше збільшення рівня продуктів окисної модифікації біологічних молекул вносить вклад у патогенез МС і сприяє розвитку та прогресуванню його ускладнень [3]. У свою чергу, ОС також сприяє розвитку та зростанню інсулінорезистентності – основного патогенетичного фактора МС. При цьому збільшення вмісту кінцевих продуктів глікозилювання, рівня вільних радикалів при недостатності САОЗ, підвищення активності сорбітолового шляху перетворення глюкози та зміни синтезу простаноїдів сприяють розвитку нерегульованого окиснювального стресу в органах та тканинах організму [4].

Порушення балансу між продукцією активних форм кисню (АФК) та активністю САОЗ за умов недостатнього кровопостачання головного мозку призводить до розвитку ОС. Головний мозок містить велику кількість поліненасичених жирних кислот, що легко окиснюються з утворенням токсичних похідних. Завдяки цьому відбувається активація каскаду реакцій, що викликають хаотичну (по типу некрозу при гострій ішемії), або запрограмовану (апоптоз при легкому і відстроченому пошкодженні) смерть клітини [5, 6]. Гіперпродукція АФК призводить до розвитку різноманітних порушень нейрональних функцій [6]. ОС тісно пов'язаний не лише з МС, а й з чисельними захворюваннями, у тому числі нейродегенеративними [7], так як мозок і, зокрема, гіпоталамус є центральним регулятором метаболічного гомеостазу і водночас важливою мішенню окисного стресу.

Можна припустити, що адекватне пригнічення процесів вільнорадикального окиснення може бути ефективним підходом до корекції порушених функцій при метаболічному синдромі і, зокрема, – мозкових. У хворих на МС та цереброваскулярну патологію клі-

© Колектив авторів, 2016

нічно встановлено терапевтичну ефективність такого відомого антиоксидантного засобу, як мексидол [4].

Сьогодні перспективним шляхом корекції явищ оксидативного стресу є використання фіто- та апіпрепаратів. Адже вони завдяки вмісту біофлавоноїдів, каротиноїдів, есенціальних жирних кислот та ін. є природними антиоксидантами і легко вступають у метаболічні процеси в організмі та практично не викликають побічних реакцій, характерних для засобів синтетичного походження [8–10]. Прикладом цього є доведена висока антиоксидантна та органопротекторна активність ресвератролу, що є видом натурального фенолу, фітоалексином, який продукують деякі рослини у відповідь на вплив патогенів – бактерій або грибів. Він міститься у шкірці винограду, деяких фруктів, у какао, арахісі, різних рослинах, особливо в корінні Фаллопії Японської (Горця Гострокінцевого) [11]. Антиоксидантні властивості досліджені також і в маточного молочка [12]. Також відомо, що плоди горобини звичайної (*Sorbus aucuparia*) представляють собою сировину, яка містить у великих кількостях каротиноїди, рутин, аскорбінову кислоту, флавоноїди (похідні кверцетину та кемпферолу), ізомери кофеоїлхінних кислот, що забезпечують високий антиоксидантний потенціал цієї рослинної лікарської сировини [13, 14]. У дослідженні використані пропіленгліколеві екстракти плодів горобини звичайної та маточного молочка. Особливістю пропіленгліколевих екстрактів є їхня властивість утримувати як гідрофільні, так і гідрофобні речовини, і таким чином виявляти всі лікувальні властивості сировини [15].

Мета дослідження – визначити вплив ресвератролу та пропіленгліколевих екстрактів горобини та маточного молочка на перебіг процесів окиснення біологічних молекул, а також на активність систем антиоксидантного захисту та обмін оксиду азоту в неокортексі щурів з метаболічним синдромом.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на 34 білих щурах самцях лінії Вістар масою 180–220 г (вік 9–10 тижнів), яких утримували в стандартних умовах віварію (температура повітря (22 ± 2) °С, світлий/темний цикл: 12/12 год). МС моделювали шляхом повної заміни питної води на 60 % розчин фруктози (Galam Ltd, Ізраїль) протягом 6 тижнів [16]. Упродовж наступних 2 тижнів на фоні високофруктозної дієти експериментальним тваринам 1 раз на добу внутрішньошлунково вводили досліджувані препарати. У ході експерименту щурів було розподілено на 5 груп: I – інтактні щури (пасивний контроль, очищена водопровідна вода + 1 % розчин крохмалю 1,5 мл/кг), n = 6; II – тварини з експериментальним МС (активний контроль, 60 % розчин фруктози + 1 % розчин крохмалю 1,5 мл/кг), n = 6; III – МС + ресвератрол («Евелор», Агетіс Сапліментс ЛТД, Кіпр), 20 мг/кг, n = 8; IV – МС + екстракт плодів горобини звичайної (ТОВ «НВК «Віларус», Україна), 1,5 мл/кг, n = 7; V – МС + екстракт маточного молочка (ТОВ «НВК «Віларус», Україна), 1,5 мл/кг, n = 7. Для отримання однорідної суспензії ресвератролу для внутрішньошлункового введення використано 1 % розчин крохмалю.

На 56 добу тварин виводили з експерименту шляхом декапітації. У корі великих півкуль мозку після гомогенізації за допомогою спектрофотометра СФ-56 вивчали активність процесів вільнорадикального окиснення біологічних молекул, стан системи антиоксидантного захисту та обмін оксиду азоту.

Інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у тканині неокортексу визначали за вмістом продукту процесів пероксидації – малонового діальдегіду (МДА) [17, 18]. Інтенсивність процесів окисної модифікації білка (ОМБ) оцінювали за накопиченням ранніх маркерів деструкції білкових молекул – альдегідфенілгідразонів (АФГ) та пізніх маркерів – кетонфенілгідразонів (КФГ) [19]. Про стан системи антиоксидантного захисту організму свідчила активність ключового ферменту – супероксиддисмутази (СОД) [21]. Процеси обміну оксиду азоту (NO) оцінювали за сумарним рівнем нітритів і нітратів (NO_x) [20–22].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою програми статистичного аналізу StatPlus, AnalystSoft, версія 2006. Математична обробка включала розрахунки середнього арифметичного значення (M), похибки середнього (± m), вірогідність різниці середніх арифметичних (p). Статистичні відмінності між групами порівняння визначали за допомогою непараметричного U- критерію Манна-Уітні.

Усі експериментальні дослідження на тваринах проводили відповідно до загальноприйнятих біоетичних норм з дотриманням відповідних правил ICH/GLP, відповідно до законодавства України (Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження»), правил Європейської Конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та з іншою науковою метою (Strasbourg, 1986).

Результати та їх обговорення. Згідно з отриманими результатами, формування та перебіг метаболічного синдрому в щурів, ініційованого високофруктозною дієтою, супроводжувалися активацією процесів вільнорадикального окиснення ліпідів та білків у клітинах кори великих півкуль головного мозку. Свідченням цього було зростання рівнів МДА, АФГ і КФГ на 131,3 % ($p < 0,01$), 80,8 % ($p < 0,05$) та 170,6 % ($p < 0,01$) відповідно до аналогічного показника групи інтактних тварин (таблиця).

Водночас на фоні активації процесів ліпопероксидації та окисної модифікації білка в щурів з метаболічним синдромом відбувалося зниження на 50,5 % ($p < 0,05$) активності СОД та зростання на 64,7 % ($p < 0,01$) умісту стабільних метаболітів оксиду азоту (таблиця).

Встановлено, що курсове, протягом 14 діб, внутрішньошлункове введення ресвератролу в дозі 20 мг/кг супроводжувалося зменшенням проявів оксидативної напруги в неокортексі, що проявлялося зниженням концентрації МДА, АФГ та КФГ на 33,6 % ($p < 0,05$), 36,2 % ($p < 0,05$) та 53,3 % ($p < 0,05$) відповідно. Одночасно відмічали й зниження на 46,9 % ($p < 0,05$) умісту стабільних метаболітів оксиду азоту. Характерно, що дані явища не супроводжувалися змінами активності СОД (таблиця).

Уведення пропіленгліколевого екстракту плодів горобини звичайної

Таблиця

Уміст продуктів окисної модифікації білка, малонового діальдегіду, стабільних метаболітів оксиду азоту та активність СОД у неокортексі щурів за умов експериментального метаболічного синдрому та застосування ресвератролу, пропіленгліколевих екстрактів плодів горобини звичайної та маточного молочка

Експериментальна група	СОД, од акт. /мг білка	МДА, нмоль/ мг білка	АФГ, у. о./ г білка	КФГ, у. о./ г білка	NO_x, мкмоль/л
Метаболічний синдром (контроль), n = 6	0,530 ± 0,076*	9,990 ± 1,135**	0,470 ± 0,022*	0,920 ± 0,060**	18,040 ± 1,794**
Інтактні тварини (вода), n = 6	1,070 ± 0,169	4,320 ± 0,519	0,260 ± 0,046	0,340 ± 0,046	10,950 ± 0,298
Метаболічний синдром + ресвератрол 20 мг/кг, n = 8	0,500 ± 0,105	6,630 ± 0,641#	0,300 ± 0,044#	0,430 ± 0,071##	9,580 ± 1,035#
Метаболічний синдром + екстракт плодів горобини звичайної + 1,5 мл/кг, n = 7	2,040 ± 0,394#	6,170 ± 0,958#	0,270 ± 0,035#	0,370 ± 0,057##	12,260 ± 0,327##
Метаболічний синдром + маточне молочко + 1,5 мл/кг, n = 7	2,410 ± 0,386##	4,930 ± 0,870#	0,260 ± 0,034##	0,410 ± 0,052##	12,360 ± 0,605##

*Примітка. *$p < 0,05$, **$p < 0,01$ до показників групи інтактних тварин, #$p < 0,05$, ##$p < 0,01$ до показників тварин групи контролю.*

(1,5 мл/кг) також сприяло пригніченню інтенсивності проявів оксидативного стресу в корі великих півкуль тварин з метаболічним синдромом. Так, використання цього фітотерапевтичного засобу супроводжувалося суттєвим зниженням у 1,4 разу ($p < 0,05$) концентрації МДА, а також у 1,4 разу ($p < 0,05$) та 1,6 разу ($p < 0,01$) рівнів ранніх та пізніх маркерів ОМБ. При цьому вміст NO_x на 32 % ($p < 0,01$) був нижчим за значення показника тварин групи активного контролю. Водночас активність СОД у неокортексі за даних умов експерименту зростала в 3,85 разу ($p < 0,05$).

Подібні зміни показників маркерів ліпопероксидації, окисної модифікації білка та стабільних метаболітів NO були зафіксовані й у групі тварин, що отримували пропіленгліколевий екстракт маточного молочка. Так, рівні МДА, АФГ, КФГ і NO_x на 50,6 % ($p < 0,05$), 41,8 % ($p < 0,05$), 55,4 % ($p < 0,05$) та 31,5 % ($p < 0,01$) відповідно були нижчими від значень групи тварин з метаболічним синдромом. При цьому активність СОД у цій групі зростала в 4,60 разу ($p < 0,01$).

Таким чином, перебіг метаболічного синдрому, індукованого високофруктозною дієтою, сприяє розвитку окисної напруги в нейронах неокортексу щурів, яка виявляється збільшенням вмісту продуктів ліпопероксидації, окиснювальної модифікації білка, метаболізму оксиду азоту на фоні зниження активності системи антиоксидантного захисту й співпадають з результатами інших дослідників [23]. Найімовірнішим шляхом розвитку оксидативного стресу за умов високофруктозної дієти можуть бути процеси глікації (реакція Майяра) – неензиматичне глікозилювання, у яких карбонільні групи редукуючих вуглеводів взаємодіють з аміногрупами біомолекул. Глікацію вважають однією з імовірних причин різноманітних ускладнень та швидкого старіння. Одночасно, добре відомо, що фруктоза є більш сильним відновником і активніше вступає в реакції глікації, ніж глюкоза [24]. Характерно, що курсове внутрішньошлункове введення ресвератролу, а також пропіленгліколевих екстрактів горобини звичайної та маточного молочка співставно знижує прояви оксидативної напруги, що виникають у тканинах неокортексу внаслідок перебігу даної моделі метаболічного синдрому. Водночас характерною рисою для пропіленгліколевих екстрактів маточного молочка та плодів горобини звичайної на відміну від ресвератролу була наявність впливу на активність одного з ключових ферментів системи антиоксидантного захисту – супероксиддисмутази. При цьому вплив екстракту плодів горобини звичайної може бути опосередкований наявністю в її плодах природних антиоксидантів: флавонолів, антоціанів, β-каротину та амігдаліну, здатних нівелювати активність вільних радикалів [25]. Також більш ранніми дослідженнями на інших експериментальних моделях була встановлена активність препаратів маточного молочка, яка асоціювалася зі зменшенням концентрації супероксид-аніона, гідроксильних радикалів та малонового діальдегіду, зростанням рівнів відновленого глутатіону, підвищенням активності глутатіон-S-трансферази, глутатіонпероксидази та супероксиддисмутази [26–28]. Крім того, пілотні клінічні дослідження показали, що в пацієнтів з цукровим діабетом II типу окрім антиоксидантних ефектів застосування маточного молочка сприяє також поліпшенню показників глікемічного контролю (рівню глюкози, глікозильованого гемоглобіну, інсуліну) [29]. Слід відмітити, що встановлені нами високі антирадикальні властивості природного поліфенольного фітоалексину – ресвератролу за умов індукованого фруктозою метаболічного синдрому на тлі відсутності впливу на СОД не повною мірою відповідають результатам інших досліджень, у яких відмічено зростання активності цього важливого ферменту системи антиоксидантного захисту [30, 31]. Дані відмінності можуть бути пов'язані з різними чинниками, зокрема, з перебігом відтвореної патологічної моделі, і потребують подальшого вивчення.

Висновки

1. Моделювання експериментального еквіваленту метаболічного синдрому в щурів шляхом тривалої високофруктозної дієти супроводжується розвитком оксидативного стресу в неокортексі та призводить до гіперпродукції продуктів ПОЛ, ОМБ та стабільних метаболітів оксиду азоту на фоні пригнічення системи антиоксидантного захисту.
2. Курсове призначення ресвератролу та пропіленгліколевих екстрактів плодів горобини звичайної та маточного молочка тваринам з індукованим фруктозою метаболічним синдромом сприяє зменшенню активності реакцій вільнорадикального окиснення й супроводжується активацією антиоксидантної системи в корі головного мозку різного ступеня вираженості.

1. *Bonomini F.* Metabolic Syndrome, Aging and Involvement of Oxidative Stress / F. Bonomini, L. F. Rodella, R. Rezzani // Aging and Disease. – 2015. – V. 6, № 2. – P. 109–120.
2. *Королева Е. Ф.* Состояние углеводного и липидного обмена при метаболическом синдроме: автореф. дисс. на соискание научн. степени канд. биол. наук : *спец. 03.01.04 «Биохимия»* / Королева Елена Федоровна; Нижегородская государственная медицинская академия. – Нижний Новгород, 2011. – 25 с.
3. *Васильева Л. В.* Оксидативный стресс, инсулинорезистентность и уровень лептина у больных ИБС с метаболическим синдромом / Л. В. Васильева, А. В. Донцов // Вестник новых медицинских технологий. – 2010. – Т. XVII, № 2 – С. 79.
4. *Танашян М. М.* Хронические цереброваскулярные заболевания на фоне метаболического синдрома: новые подходы к лечению / М. М. Танашян, О. В. Лагода, К. В. Антонова // Журнал неврологии и психиатрии. – 2012. – № 11. – С. 21–26.
5. Does the sympathetic nervous system contribute to the pathophysiology of metabolic syndrome? / M. C. Moreira, I. S. Pinto, A. A. Mourão [et al.] // Frontiers in Physiology. – 2015. – V. 6, № 234. – P. 1–11.
6. *Васенина Е. Е.* Окислительный стресс в патогенезе нейродегенеративных заболеваний: возможности терапии / Е. Е. Васенина, О. С. Левин // Современная терапия в психиатрии и неврологии. – 2013. – № 3–4. – С. 39–46.
7. *Dongsheng C.* Inflammatory cause of metabolic syndrome via brain stress and NF-κB / C. Dongsheng, L. Tiewen // Aging. – 2012. – V. 4, № 2. – С. 98–115.
8. Антиоксидантные свойства лекарственных растений / Громовая В. Ф., Шаповал Г. С., Миронюк И. Е. [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2008. – Т. 42, № 1. – С. 26–29.
9. *Иванова В. Д.* Биологическая активность экстрактов из лекарственного растительного сырья / В. Д. Иванова, И. Л. Ясинская // Материалы I Междун. научн. конференции: «Лекарственные растения: фундаментальные и прикладные проблемы». – 2013, г. Новосибирск, 21–22 мая 2013 г.– С. 381–383.
10. Флавоноиды лекарственных растений: прогноз антиоксидантной активности [Электронный ресурс] / В. А. Куркин, В. В. Поройков, А. В. Куркина [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 2 (часть 2). – Режим доступа: http://science-education.ru/ru/article/view?id=23252.
11. *Казаков Ю. М.* Місце евелору (ресвератролу) у антиоксидантній терапії / Ю. М. Казаков, Н. І. Чекаліна, Є. Є. Петров // Вісник ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія». – 2013. – Т. 13, № 4 (44). – С. 236–242.
12. Antioxidant properties of enzymatic hydrolysates from royal jelly / T. Nagai, R. Inoue, N. Suzuki [et al.] // J. Med. Food. – 2006. – V. 9, № 3. – P. 363–367.
13. *Gil-Izquierdo A.* Identification and quantitation of flavonols in rowanberry (*Sorbus aucuparia L.*) juice / A. Gil-Izquierdo, A. Mellenthin // Eur. Food Res. Technol. – 2001. – V. 213. – P. 12–17.
14. Каротиноиды, хлорогеновые кислоты и другие природные соединения плодов рябины / И. А. Гостищев, В. И. Дейнека, И. П. Анисимович [и др.] // Научные ведомости БелГУ. Сер. Естественные науки. – 2010. – № 3 (74). – С. 83–92.
15. *Камаева С. С.* Выбор концентрации пропиленгликоля в пероральной лекарственной форме / С. С. Камаева, Г. Ю. Меркурьева, Д. В. Степанов // Здоровье – основа человеческого потенциала – проблемы и пути их решения. – 2013. – Т. 8, № 2. – С. 986–987.
16. Impact of early fructose intake on metabolic profile and aerobic capacity of rats [Електронний ресурс] / A. C. Ghezzi, L. T. Cambri, C. Ribeiro [et al.] // Lipids in Health and Disease. – 2011. – V.10, № 3. – Режим доступу до журн.: http://www.lipidworld.com/content/10/1/3.
17. *Андреева Л. И.* Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л. И. Андреева, Л. А. Кожемякин, А. А. Кишкун // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–46.
18. *Коган В. С.* Проблема анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов / В. С. Коган, О. Н. Орлов, Л. Л. Прилипко. – Москва : Медицина, 1988. – 287 с.
19. *Беленичев И. Ф.* Роль окислительной модификации белков в когнитивно-мнестических нарушениях у крыс, подвергшихся острому иммобилизационному стрессу / И. Ф. Беленичев, С. В. Павлов // Запорожский медицинский журнал. – 2005. – № 3 (30). – С.125.

20. *Чевари С.* Роль супероксиддисмутазы в окислительных процесах клетки и методы ее определения в биологическом материале / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 678–681.
21. *Поливода С. М.* Спосіб визначення оксиду азоту / С. М. Поливода, О. О. Черепок, О. В. Войтович // Промислова власність. – 2001. – № 7. – С. 36.
22. Тиол-дисульфидное равновесие – определяющий фактор резистентности нейронов к нитрозирующему стрессу в условиях ишемии мозга / Колесник Ю. М., Чекман И. С., Беленичев И. Ф. [и др.] // Журнал НАМН України. – 2013. – Т. 19, №1. – С. 3–11.
23. *Raza H.* Increased oxidative stress and mitochondrial dysfunction in zucker diabetic rat liver and brain / H. Raza, A. John, F. C. Howarth // Cell. Physiol. Biochem. – 2015. – V. 35, № 3. – P. 1241–1251.
24. *Лозінська Л. М.* Фруктоза як фактор розвитку карбонільного і оксидативного стресів та прискореного старіння дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* / Л. М. Лозінська, Г. М. Семчишин // Укр. біохім. журн. – 2011. – Т. 83, № 4. – С. 67–76.
25. *Aladedunye F.* Phenolic extracts from *Sorbus aucuparia (L.)* and *Malus baccata (L.)* berries: antioxidant activity and performance in rapeseed oil during frying and storage / F. Aladedunye, B. Matthäus // Food Chem. – 2014. – V. 15 (159). – P. 273–281.
26. Royal jelly modulates oxidative stress and apoptosis in liver and kidneys of rats treated with cisplatin [Електронний ресурс] / A. Karadeniz, N. Simsek, E. Karakus [et al.] // Oxid. Med. Cell. Longev. – 2011. – V. 2011:981793. – Режим доступу: doi: 10.1155/2011/981793.
27. Royal jelly modulates oxidative stress and tissue injury in gamma irradiated male Wister Albino rats / K. S. Azab, M. Bashandy, M. Salem [et al.] // N. Am. J. Med. Sci. – 2011. – V. 3, № 6. – P. 268–276.
28. Royal jelly peptides inhibit lipid peroxidation *in vitro* and *in vivo* / H. Guo, A. Ekusa, K. Iwai [et al.] // J. Nutr. Sci. Vitaminol. – 2008. – V. 54, № 3. – P. 191–195.
29. Effects of royal jelly supplementation on glycemic control and oxidative stress factors in type 2 diabetic female: a randomized clinical trial / S. Pourmoradian, R. Mahdavi, M. Mobasseri [et al.] // Chin. J. Integr. Med. – 2014. – V. 20, № 5. – P. 347–352.
30. Resveratrol attenuates oxidative damage and ameliorates cognitive impairment in the brain of senescence-accelerated mice / G. S. Liu, Z. S. Zhang, B. Yang, W. He // Life Sci. – 2012. – V. 9, № 17–18. – P. 872–877.
31. Effects of resveratrol on morphology and oxidative stress of brain tissues in aging mice / Y. Cui, B. Zhang, R. Zhang [et al.] // Wei Sheng Yan Jiu. – 2013. – V. 42, № 6. – P. 995–998, 1003.

Н. О. Мархонь, В. І. Жилюк, В. Й. Мамчур, А. Е. Лєвих

Стан процесів вільнорадикального окиснення у неокортексі щурів з метаболічним синдромом за умов застосування ресвератролу, пропіленгліколевих екстрактів горобини та маточного молочка

Мета дослідження – визначити вплив ресвератролу та пропіленгліколевих екстрактів (ПГЕ) горобини й маточного молочка на перебіг процесів окиснення біологічних молекул, а також на активність систем антиоксидантного захисту та обмін оксиду азоту в неокортексі щурів з метаболічним синдромом.

Дослідження проводили на білих щурах самцях лінії Вістар з метаболічним синдромом, індукованим високофруктозною дієтою (60 % розчин фруктози протягом 56 діб). Дослідні засоби (ресвератрол, 20 мг/кг, n = 8 та ПГЕ горобини, 1,5 мл/кг, n = 7 і маточного молочка, 1,5 мл/кг, n = 7) вводили внутрішньошлунково впродовж 14 останніх днів експерименту 1 раз на 1 добу. Спектрофотометрично в гомогенатах неокортексу визначали активність супероксиддисмутази (СОД), а також вміст малонового діальдегіду (МДА), альдегідфенілгідразонів (АФГ), кетонфенілгідразонів (КФГ) та сумарний рівень нітритів і нітратів (NO_x).

Встановлено, що високофруктозна дієта сприяла збільшенню на 131,3 % ($p < 0,01$), 80,8 % ($p < 0,05$), 170,6 % ($p < 0,01$) та 64,7 % ($p < 0,01$) рівнів МДА, АФГ, КФГ та NO_x, а також зниженню на 50,5 % ($p < 0,05$) активності СОД у неокортексі. Курсове введення ресвератролу в дозі 20 мг/кг призводило до зниження рівнів МДА, АФГ, КФГ і NO_x на 33,6 % ($p < 0,05$), 36,2 % ($p < 0,05$), 53,3 % ($p < 0,05$) та 46,9 % ($p < 0,05$) відповідно, хоча і не супроводжувалося виразними змінами активності СОД. Використання ПГЕ горобини звичайної та маточного молочка призводило до суттєвого зниження в 1,40 та 1,51 разу ($p < 0,05$) відповідно вмісту МДА, а також у 1,40 разу ($p < 0,05$) та 1,6 разу ($p < 0,01$) рівнів ранніх та пізніх маркерів ОМБ і в 1,32 разу – NO_x ($p < 0,01$). При цьому активність СОД у неокортексі за даних умов експерименту зростала в 3,85 разу ($p < 0,05$) при використанні ПГЕ горобини та в 4,60 разу ($p < 0,01$) при введенні ПГЕ маточного молочка.

Таким чином, ресвератрол, а також ПГЕ горобини звичайної та ПГЕ маточного молочка виразно пригнічують прояви оксидативного стресу, що виникають внаслідок перебігу метаболічного синдрому. Суттєве зниження вмісту МДА, АФГ та КФГ на тлі відсутності впливу на активність СОД за умов введення ресвератролу може свідчити про наявність власних високих антирадикальних властивостей цього природного фітоалексину.

Ключові слова: метаболічний синдром, перекисне окиснення ліпідів, окисна модифікація білка, супероксиддисмутаза, стабільні метаболіти оксиду азоту, ресвератрол, пропіленгліколеві екстракти, горобина, маточне молочко

Н. А. Мархонь, В. И. Жилюк, В. И. Мамчур, А. Э. Левых

Состояние процессов свободнорадикального окисления в неокортексе крыс с метаболическим синдромом в условиях применения ресвератрола, пропиленгликолевых экстрактов рябины и маточного молочка

Цель исследования – определить влияние ресвератрола и пропиленгликолевых экстрактов (ПГЭ) рябины и маточного молочка на процессы окисления биологических молекул, а также на активность систем антиоксидантной защиты и обмен оксида азота в неокортексе крыс с метаболическим синдромом.

Исследования проводили на белых крысах самцах линии Вистар с метаболическим синдромом, индуцированным высокофруктозной диетой (60 % раствор фруктозы в течение 56 суток). Исследуемые средства (ресвератрол, 20 мг/кг, n = 8 и ПГЭ рябины, 1,5 мл/кг, n = 7 и маточного молочка, 1,5 мл/кг, n = 7) вводили внутрижелудочно в течение 14 последних дней эксперимента 1 раз в сутки. Спектрофотометрически в гомогенатах неокортекса определяли активность супероксиддисмутазы (СОД), а также содержание малонового диальдегида (МДА), альдегидфенилгидразонов (АФГ), кетонфенилгидразонов (КФГ) и суммарный уровень нитритов и нитратов (NO_x).

Установлено, что высокофруктозная диета способствовала увеличению на 131,3 % ($p < 0,01$), 80,8 % ($p < 0,05$), 170,6 % ($p < 0,01$) и 64,7 % ($p < 0,01$) уровней МДА, АФГ, КФГ и NO_x, а также снижению на 50,5 % ($p < 0,05$) активности СОД в неокортексе. При этом курсовое введение ресвератрола в дозе 20 мг/кг приводило к снижению уровней МДА, АФГ, КФГ и NO_x на 33,6 % ($p < 0,05$), 36,2 % ($p < 0,05$), 53,3 % ($p < 0,05$) и 46,9 % ($p < 0,05$) соответственно, хотя и не сопровождалось выразительными изменениями активности СОД. Применение ПГЭ рябины обыкновенной и маточного молочка приводило к существенному снижению в 1,40 и 1,51 раза ($p < 0,05$) соответственно содержания МДА, а также в 1,40 раза ($p < 0,05$) и 1,60 ($p < 0,01$) раза уровней ранних и поздних маркеров ОМБ и в 1,32 раза – NO_x ($p < 0,01$). При этом активность СОД в неокортексе, при данных условиях эксперимента, возрастала в 3,85 раза ($p < 0,05$) при использовании ПГЭ рябины и в 4,60 раза ($p < 0,01$) при введении ПГЭ маточного молочка.

Таким образом, ресвератрол, а также ПГЭ рябины обыкновенной и маточного молочка уменьшают проявления оксидативного стресса, возникающие вследствие метаболического синдрома. Существенное снижение содержания МДА, АФГ и КФГ на фоне отсутствия влияния на активность СОД при введении ресвератрола может свидетельствовать о наличии собственных высоких антирадикальных свойств этого фитоалексина.

Ключевые слова: метаболический синдром, перекисное окисление липидов, окислительная модификация белка, супероксиддисмутаза, стабильные метаболиты оксида азота, ресвератрол, пропиленгликолевые экстракты, рябина, маточное молочко

N. O. Markhon, V. I. Zhylyuk, V. I. Mamchur, A. E. Lievykh

State of free radical oxidation in neocortex of rats with metabolic syndrome under administration of resveratrol, propylene glycol extracts of ashberry and royal jelly

*The aim of the stud*y was to determine the influence of resveratrol and propylene glycol extracts (PGE) of ashberry and royal jelly on the course of oxidative processes of biological molecules, the activity of antioxidant protection and metabolism of nitric oxide in the neocortex of rats with metabolic syndrome.

The study was conducted on white male Wistar rats with metabolic syndrome induced by high-fructose diet (60 % fructose solution during 56 days). Experimental drugs (Resveratrol 20 mg/kg, n = 8 and PGE of ashberry, 1,5 ml/kg, n = 7 and PGE royal jelly, 1,5 ml/kg, n = 7) were administered intragastrically during the last 14 days once a day. Superoxide dismutase (SOD) activity and the contents of malonic dialdehyde (MDA), aldehydephenylhydrazones (APH), ketophenylhydrazones (KPH) and total level of nitrite and nitrate (NO_x) in homogenates of neocortex were determined by spectrophotometric assays.

It was established that high-fructose diet contributed to increase of MDA, APH, KPH and NO_x levels by 131,3 % ($p < 0,01$), 80,8 % ($p < 0,05$) 170,6 % ($p < 0,01$) and 64,7 % ($p<0,01$), and reduction of SOD activity by 50,5 % ($p < 0,05$) in neocortex. Course administration of resveratrol 20 mg/kg reduced MDA, APH, KPH and NO_x levels by 33,6 % ($p < 0,05$), 36,2 % ($p < 0,05$), 53,3 % ($p < 0,05$) and 46,9 % ($p < 0,05$) respectively, although it was not accompanied by expressed changes of SOD activity. Usage of PGE of ashberry and royal jelly resulted to a significant 1,40-fold and 1,51-fold ($p < 0,05$) reduction of MDA level, 1,40-fold ($p < 0,05$) and 1,60-fold ($p < 0,01$) reduction of early and late markers of oxidative modification of proteins, and 1,32-fold ($p < 0,01$) reduction of NO_x. Under these experimental conditions SOD activity in neocortex was increased by 3,85 times ($p < 0,05$) in case of PGE of ashberry administration and by 4,60 times ($p < 0,01$) in case of PGE of royal jelly administration.

Thus, resveratrol, PGE of ashberry and PGE of royal jelly significantly inhibit the manifestations of oxidative stress resulting from metabolic syndrome. Considerable reduction of MDA, APH and KPH along with the lack of influence on SOD activity under condition of resveratrol administration may be the evidence of own high antiradical properties of this natural phytoalexin.

Key words: metabolic syndrome, lipid peroxidation, oxidative modification of proteins, superoxide dismutase, stable nitric oxide metabolites, resveratrol, propylene glycol extracts, ashberry, royal jelly

Надійшла: 11 січня 2016 р.

Контактна особа: Мархонь Наталя Олександрівна, викладач, кафедра медичної біології, фармакогнозії та ботаніки, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», б. 9, вул. Володимира Вернадського, м. Дніпропетровськ, 49044. Тел.: + 38 0 56 713 55 53. Електронна пошта: tanana@i.ua.

УДК 615.213+615.357:004.001.57:616.832-004.2-092.9

О. О. Нефьодов[1], В. Й. Мамчур[1], В. Б. Ларіонов[2], В. С. Смандич[3]

Прогнозування в дослідах *in silico* взаємодії габапентину з метилпреднізолоном як засобів комбінованої терапії демієлінізуючих захворювань

[1]Дніпропетровська державна медична академія

[2]Фізико-хімічний інститут імені О. В. Богатського Національної академії наук України, м. Одеса

[3]Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

Ключові слова: метилпреднізолон, габапентин, комбінована терапія, комп'ютерний аналіз

За свідченням публікацій останніх років, постійним проявом розсіяного склерозу є наявність хронічних больових синдромів, частота яких, за даними різних авторів, складає 50–80 %. Патогенетичні механізми ноцицептивної передачі залежно від типу та виду болю, його часових характеристик дещо відрізняються, що визначає тактику фармакологічних підходів до терапії конкретного больового синдрому [1]. Підбір індивідуального фармакологічного лікування для кожного пацієнта залежить від багатьох факторів, що враховують джерело, причину та патофізіологічний механізм болю, а також наявність супутніх станів.

Значною помилкою в лікуванні болю є обмеження всіх терапевтичних альтернатив прийомом тільки аналгетиків [2]. Сьогодні при невропатичному болю як ад'ювантні болезаспокійливі засоби призначають антиконвульсанти, механізм дії яких пов'язують з гальмуванням проведення больової імпульсації по периферичних нервах [3, 4].

У попередніх роботах проведено аналіз знеболюючого потенціалу, змін поведінкових реакцій у тесті «відкрите поле» та стану м'язового тонусу під дією антиконвульсантів (карбамазепіну, топірамату, натрію вальпроату, габапентину та прегабаліну) за умов модельованого алергічного енцефаломієліту (МАЕ) на фоні базової терапії метилпреднізолоном. За результатами цих досліджень встановлено, що для корекції больового синдрому на фоні базової фармакотерапії метилпреднізолоном (МПЗ) доцільно рекомендувати, насамперед, габапентин та прегабалін, які виявляють виражену знеболюючу активність за умов МАЕ [5, 6]. Показано, що на фоні призначення композицій МПЗ + габапентин та МПЗ + прегабалін відбувається нормалізація рухової активності, порушеної за умов МАЕ [7]. Крім того, результати аналізу нейрохімічних змін в утвореннях мозку (активності супероксиддисмутази та рівня малонового діальдегіду) за даних умов експерименту свідчать про зниження рівня ліпопероксидації та посилення активності системи антиоксидантного захисту. Найвираженіший вплив антиконвульсантів щодо нормалізації показників вільнорадикального окиснення за умов МАЕ спостерігається на фоні введення габапентину [8].

Доцільність вивчення габапентину на зазначеній експериментальній моделі зумовлює й той факт, що препарат попереджає виникнення епілептичних припадків при індукції судом максимальним електрошоком і пентилентетразолом у мишей і щурів, а також на інших доклінічних моделях. Більш того, у експериментальних дослідженнях габапентин попереджає аллодинію та гіпералгезію і особливо больову реакцію на різних моделях невропатичного болю в щурів та мишей (моделі стрептозоцин-індукованого діабету, пошкодження спинного мозку та ін.).

© Колектив авторів, 2016

Крім цього, препарат зменшує больову реакцію на моделі периферичного запалення, але не впливає на поведінку, зумовлену болем.

У зв'язку з зазначеним вище, ми припускаємо можливість комбінованого використання метилпреднізолону (як основного засобу базової терапії) та габапентину (як ефективного болетамуючого засобу) за умов МАЕ.

Відомо, що успішне використання комбінованих лікарських засобів обмежено можливими взаємодіями індивідуальних сполук на фізико-хімічному, фармацевтичному та біологічному рівнях (фармакологічна взаємодія) та потребує попередньої оцінки можливої взаємодії та потенційної сумісності окремих фармацевтичних інгредієнтів. Нажаль, дослідження зазначених взаємодій навіть у дослідах на тваринах потребує значних затрат та певного часу. Але вирішення проблеми можна досягнути за допомогою підходів комп'ютерного моделювання (дослідження *in silico*), враховуючи взаємодію як на хімічному (утворення солей, перебіг реакцій конденсації, циклізації тощо), так і на органному рівні з урахуванням відомих механізмів розвитку біологічної відповіді.

Мета дослідження – прогнозування можливої взаємодії метилпреднізолону (основного засобу базової терапії демієлінізуючої патології) та габапентину (ефективного болетамуючого засобу) за умов їхнього комбінованого застосування.

Матеріали та методи. Аналіз кислотно-лужних властивостей проводили за допомогою програми ACD/pKa DB [9]. Молекулярну масу, розчинність, ліпофільність визначали адитивними методами з використанням комп'ютерних програм [10–12]. Типи біомішеней (рецептори, ферменти, транспортери) були визначені з використанням відповідних літературних джерел [13, 14].

Результати та їх обговорення. Взаємодія молекул визначається їхньою хімічною будовою, наявністю та реакційною здатністю певних функціональних груп, враховуючи характер електростатичної взаємодії (формування дисоціюючих солей/цвіттеріонів форм, протонування/депротонування в лімітуючих стадіях таутомерних перетворень тощо). Утворення катіонних/аніонних форм, залежне від умов pH середовища, слід визнати одним з провідних факторів, що зумовлюють можливість взаємодії розглянутих комбінаторних сполук.

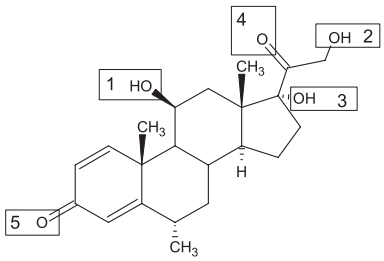
У подальшому проведено аналіз функціональних груп та реакційної спроможності досліджуваних сполук. Так, у молекулі метилпреднізолону присутні п'ять потенційних функціональних груп – три гідроксильні (1–3) і дві карбонільні (4, 5), що припускає можливість його протонування/депротонування й кислотно-лужні властивості. Рухливість протона зазначених гідроксильних груп, а також здатність до таутомерії припускають існування п'яти протолітичних форм (табл. 1).

Високі значення констант іонізації наведених форм (табл. 2) вказують на переважне знаходження в неіонізованому вигляді, що відбивається на таких фізико-хімічних характеристиках, як коефіцієнти розподілу в системах, що містять гідрофільні та ліпофільні фази. Так, для неіонізованої форми (BH_3) величина ліпофільності (logP) становить (1,99 ± 0,54), у результаті чого розрахована розчинність у воді, яка є найнижчою з усіх можливих протолітичних форм (0,13 г/л). Збільшення pH середовища і послідовне утворення заряджених форм (депротонування) призводять до збільшення гідрофільності молекули (внаслідок збільшення заряду й площі полярної поверхні, $Å^2$), підвищення розчинності у воді й пониження величини logD (табл. 2) за рахунок збільшення кількості груп – акцепторів протонів.

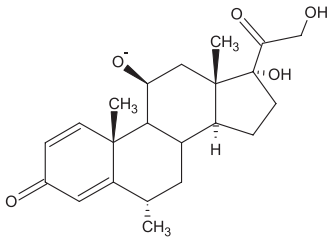
Слід зазначити, що розглянуті гідроксильні групи характеризуються слабкою кислотністю – величини pK_a для них знаходяться вище 11, що зумовлено відсутністю суттєвих негативних індукційних ефектів та низькою рухливістю відповідних гідроксильних протонів. Як було зазначено раніше, для метилпреднізолону можлива таутомерія, що призводить до

Таблиця 1

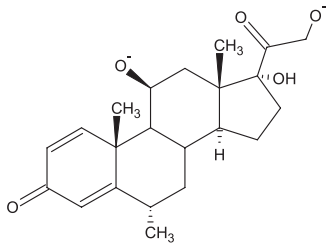
Структурна формула, функціональні групи та протолітичні форми метилпреднізолону



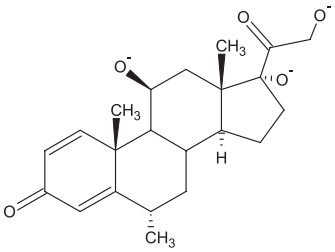
Форма [BH_4]



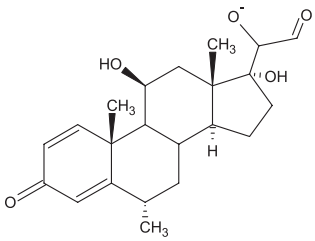
Форма BH_2^-



Форма BH^{2-}



Форма B^{3-}



Форма (таутомер) BH_2^-

утворення потенційної протолітичної форми BH^{2-} (табл. 2), проте, кислотність гідроксилу, що утворюється, статистично недостовірно відрізняється від величин pK_a інших гідроксильних груп. Можливість до таутомерії карбонільної групи в положенні 3 прегнанового скелета дуже низька, оскільки цей процес пов'язаний з труднощами при переході від конформації «крісла» цієї частини молекули до планарної ароматичної структури.

Габапентин є похідним γ-аміномасляної кислоти (ГАМК) і, подібно до всіх амінокислот, для нього властиве утворення цвіттеріонів за рахунок кислого протона карбоксильної групи (pK_a (3,68 ± 0,1) і неподіленої електронної пари азоту аміногрупи (табл. 3, 4). Лужність аміногрупи менша, ніж кислотність карбоксильної групи (pK_a становить (10,27 ± 0,29), тому при фізіологічних значеннях pH слід очікувати існування габапентину переважно у вигляді протолітичної форми B^- (табл. 3) гідрофільного характеру (logD = -1,6).

Наступним важливим етапом фармакокінетичного аспекту використання метилпреднізолону та габапентину є аналіз хімічних властивостей та можливої взаємодії. Гідроксильні групи в молекулі метилпреднізолону, як показано з розрахованих величин pK_a, мають слабку кислотність, тому можливість протікання реакцій алкілування по них (припускаючи їхню участь у реакціях нуклеофільного заміщення як алкоксиліруючих агентів) слід визнати мінімальною. Однак

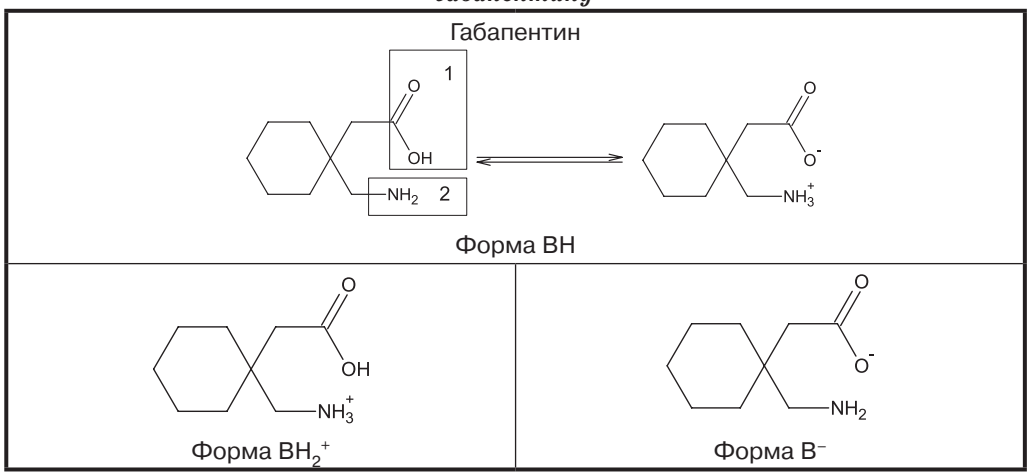
Таблиця 2

Фізико-хімічні та кислотно-лужні властивості метилпреднізолону

Показник	BH_2^-	BH^{2-}	(таутомер) BH_2^-	B^{3-}	BH_4
pK_a	14,6 ± 0,7	12,98 ± 0,10	12,5 ± 0,7	13,14 ± 0,20	–
Розчинність, г/л (25 °С)	60,4	1,01	0,31	1,4	0,13
logD (logP)	-0,69	1,08	1,6	0,47	1,99 ± 0,54
Кількість донорів протона	0	1	2	3	3
Кількість акцепторів протона	5	6	7	8	9

Таблиця 3

Структурна формула, функціональні групи та протолітичні форми габапентину

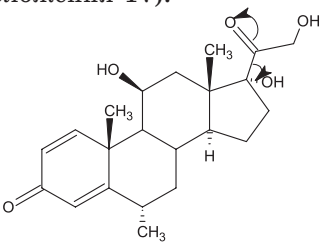


Таблиця 4

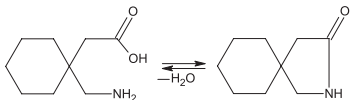
Фізико-хімічні та кислотно-лужні властивості габапентину

Показник	BH	BH_2^+	B^-
pK_a	–	3,68 ± 0,10	10,27 ± 0,29
Розчинність, г/л (25 °С)	90,8	16,23	16,33
logD (logP)	1,19	-1,52	-1,6
Кількість донорів протона	1	2	1
Кількість акцепторів протона	2	1	1

можливою є участь метилпреднізолону в реакціях нуклеофільного приєднання по карбонільному зв'язку аліфатичного замісника прегнанового кільця (положення 17):



Можливою реакцією габапентину є циклізація з утворенням циклічного 2-а спіро [4,5] декан-3-она:



Однак реакції такого типу протікають у присутності сполук, що забирають воду, або при підвищеній температурі. Крім того, утворюється циклічний амід, здатний піддаватися зворотному гідролізу з утворенням вихідної

сполуки. Розташування аміногрупи в положенні 4 також зменшує можливість спонтанного декарбоксилювання.

Фармакологічна взаємодія. Фармакологічна взаємодія розглянутих сполук може розвиватися на рівні зміни їхньої фармакокінетики (вплив на процеси всмоктування, розподілу, зв'язування з транспортними білками крові й компонентами тканин, конкуренція за специфічні системи метаболізму й зміни кліренсу) і фармакодинаміки (вплив на суміжні або однакові рецепторні системи, потенціювання або зменшення фармакологічної відповіді через функціональний антагонізм).

На процес всмоктування можуть впливати речовини, перенесення яких здійснюється однаковими транспортними системами і які подібні за хімічною будовою (мають ізостеричну структуру). Найчастіше активний транспорт характерний для ендогенних сполук, що є невід'ємним компонентом життєдіяльності організму. З цієї позиції близькими до природних сполук є метилпреднізолон (синтетичний аналог стероїдного гормона) та габапентин (амінокислотний фрагмент якого може переноситися за допомогою транспортерів аліфатичних незаряджених амінокислот і органічних аніонів OAT1, OAT2, OAT3 і OAT4).

Фармакологічний тип взаємодії реалізується переважно за рахунок однакових (або пересічних) механізмів дії, впливу на однакові рецепторні системи, пригнічення/індукції синтезу ферментів, що регулюють метаболічні реакції. У зв'язку з цим необхідним є розгляд механізмів дії даних сполук.

Метилпреднізолон взаємодіє зі специфічними цитоплазматичними рецепторами, стимулює синтез специфічних мРНК та призводить до утворення ліпокортину, який гальмує активність фосфоліпази A_2 і пригнічує вивільнення простагландинів, ендоперекисів, лейкотрієнів (фактори запалення), пригнічує активність циклооксигенази (ЦОГ), головним чином ЦОГ-2, знижує проникність капілярів, викликає стабілізацію мембран і зменшення вивільнення протеолітичних ферментів. У високих дозах метилпреднізолон може підвищувати збудливість тканин мозку й сприяти зниженню порога судомної готовності. Протишокову та антитоксичну дію пов'язують з підвищенням артеріального тиску (за рахунок збільшення концентрації циркулюючих катехоламінів та відновлення чутливості до них адренорецепторів, а також вазоконстрикції), зниженням проникності судинної стінки, мембранопротекторними властивостями, активацією ферментів печінки, що беруть участь у метаболізмі ендо- та ксенобіотиків. Метилпреднізолон стимулює надлишкову продукцію соляної кислоти й пепсину в шлунку.

Габапентин за будовою подібний до ГАМК, проте його механізм дії відрізняється від інших препаратів, що взаємодіють з ГАМК-рецепторами (вальпроєва кислота, барбітурати, бензодіазепіни, інгібітори ГАМК-трансамінази, інгібітори захоплення ГАМК, агоністи ГАМК і пролікарські форми ГАМК). Він не має ГАМК-ергічних властивостей і не впливає на захоплення та метаболізм ГАМК. Механізмами дії габапентину при нейропатичному болі є зменшення глутаматзалежної загибелі нейронів, збільшення синтезу ГАМК, гальмування вивільнення нейротрансмітерів моноамінової групи. Габапентин у клінічно значущих концентраціях не зв'язується з рецепторами інших поширених препаратів або нейротрансмітерів, включаючи рецептори $ГАМК_A$, $ГАМК_B$, бензодіазепіну, глутамату, гліцину або N-метил-D-аспартату, проте має модулюючий вплив на NMDA-рецептори, блокує $\alpha 2\delta$-субодиницю кальцієвих каналів, перешкоджаючи взаємодії з тромбоспондином, знижує вивільнення моноамінів, зменшує синтез і транспорт глутамату, сприяє зменшенню частоти потенціалів дії периферичних нервів.

Висновок

У представленій комбінації «метилпреднізолон-габапентин» відсутні можливі взаємодії як на фізико-хімічному рівні (при комбінації в лікарській формі), так і на рівні фармакокінетичних стадій. Сумісне застосування метилпреднізолону й габапентину може призводити до зменшення терапевтичної дії останнього внаслідок підвищення порога судомної готовності мозку метилпреднізолоном.

1. Utilization and patients perception of the effectiveness of pain treatments in multiple sclerosis: a cross-sectional survey / Ehde D. M., Alschuler K. N., Osborne T. L. [et al.] // Disabil Health J. – 2015. – V. 8. – P. 452–456.
2. Алгоритми клінічного використання болетамуючих засобів (наркотичних та ненаркотичних анальгетиків) при гострому та хронічному синдромі. Методичні рекомендації / О. П. Вікторов, О. В. Макаренко, В. Й. Мамчур, С. М. Дронов. – Київ : ДЕЦ України, 2011. – 56 с.
3. A systematic review of pharmacological pain management in multiple sclerosis / Jawahar R., Oh U., Yang S., Lapane K.L. // Drugs. – 2013. – V. 73 (15). – P. 1711–1722.
4. *Brune K.* Mode of action peripherical analgesic / Brune K., Lanz K. // Arzneimittel – Forsch. – 1984. – V. 34, № 9 a. – P. 1060–1065.
5. *Нефьодов О. О.* Зміни аналгетичного потенціалу антиконвульсантів за умов експериментального еквіваленту розсіяного склерозу / О. О. Нефьодов, В. Й. Мамчур // Вісник проблем біології і медицини. – 2015. – Вип. 3, Т. 1 (122). – С. 161–164.
6. *Нефьодов О. О.* Експериментальний алергічний енцефаломієліт: особливості знеболюючої терапії та місце антиконвульсантів у якості анальгетиків / О. О. Нефьодов, В. Й. Мамчур // Медичні перспективи. – 2015. – Т. XX, № 4. – С. 4–10.
7. *Нефьодов О. О.* Вивчення впливу антиконвульсанта габапентину на поведінкові реакції у щурів за умов експериментального еквіваленту розсіяного склерозу / О. О. Нефьодов // Матеріали науково-практичної конференції «Фундаментальна та клінічна медицина», 20–22 травня 2015 р. – Київ, 2015. – С. 45–46.
8. *Нефьодов О. О.* Вплив засобів нейропротективно-антиоксидантного комплексу на орієнтовно-дослідницьку активність щурів з експериментальним алергічним енцефаломієлітом у тесті «відкрите поле» / О. О. Нефьодов // Одеський медичний журнал. – 2015. – № 5 (151). – С. 14–19.
9. ACD/pKaDB http://www.whocc.no/atc_ddd_index/
10. Dissolution Methods, Food and Drug Administration http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp_SearchResults_Dissolutions.sfm?PrintAll=1/
11. DrugBank http://www.drugdfnk.ca/drugs/
12. PubChem substance http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/
13. *Головенко Н. Я.* Физико-химическая фармакология. – Одесса : Астропринт, 2004. – 720 с.
14. Neuropathic Pain: Pathophysiology and Treatment, Progress in Pain Research and Management / Hansson P., Fields H., Hill R., Marchettini P. (eds) // Seattle, WA : IASP Press. – 2001. – V. 21. – P. 151–167.

О. О. Нефьодов, В. Й. Мамчур, В. Б. Ларіонов, В. С. Смандич

Прогнозування в дослідах *in silico* взаємодії габапентину з метилпреднізолоном як засобів комбінованої терапії демієлінізуючих захворювань

Мета дослідження – прогнозування можливої взаємодії метилпреднізолону (основного засобу базової терапії демієлінізуючої патології) та габапентину (ефективного болетамуючого засобу) за умов їхнього комбінованого застосування.

Кислотно-лужні властивості, величини молекулярної маси, ліпофільності, розчинності розраховували за допомогою програми ACD/pK_a DB. На підставі аналізу величин визначено, що в комбінації «метилпреднізолон-габапентин» відсутні можливі взаємодії як на фізико-хімічному рівні (при комбінації в лікарській формі), так і на рівні фармакокінетичних стадій. Сумісне застосування метилпреднізолону та габапентину може призводити до зменшення терапевтичної дії останнього внаслідок підвищення порога судомної готовності мозку метилпреднізолоном.

Ключові слова: метилпреднізолон, габапентин, комбінована терапія, комп'ютерний аналіз

А. А. Нефедов, В. И. Мамчур, В. Б. Ларионов, В. С. Смандич

Прогнозирование в экспериментах *in silico* взаимодействия габапентина с метилпреднизолоном как средств комбинированной терапии демиелинизирующих заболеваний

Цель исследования – прогнозирование возможного взаимодействия метилпреднизолона (основного препарата базисной терапии демиелинизирующей патологии) и габапентина (эффективного болеутоляющего средства) в условиях их комбинированного применения. Кислотно-щелочные свойства, величины молекулярной массы, липофильности, растворимости рассчитывали с помощью программы ACD/pK_a DB. На основании анализа этих величин установлено, что в комбинации «метилпреднизолон-габапентин» отсутствуют возможные взаимодействия как на физико-химическом уровне (при комбинации в лекарственной форме), так и на уровне фармакокинетических стадий. Совместное применение метилпреднизолона и габапентина может приводить к уменьшению терапевтического действия последнего вследствие повышения порога судорожной готовности мозга метилпреднизолоном.

Ключевые слова: метилпреднизолон, габапентин, комбинированная терапия, компьютерный анализ

A. A. Nefyodov, V. I. Mamchur, V. B. Larionov, V. S. Smandych

***In silico* prediction of gabapentin and methylprednisolone interactions as components of combined therapy under demyelinization pathology**

The aim of the work was prediction of possible interactions between methylprednisolone (main component of treatment in demyelinization pathology) and gabapentin (due its analgesic properties) under combined therapy. The acid-alkaline properties, molecular weight, lipophilicity, solubility were calculated by the help of ACD/pK_a DB. On the base of the analyzed properties of these drugs in combination «methylprednisolone-gabapentin» there weren`t possible expected interactions between these compounds both on physical and chemical level and during the pharmacokinetic stages. On the other hand use of the combination of methylprednisolone and gabapentin may lead to a decrease in therapeutic action of the latter due to rising of convulsive threshold readiness of the brain by methylprednisolone.

Key words: methylprednisolone, gabapentin, combination therapy, computer analysis

Надійшла: 21 січня 2016 р.

Контактна особа: Ларіонов Віталій Борисович, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, відділ фізико-хімічної фармакології, Фізико-хімічний інститут імені О. В. Богатського НАН України, буд. 86, Люстдорфська дорога, Одеса, 65080. Тел.: + 38 0 48 765 51 26.
Електронна пошта: lvb_78@ukr.net

УДК 616.12-008.46-036.12:57.084.1:[546.289+577.164.15

І. В. Ніженковська[1], І. Й. Сейфулліна[2], В. П. Нароха[1], О. Е. Марцинко[2], О. А. Чебаненко[2]

Вивчення антиоксидантних властивостей комплексу германію з нікотиновою кислотою (МІГУ-1) за умов експериментальної хронічної серцевої недостатності

[1]*Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ*

[2]*Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, м.Одеса*

Ключові слова: МІГУ-1, перекисне окиснення ліпідів, нікотинова кислота, серцева недостатність, доксорубіцин

Хвороби серцево-судинної системи є вагомою проблемою сучасної медицини. У структурі захворювань серця та судин провідними є ішемічна хвороба, артеріальна гіпертензія, атеросклероз як системні патологічні процеси, що супроводжуються розвитком інфаркту міокарда та/або серцево-судинної недостатності та цереброваскулярної патології. Значну роль серед причин серцевої недостатності відіграють кардіоміопатії, зумовлені впливом різних токсичних речовин, у тому числі групи антрациклінових антибіотиків – препаратів хіміотерапії, які можуть спричиняти стан оксидантного стресу в цілісному організмі. Насамперед це стосується перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) мембран, надлишкового синтезу активних форм кисню (АФК) і утворення вільних радикалів у кардіоміоцитах [1]. За даними Державної служби статистики у 2014 році смертність в Україні від хвороб системи кровообігу склала близько 67 %, у той час як кількість уперше зареєстрованих випадків хвороб системи кровообігу була менше ніж 7 % [2]. Отже, невирішеними залишаються проблеми профілактики ускладнень та фармакологічної корекції даної групи захворювань.

Натепер проведено численні дослідження механізму дії, фармакокінетики та фармакодинаміки нових координаційних сполук германію з органічними біолігандами [3], синтезованих вітчизняними вченими. Виявлено виражений вплив комплексу германію з нікотиновою кислотою МІГУ-1 на жирнокислотний спектр ліпідів у тканині міокарда та печінки за умов токсичної дії доксорубіцину (ДОК) [4], кардіотоксичність якого пов'язують з інтенсифікацією реакцій ПОЛ у клітинах. Саме це свідчить про доцільність подальшого дослідження МІГУ-1 за умов експериментальної хронічної серцевої недостатності (ХСН).

Мета дослідження – вивчити зміни антиоксидантної системи (АОС) у серцевому м'язі щурів з експериментальною ХСН та оцінити ефективність їхньої корекції за допомогою препарату нікотинової кислоти та нової комплексної сполуки германію з нікотиновою кислотою (МІГУ-1).

Матеріали та методи. Дослідження проводили на статевозрілих щурах-самцях масою 180–220 г. Догляд за тваринами здійснювали згідно з Директивою Європейського Союзу 2019/10/63 EU про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей [5].

Тварини методом випадкової вибірки були розділені на 4 групи по 10 тварин у кожній: 1) тварини, яким щотижня протягом 5 тижнів внутрішньом'язово (в/м) вводили 0,9 % NaCl (контроль); 2) тварини, яким 5 тижнів вводили в/м ДОК з розрахунку 5 мг/кг/тиждень (експериментальна ХСН) [6]; 3) тварини, які протягом 5 тижнів отримували в/м ДОК на тлі внутрішньоочеревинного (в/о) введення нікотинової кислоти в

© Колектив авторів, 2016

дозі 10 мг/кг/день (ХСН + нікотинова кислота); 4) тварини, які протягом 5 тижнів отримували в/м ДОК на тлі в/о введення комплексу МІГУ-1 у дозі 10 мг/кг/день (ХСН + МІГУ-1).

У гомогенаті, отриманому з міокарда експериментальних тварин, визначали інтенсивність генерації супероксидного аніон-радикала (СОР) за накопиченням ХТТ-формазану [7, 8] та концентрацію перекису водню фотоколориметричним методом [9, 10]. Активність ферментів АОС у міокарді – СОД – вимірювали за методом Чеварі та співавт. [11], активність КАТ визначали в реакції з перекисом водню за Королюк і співавт. [12]. Інтенсивність ПОЛ визначали за накопиченням продуктів окиснення – ДК – спектрофотометричним методом [13], ТБК-АС – за методом Стальної і співавт. [14] і ШО флуориметричним методом [15]. Уміст білка в гомогенаті визначали за методом Лоурі [16].

Отримані результати представлено у вигляді середньоарифметичного (M) і стандартної похибки (m), з урахуванням кількісної вибірки (n). Отримані в експерименті дані обробляли за допомогою U-критерію Вілкоксона-Манна-Уїтні [17]. Відмінності вважали достовірними при $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення. У тварин з експериментальною ХСН спостерігали інтенсивне утворення АФК порівняно з контрольною групою. Так, рівень СОР зріс у 1,80, а перекису водню – у 1,49 разу ($P < 0,05$) (табл. 1). Відмічено також зниження активності ферментів АОС у групі тварин, яким вводили ДОК: СОД – у 1,42 разу і КАТ у 1,64 разу ($P < 0,05$) (табл. 2). Це може бути пов'язано з низькою антиоксидантною активністю тканини міокарда за умов хронічної інтоксикації ДОК.

Підвищення вмісту продуктів ПОЛ – ДК, ТБК-АС та ШО в міокарді тварин з

Таблиця 1

Уміст активних форм кисню в серцевому м'язі шурів (M ± m, n = 10)

Досліджуваний параметр / Група тварин	Супероксидний радикал, мкмоль ХТТ-формазану · мг білка$^{-1}$	Перекис водню, мкмоль · мг білка$^{-1}$
Контроль	8,39 ± 0,68	6,72 ± 0,56
Хронічна серцева недостатність	15,17 ± 1,02*	10,03 ± 0,82*
Хронічна серцева недостатність + нікотинова кислота, 10 мг/кг	12,03 ± 1,04*	8,36 ± 0,76
Хронічна серцева недостатність+МІГУ-1, 10 мг/кг	10,63 ± 0,84#	5,66 ± 0,39*/#

*Примітка. Тут і в табл.2–3: *вірогідність відносно контролю ($P < 0,05$), #вірогідність відносно групи тварин з експериментальною ХСН ($P < 0,05$).*

Таблиця 2

Активність антиоксидантних ферментів у міокарді експериментальних шурів (M ± m, n = 10)

Досліджуваний параметр / Група тварин	Активність супероксиддисмутази, ум. од. · хв$^{-1}$ · мг білка $^{-1}$	Активність каталази, нмоль · хв$^{-1}$ · мг білка $^{-1}$
Контроль	2,15 ± 0,18	4,17 ± 0,35
Хронічна серцева недостатність	1,51 ± 0,11*	2,54 ± 0,23*
Хронічна серцева недостатність + нікотинова кислота, 10 мг/кг	1,77 ± 0,14*	2,96 ± 0,27*
Хронічна серцева недостатність + МІГУ-1, 10 мг/кг	2,03 ± 0,18#	5,43 ± 0,31*/#

експериментальною ХСН (табл. 3) свідчило про розвиток у тварин окидативного стресу. Ці результати узгоджуються з даними літератури щодо активації вільнорадикальних реакцій та процесів ПОЛ у міокарді під впливом ДОК [1].

При введенні ДОК на фоні щоденних ін'єкцій нікотинової кислоти концентрація АФК у міокарді щурів була нижчою, ніж у тварин з ХСН (СОР в 1,26 та перекису водню в 1,2 разу), але все ще не досягала показників контрольної групи (табл. 1). Активність антиоксидантних ферментів достовірно не відрізнялася від показників групи тварин з ХСН (табл. 2). Рівень продуктів ПОЛ дещо знижувався порівняно з показниками контрольної групи (ДК у 1,18, ТБК-АС у 1,17 та ШО у 1,14 разу), але, як і активність ферментів АОС, достовірно не відрізнявся від показників групи тварин з ХСН.

МІГУ-1 за умов експериментальної ХСН у щурів справляв більш виражену дію на про/антиоксидантний гомеостаз: уміст АФК достовірно знизився (СОР в 1,43 разу та перекису водню в 1,77 разу) порівняно з тваринами, яким вводили ДОК. Аналіз показників активності КАТ та рівня перекису водню в кардіоміоцитах тварин 4 групи показав, що збільшення активності КАТ в 2,14 разу порівняно з 2 групою відображалося значним зменшенням умісту перекису водню в тканині міокарда. Рівень активності КАТ та вміст перекису водню відрізнялися від показників контрольної групи в 1,3 разу та в 1,19 разу відповідно. Можливо механізм даного ефекту пов'язаний з прямою фізико-хімічною взаємодією германію з СОР та перекисом водню [18, 19]. Зберігалася більш виражена, ніж при дії нікотинової кислоти, тенденція до відновлення рівня ДК, ТБК-активних столук та ШО порівняно з тваринами з експериментальною ХСН, а вміст вторинних продуктів ПОЛ – ТБК-активних сполук був достовірно нижчим, ніж навіть показники контрольної групи в 1,26 разу, що також можна пояснити прямим антирадикальним впливом комплексу МІГУ-1.

За розвитку в тканинах процесів оксидативного стресу відбувається пошкодження ДНК ядерного та/або мітохондріального геному з наступною ініціацією процесів апоптозу клітини [20]. Існують дані, що доводять головну роль мітохондрій в запуску внутрішньоклітинної послідовності біохімічних реакцій, що реалізують зовнішній, рецептор-незалежний шлях апоптозу [21]. Також у серцевому м'язі навіть короткотривалі епізоди ішемії, гіпоксії супроводжуються значною активацією ПОЛ, що, можливо, викликає зміни в'язкості та упорядкованості мембранного бішару, зміну фазових властивостей та електричного опору мембран. [22]. Інтермедіати жирних кислот та продукти ПОЛ деструктивно впливають на мітохондрії, пригнічують активність Na^+-K^+-АТФази та пригнічують активність Са-насосу саркоплазматичного ретикулуму й транспорт електронів за рахунок інгібування НАДН-KoQ-редуктази. Відомо, що як недоокиснені жирні кислоти, так і продукти їхнього переокиснення можуть стати медіаторами, що викликають злоякісні порушення серцевого ритму і раптову смерть.

Таблиця 3

Уміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у серці шурів (M ± m, n = 10)

Досліджуваний параметр / Група тварин	Дієнові кон'югати, нмоль · мг білка$^{-1}$	ТБК-активні сполуки, нмоль · мг білка$^{-1}$	Шиффові основи, ум. од. · мг білка$^{-1}$
Контроль	237,61 ± 23,09	81,84 ± 7,43	7,54 ± 0,52
Хронічна серцева недостатність	352,59 ± 29,48	105,16 ± 9,75*	9,49 ± 0,88*
Хронічна серцева недостатність + нікотинова кислота, 10 мг/кг	298,81 ± 26,92	90,11 ± 7,79	8,32 ± 0,71
Хронічна серцева недостатність + МІГУ-1, 10 мг/кг	210,18 ± 18,71	64,73 ± 5,46*/#	7,03 ± 0,59#

Отримані дані дають змогу припустити, що комплекс МІГУ-1 пригнічує оксидативний стрес завдяки прямій антирадикальній дії, знижуючи утворення АФК та попереджаючи пошкодження геному клітин, а також відновлює активність НАДН-KoQ-редуктази, що бере участь у транспорті електронів у дихальному ланцюзі мітохондрій.

Отримані в експерименті дані, що підтверджують антиоксидантну активність координаційної сполуки МІГУ-1, яка проявляється в нормалізації окисно-відновних процесів у міокарді шляхом інгібування генерації АФК, активації СОД, КАТ, а також пригніченні процесів ПОЛ, є основою для подальшого дослідження механізмів дії МІГУ-1 за умов експериментальної ХСН.

Висновок

1. За умов експериментальної хронічної серцевої недостатності в серцевому м'язі спостерігали зниження активності супероксиддисмутази, каталази та накопичення супероксидного радикала, перекису водню та продуктів перекисного окиснення ліпідів.
2. Уведення протягом 5 тижнів комплексної сполуки германію з нікотиновою кислотою (МІГУ-1) у дозі 10 мг/кг тваринам з експериментальною хронічною серцевою недостатністю призводило до відновлення про/антиоксидантного гомеостазу та рівня продуктів перекисного окиснення ліпідів у міокарді щурів.

1. *Lee C. S.* Mechanisms of Cardiotoxicity and the Development of Heart Failure / C. S. Lee // Crit Care Nurs Clin North Am. – 2015. – V. 27 (4). – P. 469–81.
2. Державна служба статистики України 2015 [Електроний ресурс] – Режим доступу: http://www.ukrstat.gov.ua/.
3. *Кресюн В. Й.* Фармакологічна характеристика сполук германію / В. Й. Кресюн, К. Ф.Шемонаєва, А. Г. Видавська // Клінічна фармація. — 2004. — № 4. — С. 65–68.
4. Вплив нікотинової кислоти та комплексу германію з нікотиновою кислотою (МІГУ-1) на жирнокислотний склад ліпідів кардіоміоцитів та гепатоцитів щурів з експериментальною хронічною серцевою недостатністю / І. В. Ніженковська, В. П. Нароха, О. В. Кузнецова [та ін.]. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2015. – № 1 (42). – С. 68–75.
5. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes [Електроний ресурс] – Режим доступу: http://conventions.coe.int/treaty/en/treaties/html/123.htm.
6. *Nizhenkovskaya I.* The influence of sufan on myocardial energetic metabolism in the case of adriamycin-induced heart failure / I. Nizhenkovskaya // Current Topics in Pharmacology. – 2013. – V. 17. – P. 103–108.
7. *Able A. J.* Use of new tetrazolium-based assay to study the production of superoxide radicals by tobacco cell cultures challenged with avirulent zoospores of Phytophtora parasitica varnicotianae / A. J. Able, D. I. Guest, M. W. Sutherland // Plant Physiol. – 1998. – V. 177, № 2. – P. 491–499.
8. *Sutherland M. W.* The tetrazolium dyes MTS and XTT provide new quantitative assays for superoxide and superoxide dismutase / M. W. Sutherland, B. A. Learmonth // Free Radic. Res. – 1997. – V. 27 (3). – P. 283–289.
9. Hydrogen peroxide production during experimental protein glycation / Z. Y. Jiang, A. C. Woollard, S. P. Wolff [et al.] // FEBS Lett. – 1990. – V. 268 (1). – P. 69–71.
10. *Nourooz-Zadeh J.* Measurement of plasma hydroperoxide concentrations by the ferrous oxidation - Xylenol Orange assay / J. Nourooz-Zadeh, J. Tajaddini-Sarmadi, S. P. Wolff // Anal. Biochem. – 1994. – V. 220. – P. 403–409.
11. *Чевари С.* Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
12. *Королюк М.* Метод определения активности каталазы / М. Королюк, Л. Иванова, И. Майорова, В. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
13. *Гаврилов В. Б.* Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ–поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов / Гаврилов В. Б., Гаврилова А. Р., Хмара Н. Ф. // Лабор. дело. – 1988. – № 2. – С. 60–63.
14. *Стальная И. Д.* Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии. – Москва : Медицина, 1977. – С. 66–68.
15. *Колесова О. Е.* Перекисное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах / Колесова О. Е., Маркин А. А., Федорова Т. Н. // Лабор. дело. – 1984. – № 9. – С. 540–546.

16. Protein measurement with Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. I. Randal // J. Biol. Chem. – 1951. – V. 193, № 1. – P. 265–275.
17. *Петри А.* Наглядная статистика в медицине / А. Петри, К. Сэбин; пер. с англ. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2003. – 143 с.
18. The effects of exogenous antioxidant germanium (Ge) on seed germination and growth of Lycium ruthenicum Murr subjected to NaCl stress / Y. Liu, L. Y. Hou, Q. M. Li [et al.]. – Environ Technol. – 2015. – V. 14. – P. 1–11.
19. *Nakamura T.* The Oral Intake of Organic Germanium, Ge-132, Elevates -Tocopherol Levels in the Plas-ma and Modulates Hepatic Gene Expression Profiles to Promote Immune Activation in Mice / T. Nakamura, T. Takeda, Y. Tokuji // Int. J. Vitam Nutr Res. – 2014. – V. 84 (3–4). – P. 183–95.
20. *Губский Ю. И.* Смерть клетки: свободные радикалы, некроз, апоптоз: монография / Ю. И. Губский. – Винница : Нова Книга, 2015. – 360 с.
21. *Галітовський В. Е.* Дослідження ролі мітохондрій в апоптозі в тімоцитах і клітинах культури: автореферат дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук / Галітовський В. Е. – Пущино, 2001. – 97 с.
22. *Губський Ю. І.* Вивчення взаємозв'язків між антиоксидантними та квантово-хімічними характеристиками похідних піридинкарбонових кислот / Губський Ю. І. // Вісник фармації. – 2003. – Т. 33 – № 1. – С. 11–15.

І. В. Ніженковська, І. Й. Сейфулліна, В. П. Нароха, О. Е. Марцинко, О. А. Чебаненко

Вивчення антиоксидантних властивостей комплексу германію з нікотиновою кислотою (МІГУ-1) за умов експериментальної хронічної серцевої недостатності

Мета дослідження – вивчити зміни антиоксидантної системи в серцевому м'язі щурів з експериментальною хронічною серцевою недостатністю та оцінити ефективність їхньої корекції за допомогою нової координаційної сполуки германію з нікотиновою кислотою (МІГУ-1). Як препарат порівняння застосовано нікотинову кислоту.

Антиоксидантні властивості було досліджено за умов доксорубіцин (ДОК)-індукованої хронічної серцевої недостатності в щурів. Тварини контрольної групи отримували фізіологічний розчин протягом 5 тижнів, експериментальну хронічну серцеву недостатність моделювали введенням доксорубіцину в дозі 5 мг/кг внутрішньом'язово один раз на тиждень протягом 5 тижнів; МІГУ-1 та нікотинову кислоту вводили внутрішньоочеревинно щоденно в дозі 10 мг/кг протягом 5 тижнів. В експерименті було досліджено концентрації супероксидного аніон-радикала (САР) та перекису водню (ПВ), уміст продуктів перекисного окиснення ліпідів (дієнових кон'югатів, ТБК-активних сполук та основ Шиффа), а також активність ферментів супероксиддисмутази (СОД) і каталази (КАТ) у міокарді тварин.

Результати показали, що за умов курсового введення МІГУ-1 у дозі 10 мг/кг на фоні ДОК-індукованої хронічної серцевої недостатності зменшувалися параметри оксидативного стресу (САР, ПВ), збільшувалася активність ферментів антиоксидантного захисту (СОД, КАТ), уміст продуктів ПОЛ досягав рівня контрольної групи. Нікотинова кислота, введена тваринам з експериментальною хронічною серцевою недостатністю, не виявила антиоксидантний ефект у серцевому м'язі.

Отримані результати свідчать про пригнічення вільнорадикальних реакцій у кардіоміоцитах під дією МІГУ-1 за умов хронічної серцевої недостатності в щурів, що дозволяє розглядати МІГУ-1 як препарат з потенційною кардіопротекторною активністю.

Ключові слова: активні форми кисню, перекисне окиснення ліпідів, МІГУ-1, хронічна серцева недостатність, доксорубіцин

И. В. Ниженковская, И. И. Сейфуллина, В. П. Нароха, Е. Э. Марцинко, Е. А.Чебаненко

Изучение антиоксидантных свойств комплекса германия с никотиновой кислотой (МИГУ-1) в условиях экспериментальной хронической сердечной недостаточности

Цель исследования – изучить изменения антиоксидантной системы в сердечной мышце крыс с экспериментальной хронической сердечной недостаточностью и оценить эффективность их коррекции с помощью нового координационного соединения германия с никотиновой кислотой (МИГУ-1). В качестве препарата сравнения использовали никотиновую кислоту.

Антиоксидантные свойства были исследованы в условиях доксорубицин (ДОК)-индуцированной хронической сердечной недостаточности у крыс. Животные контрольной группы получали физиологический раствор в течение 5 недель; экспериментальную хроническую сердечную недостаточность моделировали введением ДОК в дозе 5 мг/кг внутримышечно один раз в неделю в течение 5 недель; МИГУ-1 и никотиновую кислоту вводили внутрибрюшинно ежедневно в дозе 10 мг/кг в течение 5 недель. В эксперименте исследовали концентрации супероксидного анион-радикала (САР) и перекиси водорода (ПВ), содержание продуктов перекисного окисления липидов (диено-

вых конъюгатов, ТБК-активных соединений и основания Шиффа), а также активность ферментов супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КАТ) в миокарде животных.

Результаты показали, что в условиях введения МИГУ-1 в дозе 10 мг/кг на фоне ДОК-индуцированной хронической сердечной недостаточности уменьшались параметры оксидативного стресса (САР, ПВ), увеличивалась активность ферментов антиоксидантной защиты (СОД, КАТ), содержание продуктов ПОЛ достигало уровня контрольной группы. Никотиновая кислота, введенная животным с экспериментальной хронической сердечной недостаточностью, не выявила антиоксидантный эффект в сердечной мышце.

Полученные результаты свидетельствуют об угнетении свободнорадикальных реакций в кардиомиоцитах под действием МИГУ-1 в условиях хронической сердечной недостаточности у крыс, что позволяет рассматривать МИГУ-1 в качестве препарата с потенциальной кардиопротекторной активностью.

Ключевые слова: активные формы кислорода, перекисное окисление липидов, МИГУ-1, хроническая сердечная недостаточность, доксорубицин

I. V. Nizhenkovskaya, I. I. Seifullina, V. P. Narokha, O. E. Martsinko, E. A. Chebanenko

Study of antioxidant properties of the complex of germanium with nicotinic acid (MIGU-1) in experimental chronic heart failure

The purpose of this research was to study the changes in the antioxidative system in heart muscle of rats with experimental chronic heart failure and evaluate the effectiveness of its correction by the new complex of germanium with nicotinic acid (MIGU-1). Niacin was used as a reference drug.

The antioxidant effect was investigated in doxorubicin (DXR)-induced chronic heart failure in rats. The control group received normal saline for 5 weeks. Experimental chronic heart failure was induced by administering doxorubicin (5 mg/kg) intramuscularly once a week for 5 weeks; MIGU-1 and niacin were administered intraperitoneally daily (10 mg/kg) for 5 weeks. In this experiment there were studied the levels of superoxide anion radical (SOR), hydrogen peroxide (HP), lipid peroxidation (LPO) products (diene conjugates (DC), thiobarbituric acid active products (TBA-AP) and Schiff bases (SCHB), and superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activites in the myocardium of animals.

The results indicate that MIGU-1 administration against the DXR background decreases the oxidant parameters (SOR, HR), increases the antioxidant parameters (SOD, CAT), and LPO reaches a normal level. Niacin administration to experimental rats with chronic heart failure has no oxidative protection effect in animal heart.

The results obtained indicate the inhibition of free radical reaction in cardiomyocytes of rats with chronic heart failure and allow to consider MIGU-1 as a product with potentional cardioprotective activity.

Key words: reactive oxygen species, lipid peroxidation, MIGU-1, chronic heart failure, doxorubicin

Надійшла: 18 грудня 2015 р.

Контактна особа: Нароха Віолетта Петрівна, асистент, кафедра фармацевтичної, біологічної та токсикологічної хімії, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, буд. 22, вул. Пушкінська, м. Київ. Тел.: + 38 0 44 234 80 11. Електронна пошта: v.narokha@ukr.net

УДК 615.224: 036.8: 612.08: 004.382

І. М. Ситник, М. В. Хайтович, П. А. Черновол

Антиоксидантна активність інгібіторів ангіотензину II та метаболітотропних кардіопротекторів за умов *in vitro* та *in silico*

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

Ключові слова: антиоксидантна активність, тіотриазолін, ацетилцистеїн, лозартан, валсартан, електронні дескриптори

Відомо, що оксидативний стрес (ОС) відіграє провідну роль у патогенезі більше 100 захворювань. ОС є результатом збільшеної генерації вільних радикалів та зменшення фізіологічної антиоксидантної системи захисту організму за рахунок надлишкової кількості активних форм кисню (АФК), що виникає внаслідок порушення балансу між продукцією та деструкцією АФК [1]. Так, ключовою АФК є супероксид аніон, який здатен ініціювати генерацію найреактивніших АФК, гідроксилрадикала HO• та пероксинітриту $ONOO^-$, які надмірно формуються при ішемії та реперфузії, що є результатом низьких значень pH та гіпоксичних станів, сприяючи виходу Fe^{2+} з металопротеїназ при патологічних станах серцево-судинної системи [2].

Останнім часом вивчаються різноманітні сполуки з антиоксидантною активністю для корекції ОС. На моделях *in vivo* доведено кардіопротекторні та антиоксидантні властивості лікарських засобів (ЛЗ) N-ацетилцистеїну [3], тіотриазоліну [4]. Активно досліджуються кардіопротекторні властивості інгібіторів ренін-ангіотензин-альдостеронової системи, зокрема, блокаторів рецепторів до ангіотензину (АТ) II [5].

На початкових етапах скринінгу потенційних ЛЗ важливим є використання методів первинної оцінки антиоксидантної активності (АОА) сполук у дослідах *in vitro* та за допомогою комп'ютерного прогнозування *in silico* [10, 11].

© Колектив авторів, 2016

Тому актуальним питанням є пошук кардіопротекторних сполук з антиоксидантною активністю.

Мета дослідження – порівняльна оцінка антиоксидантної активності інгібіторів АТ II (лозартану, валсартану) та метаболітотропних кардіопротекторів (ацетилцистеїну, тіотриазоліну) на моделі інгібування супероксид-радикала *in vitro* та визначення залежності структура–антиоксидантна активність інгібіторів АТ II з використанням електронних дескрипторів *in silico*.

Матеріали та методи. Як об'єкти дослідження використовували лікарські засоби – ацетилцистеїн (ТОВ «Фарма Старт»), тіотриазолін (Arterium), лозартан (Zentiva), валсартан (Zentiva).

АОА досліджуваних ЛЗ вивчали на базі НДІ експериментальної та клінічної медицини Національного медичного університету імені О. О. Богомольця.

Визначення АОА проводили відповідно до методики [6] та її модифікації [7]. За допомогою методу спектрофотометрії реєстрували зміни оптичної густини після внесення до середовища інкубації досліджуваних ЛЗ і визначали АОА за ступенем інгібування супероксид-радикала, що утворюється в модельній системі *in vitro* при автоокисненні адреналіну в адренохром у лужному середовищі. Розчин адреналіну готували на бідистильованій воді, використовуючи 0,1 % розчин адреналіну гідротартрату (ТОВ «Здоров'я») у перерахунку на 40,5 мг адреналіну. До мірної колби на 20 мл вносили 4,5 мл 0,1 % розчину адреналіну й додавали 10 мл бідистильованої води, після чого по 0,5–1,0 мл 0,1 н HCl, доводили pH до 2,0, потім бідистилятом доводили об'єм до 20 мл. До кювети біохімічного аналізатора SINNOWA BS-3000M вно-

сили 0,5 мл 0,15 моль/л карбонатного буфера pH 10,2, який містить 500 мг трилону Б на 1 л об'єму. Після цього вносили досліджувані ЛЗ у концентраціях 10^{-3}, 10^{-6} та 10^{-9} моль/л та об'ємом 0,125 мл. Реакцію запускали внесенням 0,1 мл розчину адреналіну. Оптичну густину визначали при довжині хвилі 340 нм проти карбонатного буфера.

АОА досліджуваних ЛЗ виражали у відсотках інгібування автоокиснення адреналіну та розраховували за формулою:

$$АОА = \frac{Dк - Dд}{Dк} \cdot 100, \text{ де}$$

АОА – антиоксидантна активність, %;
Dк – оптична густина контрольної проби;
Dд – оптична густина дослідної проби.

Значення квантово-хімічних параметрів молекулярних структур ЛЗ розраховували за допомогою програми Hyperchem Release 8.0. з використанням напівемпіричного методу-гамільтоніану PM3 [8].

Розраховували такі параметри: енергію вищої заповненої молекулярної орбіталі (the highest occupied molecular orbital, HOMO); енергію нижчої вакантної молекулярної орбіталі (the lowest unoccupied molecular orbital, LUMO); ΔE електронного переходу між HOMO та LUMO; потенціал іонізації (ionization potential, IP); жорсткість (η); значення зарядів (за Mulliken) молекул.

Статистичну обробку отриманих даних проводили методами варіаційної статистики за допомогою програм Excel 2010 та MedStat з використанням однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA за критерієм Шеффе.

Результати та їх обговорення. Порівнюючи ацетилцистеїн та тіотриазолін (табл. 1), виявлено, що при внесенні до модельної тест-системи досліджуваних ЛЗ статистично достовірно знижується оптична густина порівняно з контролем ($p < 0,01$). Найменші значення оптичної густини реєстрували при молярній концентрації 10^{-6} моль/л, відповідно й АОА при даній концентрації була найвищою та становила майже 80 %. Показник ΔD зменшувався в 2,0 разу при внесенні тіотриазоліну та в 4,8 разу – ацетилцистеїну. АОА тіотриазоліну в зазначеній концентрації склала близько 52 %.

Слід зазначити, що в концентраціях 10^{-3} та 10^{-6} моль/л ацетилцистеїн вірогідно перевершував тіотриазолін як за показником ΔD, так і за АОА ($p < 0,01$).

Результати визначення АОА препаратів групи блокаторів рецепторів АТ II – валсартану та лозартану наведено в таблиці 2. Валсартан у концентраціях 10^{-3} та 10^{-6} моль/л не виявляв АОА (розраховане значення АОА складало 10,76 та 10,61 % відповідно), показники ΔD достовірно не відрізнялися від контролю, а в найнижчій з досліджених концентрацій 10^{-9} моль/л навіть мав прооксидантну дію. На відміну від валсартану інший препарат цієї групи –

Таблиця 1

Показники антиоксидантної активності ацетилцистеїну та тіотриазоліну в модельній тест-системі (n = 7)

Умова досліду	Концентрація препарату, моль/л					
	10^{-3}		10^{-6}		10^{-9}	
	ΔD (M ± m)	Антиоксидантна активність, %	ΔD (M ± m)	Антиоксидантна активність, %	ΔD (M ± m)	АОА, %
Контроль	0,1516 ± 0,0070		-		-	
Ацетилцистеїн	0,0418 ± 0,0026*,**	72,37 ± 2,85	0,0316 ± 0,0012*,**	79,11 ± 1,69	0,0646 ± 0,0023*	57,64 ± 2,67
Тіотриазолін	0,0879 ± 0,0047*	40,39 ± 6,01	0,0730 ± 0,0020*	51,84 ± 3,42	0,0798 ± 0,0042*	47,32 ± 5,17

*Примітка. *p < 0,01 порівняно з контролем, **p < 0,01 порівняно з тіотриазоліном.*

Таблиця 2

Показники антиоксидантної активності валсартану та лозартану в модельній тест-системі (n = 7)

Умова досліду	Концентрація препарату, моль/л					
	10^{-3}		10^{-6}		10^{-9}	
	ΔD (M ± m)	Антиоксидантна активність, %	ΔD (M ± m)	Антиоксидантна активність, %	ΔD (M ± m)	Антиоксидантна активність, %
Контроль	0,1516 ± 0,0070		-		-	
Валсартан	0,1393 ± 0,0019	10,76 ± 2,01	0,1398 ± 0,0033	10,61 ± 1,63	0,1799 ± 0,0008*	-
Лозартан	0,1167 ± 0,0010*, **	25,07 ± 2,56	0,1204 ± 0,0008*,**	22,51 ± 2,58	0,1443 ± 0,0008**	11,46 ± 1,74

*Примітка. *p < 0,01 порівняно з контролем, **p < 0,01 порівняно з валсартаном.*

лозартан проявив АОА у всіх концентраціях та вірогідно відрізнявся від валсартану (p < 0,01). Варто зазначити, що лозартан характеризувався прямопропорційною залежністю АОА від концентрації: зі зниженням молярної концентрації знижувалася їхня АОА. Так, у разі внесення лозартану до модельної тест-системи в концентрації 10^{-3} моль/л ΔD знижувався в 1,3 разу порівняно з контролем, а значення АОА склало 25 %.

Таким чином, досліджені інгібітори АТ II, близькі за хімічною будовою, показали різну здатність до взаємодії з супероксид-радикалом у модельній системі автоокиснення адреналіну. Для з'ясування причин виявлених розбіжностей було застосовано квантово-хімічні комп'ютерні методи, що дозволяють визначити механізми взаємодії антиоксидантів та вільних радикалів, антиоксидантні властивості різних класів сполук на основі прогнозування кількісного співвідношення структура-активність (quantitative structure-activity relationship, QSAR) [9–11].

З цією метою нами було проведено квантово-хімічні розрахунки молекул валсартану та лозартану – біфенілових похідних тетразолу. Квантово-хімічні розрахунки молекул тіотриазоліну та ацетилцистеїну не проводили, беручи до уваги, що дані препарати є похідними сполук, різних за своєю хімічною будовою.

Визначали найзначущі електронні дескриптори АОА відносно АФК: енергію вищої заповненої МО (HOMO), потенціал іонізації (IP), енергію нижчої вакантної МО (LUMO), ефективні заряди на атомах, жорсткість (η) [10].

Структурні формули та геометричну оптимізацію досліджуваних молекул із зазначенням електронних зарядів на атомах наведено на рисунках 1, 2.

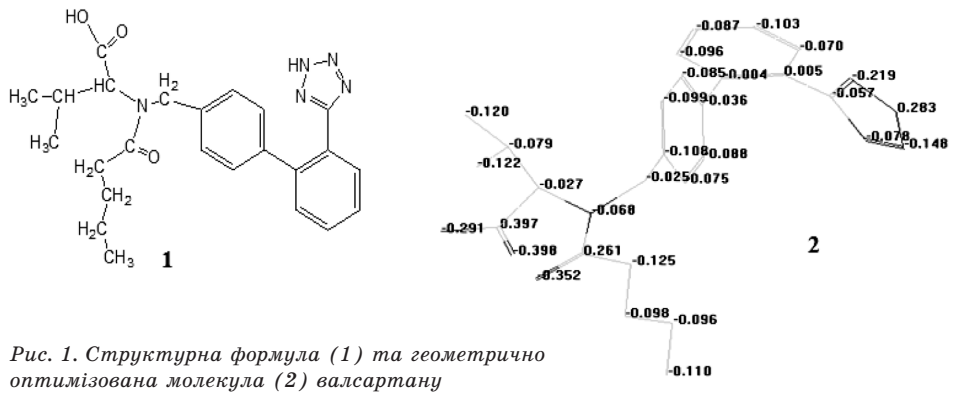


Рис. 1. Структурна формула (1) та геометрично оптимізована молекула (2) валсартану

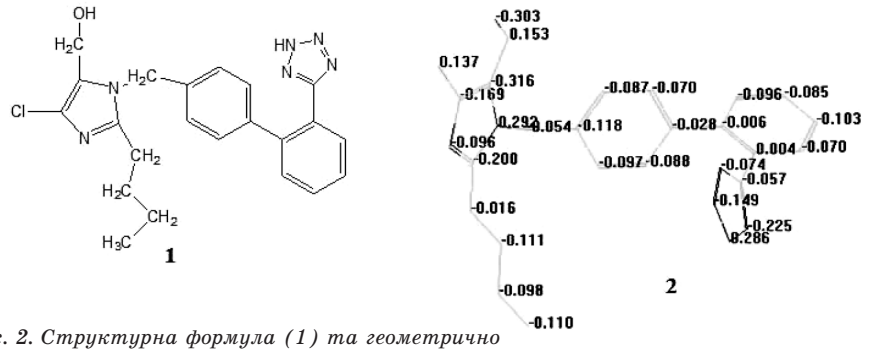


Рис. 2. Структурна формула (1) та геометрично оптимізована молекула (2) лозартану

Молекула лозартану на відміну від валсартану має гідроксиметильний боковий фрагмент з локалізацією негативного заряду на атомі кисню (-0,303). Тому, ефективніше буде нейтралізувати АФК.

Не менш важливими є енергії граничних МО. Відомо, що НОМО характеризує взаємодію молекули з електроноакцепторами, а LUMO – з електронодонорами. Відповідно до теореми Купменса, енергії граничних орбіталей з протилежним знаком відповідають значенням потенціалу іонізації молекули IP (енергія НОМО) або її спорідненості до електрона EA (енергія LUMO) [10].

З результатів, наведених у таблиці 3, видно, що лозартан має вищі значення енергії НОМО (-8,854 eV) та відповідно нижчі значення потенціалу іонізації IP та енергії переходу між НОМО та LUMO. Тобто, лозартан має енергетично вигідніше положення, швидше захоплюючи вільні радикали та віддаючи протон Н з найменшою затратою енергії (8, 854 eV), що й пояснює його вищу АОА порівняно з валсартаном. Крім того, нижчі параметри жорсткості η (4,066 eV) вказують на більшу реакційну здатність лозартану. Подібне пояснення АОА лозартану, пов'язаної з наявністю гідроксиметильного фрагмента бокового ланцюга, на основі якого синтезують нові класи сполук з АО активністю, так звані АО-сартани, дають автори іншого дослідження [12].

Отримані результати в подальшому можуть бути використані для пошуку та прогнозування АОА серед нових похідних сартану, визначення механізмів кардіопротекторної дії блокаторів АТ II *in vivo* та можливості комбінованого застосування останніх з препаратами метаболітного типу дії для підвищення ефективності фармакотерапії серцево-судинних захворювань.

Висновки

1. На моделі інгібування супероксид-радикала *in vitro* встановлено, що метаболітні кардіопротектори ацетилцистеїн та тіотриазолін виявляють АОА в широкому діапазоні концентрацій, 10^{-9}–10^{-3} моль/л. Найбільшу АОА (79 %) має ацетилцистеїн у концентрації 10^{-6} моль/л, перевершуючи таку тіотриазоліну.
2. З двох досліджених препаратів групи блокаторів рецепторів АТ II (валсартан, лозартан) тільки лозартан характеризується наявністю АОА, яка становить 22,51 та 25,07 % за концентрацій 10^{-6} та 10^{-3} моль/л відповідно.
3. За антиоксидантною активністю блокатор рецепторів АТ II лозартан значно поступається метаболітним

Таблиця 3

Квантово-хімічні параметри молекул лозартану та валсартану (гамільтоніан PM3)

Препарат	Параметр, eV				
	НОМО	LUMO	IP	ΔE	η
Лозартан	-8,854	-0,721	8,854	8,133	4,066
Валсартан	-9,643	-0,572	9,643	9,071	4,536

кардіопротекторам – ацетилцистеїну та тіотриазоліну.

4. Квантово-хімічними розрахунками підтверджено, що лозартан за рахунок гідроксиметильного бічного ланцюга має властивості швидко захоплювати вільні радикали та віддавати протон водню з найменшою затратою енергії, що й пояснює його вищу АОА порівняно з валсартаном.

1. *Poljsak B.* Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants / B. Poljsak, D. Šuput , I. Milisav // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2013. – V. 2013. – P. 1–11. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://dx.doi.org/10.1155/2013/956792
2. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems/ Jian-Ming Lüa, P. H. Lin, Q. Yao, C. Chen // J Cell Mol Med. – 2010. – № 14 (4). – P. 840–860.
3. Analysis of redox and apoptotic effects of anthracyclines to delineate a cardioprotective strategy / J. M. Fulbright, D. E. Egas-Bejar, W. W. Huh, J. Chandra // Cancer Chemother Pharmacol. – 2015. – № 76 (6). – P. 1297–307.
4. Ефективність застосування тіотриазоліну за умов доксорубіцинової кардіоміопатії / І. С. Чекман, Т. С. Трофімова, І. А. Мазур, Н. О. Горчакова // Запорожский медицинский журнал. – 2010. – Т. 12, № 5. – С. 207– 210.
5. Efficacy and safety of the angiotensin II receptor blocker losartan for hypertrophic cardiomyopathy: the INHERIT randomised, double-blind, placebo-controlled trial / A. Axelsson, K. Iversen, N. Vejlstrup [et al.] // Lancet Diabetes Endocrinol. – 2015. – № 3 (2). – P. 123–131.
6. Методи оцінки антиоксидантної активності речовин при ініціюванні вільнорадикальних процесів у дослідах *in vitro* / Губський Ю. І., Дунаєв В. В. , Бєленічев І. Ф. [та ін.] // Методичні рекомендації. – Київ : ДФЦ МОЗ України, 2001. – 19 с.
7. *Сирота Т. В.* Новый подход в исследовании реакции автоокисления адреналина: возможность полярографического определения активности супероксиддисмутазы и антиоксидантных свойств различных препаратов / Сирота Т. В. // Биомедицинская химия. – 2012. – Т. 58, вып. 1. – С. 77–87.
8. *Соловьев М. Е.* Компьютерная химия / М. Е. Соловьев, М. М. Соловьев. – Москва : Солон-пресс, 2005. – 325 с.
9. *Alov P.* Computational studies of free radical-scavenging properties of phenolic compounds / P. Alov, I. Tsakovska, I. Pajeva // Current Topics in Medicinal Chemistry. – 2015. – № 15. – P. 85–104
10. Evaluation of the antiradical properties of phenolic acids / O. Koroleva, A. Torkova, I. Nikolaev [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2014. – № 15. – P. 16351–16380.
11. *Szeląg M.* Quantum-chemical investigation of the structure and the antioxidant properties of α-lipoic acid and its metabolites / M. Szeląg, D. Mikulski, M. Molski // J. Mol Model. – 2012. – № 18. – P. 2907–2916.
12. Losartan-antioxidant hybrids: novel molecules for the prevention of hypertension-induced cardiovascular damage / G. García, P. M. Rodríguez, R. Alajarín [et al.] // J Med Chem. – 2009. – V. 52, № 22. – P. 7220–7227.

І. М. Ситник, М. В. Хайтович, П. А. Черновол

Антиоксидантна активність інгібіторів ангіотензину II та метаболітотропних кардіопротекторів за умов *in vitro* та *in silico*

Мета дослідження – порівняльна оцінка антиоксидантної активності (АОА) інгібіторів ангіотензину (АТ) II (лозартану, валсартану) та метаболітотропних кардіопротекторів (ацетилцистеїну, тіотриазоліну) на моделі інгібування супероксид-радикала *in vitro* та визначення залежності структура – антиоксидантна активність інгібіторів АТ II з використанням електронних дескрипторів *in silico*.

Визначення АОА проводили методом спектрофотометрії за ступенем інгібування супероксид-радикала, що утворюється в модельній системі *in vitro* при автоокисненні адреналіну в адренохром у лужному середовищі. Значення квантово-хімічних параметрів молекулярних структур ЛЗ розраховували з використанням напівемпіричного методу РМ3.

Встановлено, що метаболітні кардіопротектори ацетилцистеїн та тіотриазолін виявляють АОА в широкому діапазоні концентрацій, 10^{-9}–10^{-3} моль/л. Найбільшу АОА (79 %) має ацетилцистеїн у концентрації 10^{-6} моль/л, перевершуючи таку тіотриазоліну. З двох досліджених препаратів групи блокаторів рецепторів АТ II (валсартан, лозартан) лише лозартан характеризується наявністю АОА, яка становить 22,51 та 25,07 % за концентрацій 10^{-6} та 10^{-3} моль/л відповідно. За антиоксидантною активністю блокатор рецепторів АТ II лозартан значно поступається метаболітним кардіопротекторам – ацетилцистеїну та тіотриазоліну.

Квантово-хімічними розрахунками підтверджено, що лозартан за рахунок гідроксиметильного бічного ланцюга має властивості швидко захоплювати вільні радикали та віддавати протон водню з найменшою затратою енергії, що й пояснює його вищу АОА порівняно з валсартаном.

Ключові слова: антиоксидантна активність, тіотриазолін, ацетилцистеїн, лозартан, валсартан, електронні дескриптори

И. Н. Сытник, Н. В. Хайтович, П. А. Черновол

Антиоксидантная активность ингибиторов ангиотензина II и метаболитотропных кардиопротекторов в условиях *in vitro* и *in silico*

Цель исследования – сравнительная оценка антиоксидантной активности (АОА) ингибиторов ангиотензина (АТ) II (лозартана, валсартана) и метаболитотропных кардиопротекторов (ацетилцистеина и тиотриазолина) на модели ингибирования супероксид-радикала *in vitro* и определение зависимости структура – антиоксидантная активность ингибиторов АТ II с использованием электронных дескрипторов *in silico*.

Определение АОА проводили методом спектрофотометрии по степени ингибирования супероксид-радикала, который образуется в модельной системе *in vitro* при аутоокислении адреналина в адренохром в щелочной среде. Значения квантово-химических параметров молекулярных структур ЛС рассчитывали с использованием полуэмпирического метода PM3.

Установлено, что метаболитотропные кардиопротекторы ацетилцистеин и тиотриазолин проявляют АОА в широком диапазоне концентраций, 10^{-9}–10^{-3} моль/л. Наибольшую АОА (79 %) имеет ацетилцистеин в концентрации 10^{-6} моль/л, превосходя тиотриазолин. Из двух исследованных препаратов группы блокаторов рецепторов АТ II (валсартан, лозартан) только лозартан характеризуется наличием АОА, которая составляет 22,51 та 25,07 % при концентрациях 10^{-6} и 10^{-3} моль/л соответственно. По антиоксидантной активности блокатор рецепторов АТ II лозартан значительно уступает метаболитным кардиопротекторам – ацетилцистеину и тиотриазолину.

Квантово-химическими расчетами подтверждено, что лозартан за счет гидроксиметильной боковой цепи имеет свойства быстро захватывать свободные радикалы и отдавать протон водорода с наименьшей затратой энергии, что и объясняет его более высокую АОА по сравнению с валсартаном.

Ключевые слова: антиоксидантная активность, тиотриазолин, ацетилцистеин, лозартан, валсартан, электронные дескрипторы

I. M. Sytnik, M. V. Khaitovych, P. A. Chernovol

Antioxidant activity of angiotensin II inhibitors and metabotropic cardioprotectors under conditions *in vitro* and *in silico*

The aim of this work was a comparative assessment of antioxidant activity (AOA) of angiotensin (AT) II inhibitors (valsartan, losartan) and metabolic cardioprotectors (acethylcysteine, thiotriazolin) on the model of superoxide radical inhibition *in vitro* and determination of structure – antioxidant activity relationship of AT II inhibitors with application of electronic descriptors *in silico*.

Determination of AOA was carried out spectrophotometrically by the degree of superoxide radical inhibition, which is generated in a model test system of adrenaline autoxidation in an alkaline medium at a wavelength of 340 nm. The quantum-chemical computations of molecular structures of investigated compounds were calculated by semi-empirical method PM3.

It was determined that cardioprotectors – N-acethylcysteine and thiotriazolin demonstrate AOA at wide concentration range – of 10^{-9} M to 10^{-3} M. The highest AOA level (79 %) was fixed for N-acethylcysteine at 10^{-6} M surpassing thiotriazolin. Among AT II blockers such activity was detected for losartan only and amounted to 22,51 % and 25,07 % at the concentration of 10^{-6} M and 10^{-3} M respectively. AT II blocker losartan was considerably inferior to cardioprotectors as an antioxidant.

The quantum-chemical calculations confirmed that losartan has property of quick scavenging of free radicals and donating of hydrogen proton with minimum energy consumption due to its hydroxymethyl side chain, which explain the highest level of AOA compare to valsartan.

Key words: antioxidant activity, thiotriazolin, N-acethylcysteine, losartan, valsartan, electronic descriptors

Надійшла: 6 січня 2016 р.

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

УДК 615.322:615.015.33

І. В. Сімонова[1], В. Д. Лук'янчук[1], Д. С. Кравець[2], А. В. Волуй[1]

Експериментально-математичне обґрунтування ефективності оптимальних комбінацій фітопрепаратів, призначених для корекції когнітивно-мнестичних процесів

[1]Державна установа «Інститут фармакології та токсикології Національної академії медичних наук України», м. Київ

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

Ключові слова: екстракт гінкго білоба, екстракт конюшини лучної, екстракт каштану кінського, антиоксидантна активність, дозовий режим, математичне моделювання

Розробка лікарських засобів для терапії когнітивно-мнестичних порушень атеросклеротичного генезу є актуальним завданням фармацевтичної науки, оскільки тенденція до зростання цереброваскулярних розладів у світі залишається невтішною [1]. При фармакокорекції ускладнень мозкового кровообігу, пам'яті та інших пізнавальних функцій, порушених внаслідок прогресування атеросклеротичного процесу, доцільним є використання препаратів рослинного походження, оскільки вони мають низку переваг порівняно з синтетичними лікарськими засобами (низька токсичність, м'яка різнобічна комбінована дія на перебіг захворювання, можливість тривалого застосування) [2, 3].

При підборі складу фітокомпозиції в основу був покладений етіопатогенетичний підхід, який враховує дію рослинних компонентів на певні ланки патогенетичного ланцюга, у даному випадку атеросклеротичного процесу в судинах головного мозку: нормалізація ліпідного спектра крові та покращання її реологічних властивостей, фармакокорекція стану судин, і, власне, позитивна дія на саму мозкову тканину та регулювання функцій центральної нервової системи. Серед лікарських рослин, які містять комплекс БАР і проявляють бажані властивості, можна виділити гінкго білоба, конюшину лучну та каштан кінський [4–6].

Як відомо, у формуванні багатьох патологічних процесів в організмі значну роль відіграють процеси вільнорадикального окиснення, а активація функціонування системи антиоксидантного (АО) захисту сприяє попередженню мембранодеструкції тканин і органів. Тому наявність антиоксидантних властивостей у фітокомпонентів є головною вимогою до препаратів для профілактики та лікування хвороб атеросклеротичного походження [7].

Сьогодні найраціональнішим методичним підходом до визначення оптимального дозового режиму лікарських засобів є метод математичного моделювання [8, 9].

Мета дослідження – визначити з залученням методів математичного моделювання ефективність оптимальних комбінацій фітопрепаратів, призначених для корекції когнітивно-мнестичних процесів, у дослідах з моделювання перекисних процесів.

Матеріали та методи. З метою оптимізації вибору концентрації розчинів досліджуваних екстрактів фітопрепаратів (гінкго білоба, конюшина лучна, каштан кінський) та їхніх комбінацій (гінкго білоба : конюшина лучна, гінкго білоба : каштан кінський, конюшина лучна : каштан кінський) у дослідах *in vitro* застосовували метод математичного моделювання залежності антиоксидантної активності (АОА) від концентрації. При цьому мінімізували стандартну похибку інтраполяції на конкретну математичну функцію з одночасним отриманням максимального коефіцієнта кореля-

© Колектив авторів, 2016

ції [10] за допомогою комп'ютерної програми Curve Expert v.1.3.

Оптимальну концентрацію, яка чинить максимальний АО ефект, розраховували як максимум відповідної функції в заданому інтервалі концентрацій (3, 9, 12, 15 мг/мл) досліджуваних лікарських рослин. Вважали, що в обраному інтервалі концентрацій очікувана функціональна залежність повинна мати точку екстремуму (максимуму), що є необхідною умовою для інтраполяції експериментальних даних з максимальним коефіцієнтом кореляції та мінімальною стандартною похибкою.

Для визначення оптимального співвідношення фітопрепаратів, що вивчаються, при їхньому комбінованому застосуванні використовували аналогічний методичний підхід, але замість концентрацій брали їхнє співвідношення, а саме – 2:1 приймали за 2; 1:1 – за 1; 1:2 – за 0,5 [11].

АОА вищезазначених рослинних екстрактів та їхніх комбінацій оцінювали за допомогою неферментативного ініціювання вільнорадикального окиснення солями заліза (II). Уміст малонового діальдегіду (МДА) визначали в кислому середовищі виходячи з того, що за таких умов МДА реагує з 2-тіобарбітуровою кислотою з утворенням забарвленого триметинового комплексу.

Реакцію вільнорадикального окиснення ініціювали додаванням у пробірки з суспензією яєчних ліпопротеїдів рослинних екстрактів, попередньо розчинених у воді, та 1 мл 25 ммоль/л розчину ферум (II) сульфату гептагідрату. Далі перемішували отриманий розчин та інкубували протягом 30 хв при 37 °С у водяному термостаті (Elma transsonic 460/H, Germany). Реакцію зупиняли додаванням до суміші 1 мл 20 % розчину трихлороцтової кислоти. Потім пробірки з розчином центрифугували протягом 15 хв при 3000 об/хв (ОПн-8УХЛ4.2, СРСР), відбирали по 2 мл надосадової рідини, до якої додавали 1 мл 0,8 % розчину 2-тіобарбітурової кислоти і поміщали на 30 хв у киплячу водяну баню. Оптичну густину охолоджених розчинів вимірювали при довжині хвилі 540 нм (КФК-2) відносно буферного розчину в кюветі з довжиною оптичного шляху 1 см. Як препарат порівняння використовували вітамін С в аналогічній концентрації. Антиоксидантну активність розраховували за формулою:

$$АОА = ((E_к - E_0)/E_к) \cdot 100\ \%,$$

або

$$АОА = ((C_к - C_0)/C_к) \cdot 100\ \%,$$ де

АОА, % – антиоксидантна активність, $E_к$ – оптична густина контрольного розчину, E_0 – оптична густина розчину, що містив досліджувані сполуки (або препарат-порівняння), $C_к$ – концентрація МДА у контрольній пробі, C_0 – концентрація МДА у досліджуваній пробі.

Розрахунок вмісту малонового діальдегіду (продуктів переокиснення) здійснювали за формулою:

$$С(МДА) = (E \cdot 106)/1{,}56 \cdot 10^5,$$ де

С(МДА) – концентрація МДА, мкмоль/л, Е – оптична густина проби, 106 – коефіцієнт перерахунку в мкмоль/л, $1{,}56 \cdot 10^5$ – коефіцієнт молярної естинкції триметинового комплексу МДА з 2-ТБК [12].

Результати та їх обговорення. Результати щодо впливу різних концентрацій лікарських рослин та референтного препарату на АОА (табл. 1) є основою для розробки оптимальної математичної моделі залежності «концентрація-активність» і надані на рисунку 1. Математичні моделі, які побудовані з отриманих даних, повною мірою відповідають умовам інтраполяції (рис. 1), про що свідчить наявність явних точок екстремуму. У подальшому це дозволило провести максимально наближений до реальних умов математичний аналіз отриманих моделей.

Із наведених на рисунку 1 графіків видно, що досліджувані лікарські рослини мають неоднаковий характер АОА, на що вказують різні математичні залежності. Важливо наголосити, що більш наближеною математичною моделлю до такої у вітаміну С (препарат порівняння) є модель, яка характеризує гінкго білоба.

Отримані математичні моделі в подальшому аналізували для виявлення точок екстремуму, які власне й є

Таблиця 1

Антиоксидантна активність фітопрепаратів, % (n = 6)

Рослинний екстракт / Концентрації розчинів	Антиоксидантна активність, %			
	3 мг/мл	9 мг/мл	12 мг/мл	15 мг/мл
Гінкго білоба	35,50	52,37	42,12	-9,07
Конюшина лучна	41,46	62,24	54,36	30,97
Каштан кінський	42,30	59,22	45,28	39,13
Вітамін С*	73,48	66,22	70,12	45,63

*Примітка. n – кількість точок вимірювання на кожну концентрацію фітоекстрактів, *препарат порівняння.*

оптимальними концентраціями лікарських рослин, тобто ті, які мають чинити максимальний АО ефект.

Для визначення точок екстремуму отриманих математичних залежностей виходили з тої загальновідомої умови, що точка екстремуму (X_0), а саме максимуму функції повинна відповідати системі:

$$\begin{cases} f'(x_0 - 0) > 0 \\ f'(x_0 + 0) < 0 \end{cases}$$

Таким чином, потрібно розрахувати похідну першого порядку від отриманих математичних залежностей. Так, у випадку препарату порівняння, похідна першого порядку має вигляд $f'(x) = 3{,}59 - 0{,}62x$, для гінкго білоба – $f'(x) = 8{,}81 - 1{,}06x$, для конюшини лучної – $f'(x) = 17{,}23 - 2{,}62x + 0{,}04x^2$. Особливо слід відмітити, що у випадку каштану кінського похідна першого порядку має більш складний вигляд, а саме: $f'(x) = -0{,}23\ x^2 - 0{,}32x + 11{,}16$.

У подальшому вважали за необхідне визначити безпосередньо точки максимуму з залежності $f'(x) = 0$, які відповідають оптимальній концентрації рос-

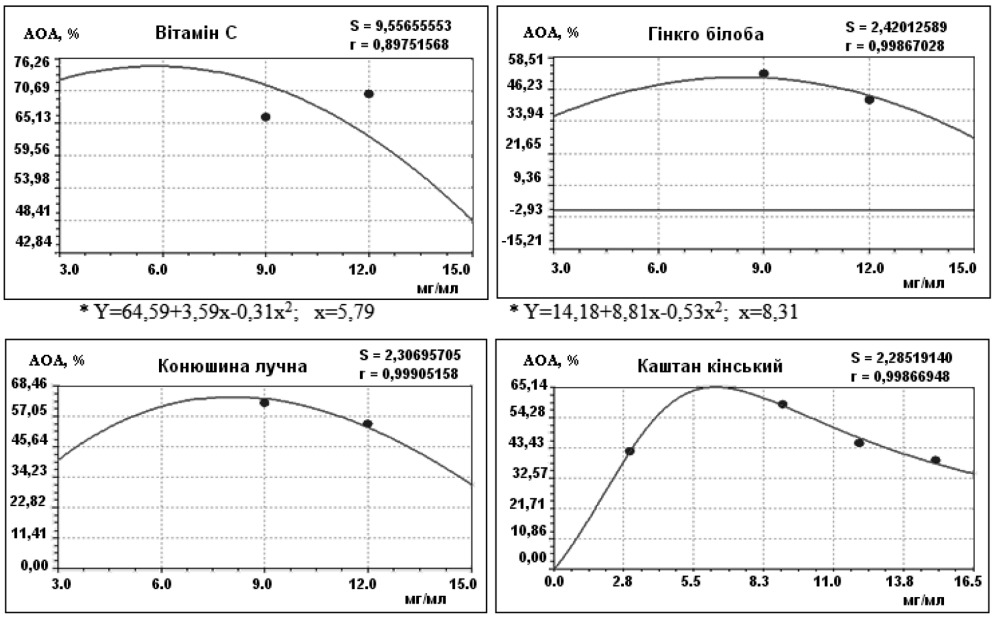


Рис. 1. Графічне зображення оптимальної математичної моделі залежності антиоксидантної активності лікарських рослин від їхньої концентрації

*Примітка. S – стандартна похибка, r – коефіцієнт кореляції, по осі абсцис – концентрація мг/мл, по осі ординат – антиоксидантна активність (АОА), %;, *математична модель: Y – АОА (%), x – концентрація (мг/мл), Вітамін С – препарат порівняння.*

линних препаратів, що вивчаються. Отримані при цьому результати, а також математична модель залежності АОА екстрактів лікарських рослин, що вивчаються, від їхньої концентрації надані в таблиці 2, з якої чітко видно, що оптимальна концентрація досліджуваних фітопрепаратів різна та коливається в межах від 6,15 до 8,31 мг/мл. Варто зазначити, що найближча концентрація до референтного препарату відмічається при внесенні в модельну систему екстракту каштану кінського, відповідно 5,79 та 6,15 мг/мл. Екстракти гінкго білоба та конюшини лучної мають значно більші оптимальні концентрації (8,31 та 8,11 мг/мл відповідно) відносно препарату порівняння.

Таким чином, є підстави вважати, що за величиною оптимальної концентрації найактивнішим як антиоксидант є каштан кінський. Однак для більш коректної оцінки ефективності досліджуваних фітопрепаратів були отримані розрахункові величини АО активностей. Порівняльний аналіз останніх вказує та те, що екстракт каштану кінського за цим критерієм також є найефективнішим фітопрепаратом. Натомість, екстракти гінкго білоба та конюшини лучної, як це видно з таблиці 2, значно поступаються іншим за цими показниками.

Варто наголосити, що отримані розрахункові дані АОА корелюють з величинами, визначеними в модельних дослідах (табл. 1). Ця обставина вказує на доцільність застосування такого типу математичного моделювання та використання розрахункових величин АОА сполук з метою прогнозування даного виду фармакологічної активності на скринінговому етапі дослідження потенційних ліків.

Наступним етапом дослідження було визначення АОА досліджуваних фітокомбінацій за різних співвідношень у них рослинних екстрактів (табл. 3, рис. 2).

Дослідження за модельних умов показують, що різні комбінації лікарських рослин та їхні співвідношення характеризуються різною АОА (табл. 3). Аналіз антиоксидантної активності всіх досліджуваних комбінацій проводили порівняно з референтним препаратом – вітаміном С.

Встановлено, що найефективнішим співвідношенням комбінації рослинних екстрактів гінкго білоба : конюшина лучна є 1:1, активність якої найбільше наближена до такої препарату порівняння (табл. 3).

Оцінка іншої фітокомбінації – гінкго білоба : каштан кінський – вказує, що найрезультативнішим також є співвідношення 1:1 з антиоксидантною активністю 81,05 % проти 69,65 % у референтного препарату.

Аналізуючи комбінацію рослинних екстрактів конюшина лучна : каштан кінський слід зазначити (табл. 3), що її активність майже не залежить від співвідношення фітопрепаратів.

У подальшому вважали за потрібне на підставі експериментальних даних отримати математичні моделі залежності антиоксидантної активності комбінацій

Таблиця 2

Математична модель антиоксидантної активності фітопрепаратів та їхня оптимальна концентрація

Рослинний екстракт	Математична модель*	Оптимальна концентрація, мг/мл	Розрахункова АОА, %
Гінкго білоба	$Y = 14,18 + 8,81x - 0,53x^2$	8,31	50,79
Конюшина лучна	$Y = 0,30 + 17,23x - 1,31x^2 + 0,02x^3$	8,11	64,55
Каштан кінський	$Y = \frac{-0,43 + 11,21x}{1 - 0,14x + 0,02x^2}$	6,15	76,12
Вітамін С*	$Y = 64,59 + 3,59x - 0,31x^2$	5,79	74,99

*Примітка. Y – АОА, %, x – концентрація, мг/мл, *препарат порівняння.*

Таблиця 3

Антиоксидантна активність комбінацій рослинних екстрактів в експерименті in vitro та визначена за результатами математичного моделювання

№ серії	Фітокомбінація	Визначена експериментальна антиокидантна активність, %	Математична модель	Оптимальне співвідношення	Розрахована антиокидантна активність, %
1	Вітамін С*	69,65	–	–	–
2	Гінкго білоба : конюшина лучна (1:1)	67,48	$Y = 21,53 + 71,38\,x - 28,13\,x^2$	(1:0,79) 1,27	66,67
	Гінкго білоба : конюшина лучна (1:2)	50,19			
	Гінкго білоба : конюшина лучна (2:1)	51,76			
3	Гінкго білоба : каштан кінський (1:1)	81,05	$Y = 40,79 + 71,30\,x - 31,04\,x^2$	(1:0,87) 1,15	81,73
	Гінкго білоба : каштан кінський (1:2)	68,68			
	Гінкго білоба : каштан кінський (2:1)	59,23			
4	Конюшина лучна : каштан кінський (1:1)	77,76	$Y = 75,57 + 3,18\,x - 0,99\,x^2$	(1:0,62) 1,61	78,12
	Конюшина лучна : каштан кінський (1:2)	76,91			
	Конюшина лучна : каштан кінський (2:1)	77,98			

*Примітка. Y – АОА, %, x – концентрація, мг/мл, співвідношення концентрацій фітоекстрактів у двокомпонентних композиціях: 1:1 – 4,5 мг/мл : 4,5 мг/мл; 1:2 – 3 мг/мл : 6 мг/мл; 2:1 – 6 мг/мл : 3 мг/мл, (на кожну комбінацію n = 6), *препарат порівняння.*

досліджуваних фітопрепаратів від їхньої концентрації, та на основі цього отримати оптимальні величини співвідношень компонентів з використанням методичного прийому, що застосовувався у випадку дослідження монопрепаратів.

Розраховані оптимальні співвідношення екстрактів лікарських рослин, що комбінуються (гінкго білоба : конюшина лучна, гінкго білоба : каштан кінський, конюшина лучна : каштан кінський), надані в таблиці 3.

По аналогії з дослідженням монопрепаратів вважали за доцільне визначити розрахункові величини АОА вищевказаних комбінацій, які порівнювали з експериментальним рівнем антиоксидантного ефекту референтного препарату. Встановлено, що серед

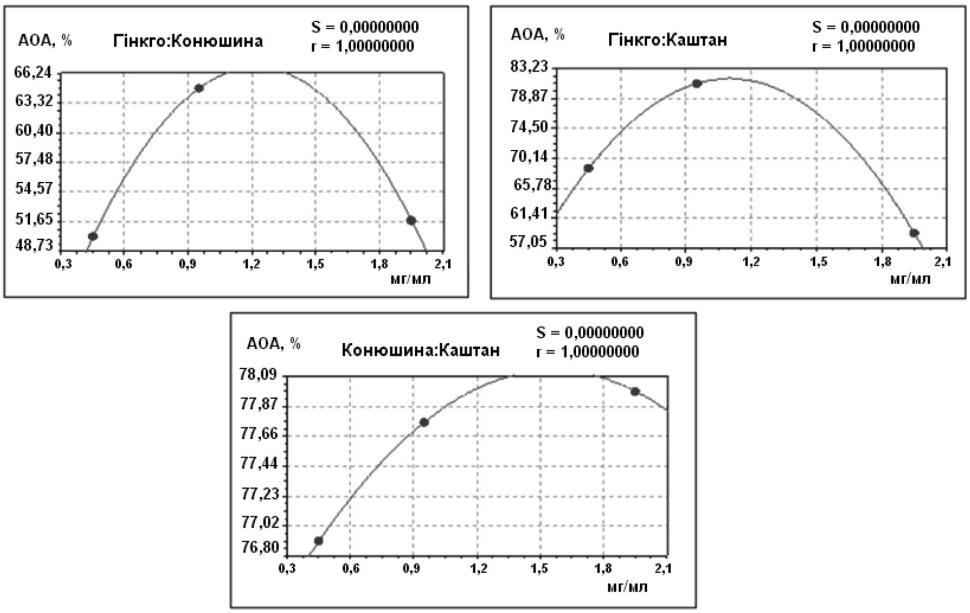


Рис 2. Графічне зображення оптимальної математичної моделі залежності антиоксидантної активності від співвідношення рослинних екстрактів у різних композиціях (гінкго білоба : конюшина лучна, гінкго білоба : каштан кінський, конюшина лучна : каштан кінський)

Примітка. S – стандартна похибка, r – коефіцієнт кореляції, по осі абсцис – концентрація мг/мл; по осі ординат – АОА, %.

усіх вивчених комбінацій з різним співвідношенням екстрактів найефективнішою є гінкго білоба з каштаном кінським, АОА якої дорівнює 81,73 %. Разом з тим, найменш активною фітокомбінацією за розрахунковими величинами є гінкго білоба : конюшина лучна (66,67 %).

Із наведених даних можна дійти висновку, що за результатами експериментально-математичного моделювання найефективнішою слід вважати комбінацію рослинних екстрактів гінкго білоба : каштан кінський у співвідношенні 1:1.

Висновки

1. За результатами експериментального визначення АОА та математичного моделювання найефективнішим фітопрепаратом є екстракт каштану кінського порівняно з іншими екстрактами лікарських рослин, що досліджувались (гінкго білоба, конюшина лучна).
2. Порівняльний аналіз АОА вивчених комбінацій рослинних екстрактів у модельних дослідах показав, що найефективнішим є поєднання гінкго білоба з каштаном кінським у співвідношенні 1:1.

1. Всемирный атлас профилактики сердечно-сосудистых заболеваний и борьбы с ними / Опубликовано Всемирной организацией здравоохранения совместно с Всемирной федерацией сердца и Всемирной организацией по борьбе с инсультом // Под ред. S. Mendis, P. Puska, B. Norrving. – Женева : Всемирная организация здравоохранения, 2013. – 155 с.
2. *Хохлова К. О.* Дослідження з розробки технології настойки для терапії ішемічної хвороби серця / К. О. Хохлова // Фармацевтичний журнал. – 2014. – № 1. – С. 61–65.
3. *Solanki I.* Flavonoid-based therapies in the early management of neurodegenerative diseases / I. Solanki, P. Parihar, M. L. Mansuri // Advances in Nutrition. – 2015. – V. 6, № 1. – P. 64–72.
4. Interactions of pharmacokinetic profile of different parts from Ginkgo biloba extract in rats / H. Guan, D. Qian, H. Ren [et al.] // Ethnopharmacology. – 2014. – V. 12. – P. 110–117.
5. *Халилова Ш. Р.* Количественное содержание изофлавоноидов в сухом экстракте клевера лугового / Ш. Р. Халилова // Хабаршысы. – 2014.– Т. 2, № 3 (68). – С. 71–74.
6. *Малоштан Л. М.* Фармакологічне вивчення настойки каштану кінського / Л. М. Малоштан, А. О. Башура, Н. П. Половко // Фармацевтичний часопис. – 2009. – № 3. – С. 23–35.
7. Свободно-радикальное окисление и атеросклероз / Е. Н. Воробьева, Г. И. Симонова, Р. И. Воробьев, И. Ж. Лещенко // Атеросклероз. –2010. – Т. 6, № 2. – С. 20–27.

8. *Харитонова И. Б.* Проектирование состава композиций лекарственных растений методом математического моделирования / И. Б. Харитонова, Л. А. Силантьева // Технические науки в России и за рубежом: материалы междунар. науч. конф. (г. Москва, май 2011 г.). – Москва : Ваш полиграфический партнер, 2011. – С. 27–31.
9. *Лук'янчук В. Д.* Використання комп'ютерного математичного моделювання в розробці режиму дозування координаційної сполуки германію з нікотинамідом при гіпоксичному синдромі / В. Д. Лук'янчук, Н. В. Вітохіна, Д. С. Кравець // Фармацевтичний журнал. – 2010. – № 3. – С. 94–98.
10. *Криштопенко Д. С.* Непараметрический статистический анализ в зависимости доза-эффект / Д. С. Криштопенко, М. С. Тихов // Сборник тезисов: XIV Международной конференции «Математика. Компьютер. Образование». – Вып. 14. – Пущино, М. Иж. : НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», 2007. – С. 142.
11. *Шутка А. О.* Математично-фармакологічний аналіз режиму дозування нового антигіпоксанта ОК-5 / А. О. Шутка, Д. С. Кравець, В. Д. Лук'янчук // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2010. – Т. 5, № 4. – С. 115–119.
12. Методи оцінки антиоксидантної активності речовин при ініціюванні вільнорадикальних процесів у дослідах *in vitro* [метод. рекоменд.] / І. Ф. Бєленічев, Ю. І. Губський, В. В. Дунаєв [та ін.]. – Київ : ДФЦ МЗ України, 2002. – 26 с.

І. В. Сімонова, В. Д. Лук'янчук, Д. С. Кравець, А. В. Волуй

Експериментально-математичне обґрунтування ефективності оптимальних комбінацій фітопрепаратів, призначених для корекції когнітивно-мнестичних процесів

При ініціюванні багатьох патологічних процесів в організмі, особливо у випадку розвитку атеросклеротичного процесу, вільнорадикальне окиснення ліпідів відіграє тригерну роль. Дослідження антиоксидантних властивостей потенційних антисклеротичних засобів, зокрема рослинних екстрактів гінкго білоба, конюшини лучної, каштану кінського та їх комбінацій, є важливою передумовою доклінічного вивчення. Для вирішення даного завдання ключовим питанням видається визначення оптимальних концентрацій екстрактів вищезазначених фітопрепаратів та їхніх комбінацій у дослідах *in vitro*, що досягалося експериментально та з застосуванням методу математичного моделювання залежності концентрації лікарських засобів від їхньої здатності реалізувати антиоксидантну активність. Здатність досліджуваних фітопрепаратів та їхніх комбінацій протистояти процесам переокиснення визначали за допомогою методу неферментативного ініціювання вільнорадикального окиснення солями заліза (II) в модельному середовищі з суспензією яєчних ліпопротеїдів.

За результатами проведеного дослідження, як в експериментах *in vitro*, так і на етапі розробки математичної моделі, встановлено, що найвиразнішу антиоксидантну активність серед лікарських рослин, що вивчалися, проявляє екстракт каштану кінського. Серед досліджуваних фітокомбінацій максимально ефективною за антиоксидантними властивостями є гінкго білоба : каштан кінський у співвідношенні 1:1. Аналіз експериментальних даних та отриманих математичних моделей дозволяє заключити, що найоптимальнішим співвідношенням рослинних екстрактів у композиції є 1:1, оскільки саме такий розподіл фітокомпонентів реалізує максимальну здатність протистояти процесам переокиснення, що може бути експериментально-математичним обґрунтуванням оптимального режиму дозування фітопрепаратів та їхніх комбінацій, призначених для корекції когнітивно-мнестичних процесів.

Ключові слова: екстракт гінкго білоба, екстракт конюшини лучної, екстракт каштану кінського, антиоксидантна активність, дозовий режим, математичне моделювання

И. В. Симонова, В. Д. Лукьянчук, Д. С. Кравец, А. В. Волуй

Экспериментально-математическое обоснование эффективности оптимальных комбинаций фитопрепаратов, предназначенных для коррекции когнитивно-мнестических процессов

При инициации многих патологических процессов в организме, особенно в случае атеросклеротического процесса, свободнорадикальное окисление липидов играет тригерную роль. Исследования антиоксидантных свойств потенциальных антисклеротических средств, в частности растительных экстрактов гинкго билоба, клевера лугового, каштана конского и их комбинаций, является важной предпосылкой доклинического изучения. Для решения данного задания ключевым вопросом становится определение оптимальных концентраций экстрактов указанных выше фитопрепаратов и их комбинаций в опытах *in vitro*, что достигалось экспериментально и с применением метода математического моделирования зависимости концентрации лекарственных средств от их способности реализовать антиоксидантную активность. Способность исследуемых фитопрепаратов и их комбинаций противостоять процессам переокисления определяли с помощью метода неферментативного инициирования свободнорадикального окисления солями железа (II) в модельной системе суспензии яичных липопротеидов.

По результатам проведенного исследования, как в экспериментах *in vitro*, так и на этапе разработки математической модели, установлено, что наиболее выраженную антиоксидантную активность среди лекарственных растений, которые изучались, проявляет экстракт каштана конского. Среди исследуемых фитокомбинаций максимально эффективной по антиоксидантным свойствам является гинкго билоба : каштан конский в соотношении 1:1. Анализ экспериментальных результатов и полученных математических моделей позволяет утверждать, что наиболее оптимальным соотношением растительных экстрактов в композиции является 1:1, поскольку именно такое распределение фитокомпонентов реализует максимальную способность противостоять процессам переокисления, что может быть экспериментально-математическим обоснованием оптимального режима дозирования фитопрепаратов и их комбинаций, предназначенных для коррекции когнитивно-мнестических процессов.

Ключевые слова: экстракт гинкго билоба, экстракт клевера лугового, экстракт каштана конского, антиоксидантная активность, дозовый режим, математическое моделирование

I. V. Simonova, V. D. Lukyanchuk, D. S. Kravets, A. V. Volui

Experimental- mathematical justification effectiveness of optimal combination of herbal medication that intended for correction of cognitive-mnestic processes

It is well known that free radical oxidation of lipids plays a triggering role in initiation of many pathological processes in the body, especially in the case of atherosclerotic process development. Studies of antioxidant properties of potential anti-sclerotic agents, including plant extracts of Ginkgo biloba, red clover, horse chestnut and their combinations are an important prerequisite for pre-clinical drugs trials. Determination the optimal concentrations of the above herbal medications and their combinations in experiments *in vitro* has been conducted to solve this problem. This was achieved by using the method of mathematical modeling dependence of antioxidant drugs activity from concentration. Antioxidant activity of herbal medication was determined by the method of free-radical initiation non-enzymatic oxidation of lipids by iron salt (II) in a simulated environment with a suspension of egg lipoproteins.

The data obtained as the result of experiments and mathematical modeling found that the most distinct antioxidant activity of investigated extracts of medicinal plants was demonstrated by horse chestnut extract. Among the others phyto combinations the most effective antioxidant properties were revealed in ginkgo biloba: horse chestnut at a ratio of 1:1. Analysis the data obtained using mathematical models suggests that the most optimal ratio of plant extracts in the composition is 1:1, because namely this distribution of herbal medication realizes the maximum ability to counteract the process of peroxidation that can serve as experimental-mathematical justification of optimal dosing regimen of herbal drugs and their combinations that intended for correcting cognitive-mnestic processes.

Key words: Ginkgo biloba extract, clover extract, horse chestnut extract, antioxidant activity, dose regimen, mathematical modeling

Надійшла: 3 лютого 2016 р.

Контактна особа: Сімонова Ірина Володимирівна, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Ежена Потьє, м. Київ, 03680. Тел.: + 38 0 44 456 42 56.

УДК 617.7 - 085:615-549.766.412 (092.9)

Г. С. Фесюнова[1,2], В. В. Віт[1], Н. І. Молчанюк[1], О. П. Сотнікова[1,2], Г. С. Григор'єва[3]

Експериментальна верифікація безпечності періокулярних способів застосування ліпосомальної форми кверцетину в офтальмології

[1]Державна установа «Інститут очних хвороб і тканинної терапії імені В. П. Філатова Національної академії медичних наук України», м. Одеса

[2]Товариство з обмеженою відповідальністю «Наномедтех», м. Київ

[3]Державна установа «Інститут фармакології та токсикології Національної академії медичних наук України», м. Київ

Ключові слова: ліпосомальна форма кверцетину, періокулярний спосіб уведення, гістологія, ультраструктура

Одним з перспективних напрямів оптимізації ефектів та таргетності дії лікарського засобу є розширення переліку способів його клінічного застосування. Стосовно офтальмології це передбачає цілеспрямований пошук препаратів, для яких можливе поєднання традиційних інстиляцій з періокулярним уведенням. Така схема може бути особливо ефективною за використання ліпосом, амбівалентність будови яких апріорі створює умови для проникнення лікарського засобу до різних структур ураженого ока. Важливою передумовою реалізації такого підходу є встановлення безпечності періокулярного застосування, яке для ліпосомальних офтальмологічних препаратів досі взагалі не вивчали.

Відомий лікарський засіб Ліпофлавон, очні краплі, що містить кверцетин у фосфатидилхолінових ліпосомах, є ефективною системою транспорту біофлавоноїда (drug delivery system). Кверцетин має виключно високу антиоксидантну активність, інгібує синтез прозапальних лейкотрієнів, зменшує патологічно підвищену судинно-тканинну проникненість і нормалізує трофіку тканин. Фосфатидилхолін виявляє антиоксидантні, антигіпоксичні та мембраностабілізуючі властивості. Ліпосомальна будова Ліпофлавону при інстиляціях забезпечує офтальмодоступність кверцетину, субстанції якого притаманна вкрай низька розчинність і біодоступність.

Ліпофлавон застосовують як протизапальний засіб, стимулятор регенерації пошкоджених тканин ока, імунокоректор і антиоксидант у хворих з травматичними ураженнями рогівки, кератитами різного генезу, при запальних захворюваннях переднього відділу ока, дегенеративних змінах сітківки та зорового нерва, у комплексному лікуванні діабетичної ретинопатії [1–5]. Позитивні результати численних експериментальних і клінічних досліджень інстиляцій Ліпофлавону свідчать про актуальність обґрунтування інших способів його введення та розширення показів до його клінічного використання.

Мета дослідження – визначення впливу періокулярного введення препарату «Ліпофлавон» на зовнішні та внутрішні структури ока та встановлення можливих небажаних наслідків з використанням показових гістологічних та електронно-мікроскопічних методів досліджень.

Матеріали та методи. У дослідженні використано зразки дослідно-промислової серії Ліпофлавону (ТОВ «НаноМедТех») наступного складу: фосфатидилхолін – 27,5 мг, кверцетин – 0,75 мг (флакон 1); ліофілізований порошок: ліпосоми з розміром (116 ± 5) нм (96,6 %); розчинник – натрія хлориду розчин 0,9 % (флакон 2). Зазначені

© Колектив авторів, 2016

зразки за показниками МКЯ є фармацевтично еквівалентними ліцензованому в Україні препарату «Ліпофлавон, очні краплі».

Дослідження проведені на шести (12 очей) статевозрілих здорових кролях породи Шиншила обох статей масою 2,2–3,0 кг, віком 6–7 місяців, вирощених у віварії ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії імені В. П. Філатова НАМН України». Тварин утримували в індивідуальних клітках за температури 20–25 °С, вологості – не більше 50 %, природного світлового режиму «день-ніч», на стандартному харчовому раціоні. Поводження з тваринами відповідало правилам «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей» [6].

Періокулярне введення Ліпофлавону (субкон'юнктивальний та парабульбарний спосіб) проводили в стерильних умовах з використанням анестетику алкаїну. При кожному способі застосування кролям одноразово вводили 1 мл емульсії, утвореної після поєднання ліофілізованого препарату з розчинником та струшування протягом 1 хв. Зразки тканин ока забирали через 2 доби після введення препарату. Евтаназію тварин здійснювали методом повітряної емболії відповідно до «Вимог біоетики Гельсінської декларації про етичне регулювання медичних досліджень» [7].

Вивчення структурних змін кон'юнктиви, рогівки, сітківки та увеального тракту проводили після енуклеації очей експериментальних тварин та фіксації в 10 % нейтральному формаліні з наступною заливкою в парафін. Зрізи фарбували гематоксиліном і еозином [8].

Ультраструктурні дослідження кон'юнктиви, рогівки, склери, сітківки, судинної оболонки й зорового нерва кроля проводили після фіксації тканини в 2,5 % розчині глютаральдегіду в фосфатному буфері (pH 7,4) з наступною дофіксацією 1 % розчином осмієвої кислоти в тому самому буферному розчині. Далі зразки зневоднювали в спиртах висхідної міцності та просочували матеріал у суміші смол Епонаралдит. Ультратонкі зрізи контрастували розчинами уранілацетату та цитрату свинцю за E. S. Reynoldes [9]. Перегляд і фотографування зрізів здійснювали на електронному мікроскопі ПЕМ-100-01. Усього отримано та проаналізовано 72 електронних мікрофотографії.

Результати та їх обговорення. При макроскопічному обстеженні ока та повік не виявлено наслідків субкон'юнктивального чи/та парабульбарного введення препарату (почервоніння, крововиливи, подразнення тощо).

Світлооптичні зміни кон'юнктиви і рогівки після субкон'юнктивального введення Ліпофлавону. Кон'юнктива експериментальних тварин має звичайну будову. Епітелій кон'юнктиви складається з трьох або чотирьох шарів епітеліоцитів; плоский, не ороговіючий. В області лімба епітелій багатошаровий з переважанням дрібних клітин циліндричної або кубічної форми з невеликим обідком цитоплазми та гіперхромними ядрами (рис. 1).

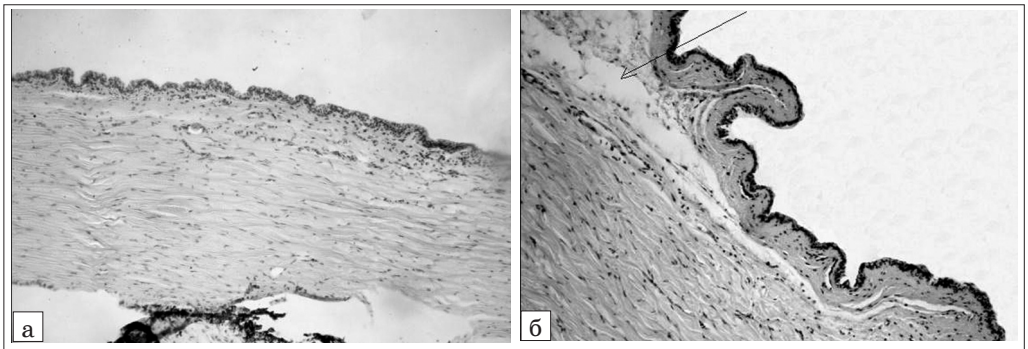


Рис. 1 а, б. Бульбарна кон`юнктива (а) і кон`юнктива в області лімба (б) без виражених структурних змін. Відзначається незначний набряк субепітеліальної сполучної тканини (стрілка). Збільш. × 40, 120. Забарвлення гематоксилін-еозином

У кон'юнктиві визначаються також бокалоподібні клітини. В області лімба кон'юнктива складається приблизно з 10 шарів епітеліальних клітин. У підслизовій сполучній тканині визначаються кровоносні судини, навколо яких є скупчення лімфоцитів і меланоцитів (рис. 2).

Наявний незначний набряк строми, але відсутні будь-які виражені патологічні зміни кон'юнктиви.

Патологічні зміни не встановлено й у роговій оболонці. Відзначається тільки незначний набряк поверхневих клітин і строми. Структурні зміни строми та заднього епітелію (ендотелію) відсутні (рис. 3).

Таким чином, субкон'юнктивальне введення препарату не впливає на структури кон'юнктиви та рогової оболонки.

Світлооптичні зміни сітківки та увеального тракту після парабульбарного введення Ліпофлавону. При парабульбарному введенні препарату виявлено незначний набряк шару гангліозних клітин сітківки (рис. 4). Будь-яких структурних змін інших шарів сітківки, а також увеального тракту і пігментного епітелію не виявлено.

Відсутні ознаки запалення. В одному спостереженні в ретробульбарних тканинах проявляється гомогенна слабо базофільна однорідна речовина, що, скоріше за все, є залишком ліпідної матриці введеного препарату (рис. 5).

Таким чином, парабульбарне введення Ліпофлавону не спричиняє суттєвих структурних змін судинної оболонки та сітківки.

Ультраструктурні зміни кон'юнктиви після субкон'юнктивального введення Ліпофлавону. Епітеліальний покрив кон'юнктиви складається з клітин з чіткою ультраструктурною організацією. Поверхневі та середні шари епітелію кон'юнктиви містять клітини з округлими ядрами. Цитоплазма багата на органели: мітохондрії, рибосоми, полісоми, а також мікрофібрили (рис. 6).

Клітини базального епітелію відрізняються великими ядрами з грудочками хроматину або периферичним гіперхроматозом і містять великі ядерця. У цитоплазмі клітин рясна кількість вільних рибосом, полісом, мітохондрій та інших органел (рис. 7).

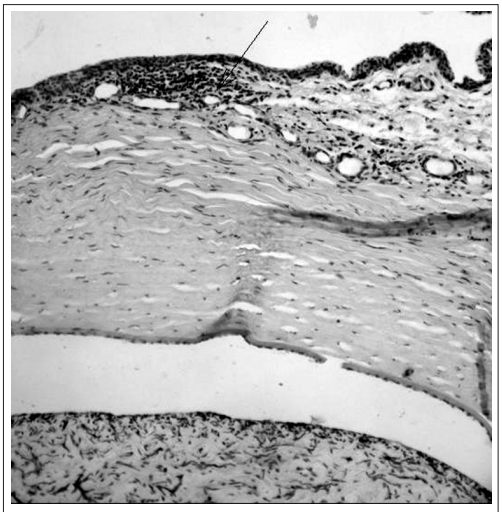


Рис. 2. Кон`юнктива в області лімба. Відзначається формування периваскулярних лімфоїдних муфт (стрілка). Збільш. × 70. Забарвлення гематоксилін-еозином

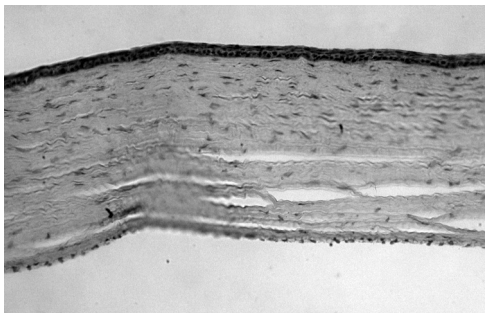


Рис. 3. Рогова оболонка. Патологічні зміни відсутні. Збільш. × 40. Забарвлення гематоксилін-еозином

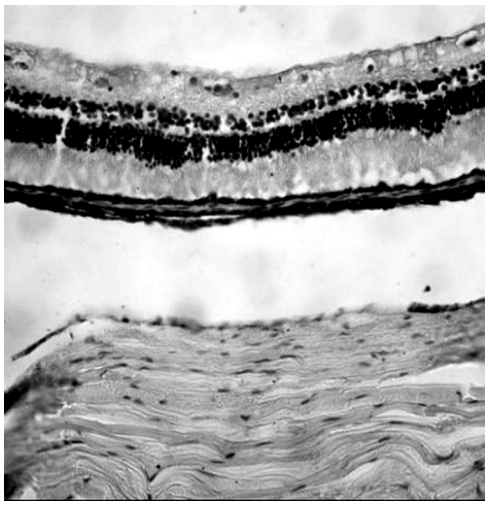


Рис. 4. Сітківка. Відзначається наявність незначного набряку шару нервових волокон і гангліозних клітин. Збільш. × 40, 180. Забарвлення гематоксилін-еозином

Рис. 5. Скупчення однорідного слабо базофільного матеріалу в м`яких тканинах орбіти поблизу очного яблука. Збільш. × 40. Забарвлення гематоксилін-еозином

Субепітеліальна тканина відрізняється ознаками невеликого міжклітинного набряку, розпушена (рис. 8). Вона містить сполучнотканинні клітини звичайної структури та невеликі пучки колагенових фібрил, розташованих у різних напрямках. Частина фібробластів відрізняється підвищеним вмістом органел у цитоплазмі клітини (рис. 9).

Наведений опис свідчить про те, що Ліпофлавон практично не модифікує тканину кон'юнктиви. Однак слід зазначити, що в клітинах базального епітелію частина фібробластів субепітеліальної області має ознаки підвищеної активності, про що свідчить

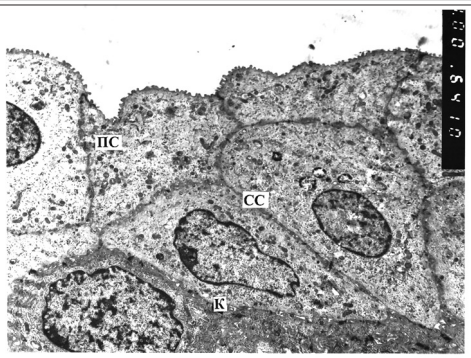


Рис. 6. Ультраструктура кон`юнктиви після субкон`юнктивального введення Ліпофлавону. Поверхневі та середні шари переднього епітелію без структурних змін. Електронна мікрофотографія. Збільш. × 15 000

Примітка. К – кон'юнктива, ПС – поверхневі шари переднього епітелію рогівки, СС – середні шари переднього епітелію рогівки.

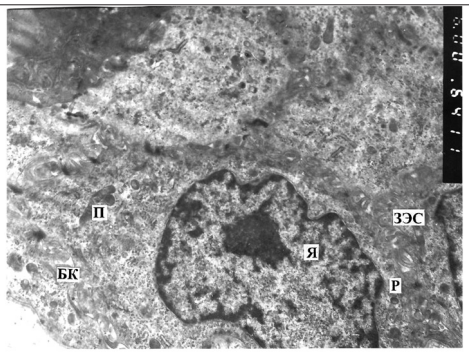


Рис. 7. Ультраструктура кон'юнктиви після субкон'юнктивального введення Ліпофлавону. Клітина базального епітелію з великим ядром і рясною цитоплазмою, що містить велику кількість органел. Електронна мікрофотографія. Збільш. × 6000

Примітка. БК – базальна клітина, Я – ядро, Р – рибосоми, ЗЭС – зерниста ендоплазматична сітка, П – полісоми.

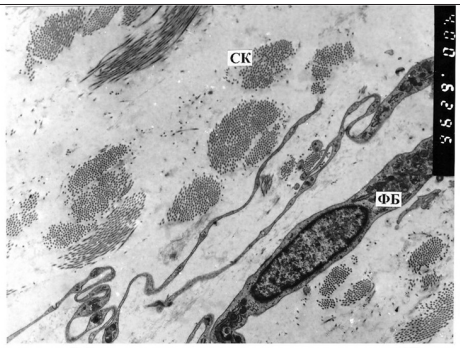


Рис. 8. Ультраструктура кон'юнктиви після субкон'юнктивального введення Ліпофлавону. Загальний вигляд строми субепітеліального відділу. Невеликі ознаки міжклітинного набряку. Електронна мікрофотографія. Збільш. × 4000

Примітка. СК – строма кон'юнктиви, ФБ – фібробласт.

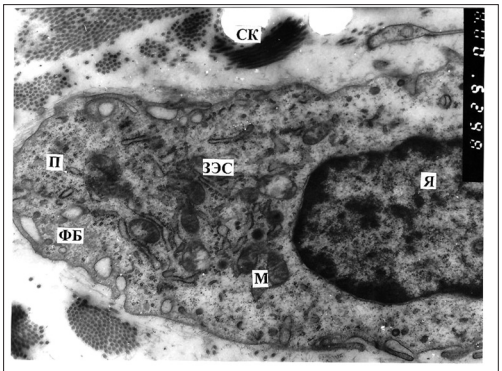


Рис. 9. Ультраструктура кон'юнктиви після субкон'юнктивального введення Ліпофлавону. Фрагмент фібробласта з великою кількістю різноманітних органел у цитоплазмі. Електронна мікрофотографія. Збільш. × 8000

Примітка. СК – строма кон'юнктиви, ФБ – фібробласт, Я – ядро, М – мітохондрія, ЗЭС – зерниста ендоплазматична сітка, П – полісома.

порівняно великий вміст у них органел як білоксинтезуючих і енергоутворюючих систем.

Ультраструктурні зміни рогівки після субкон'юнктивального введення Ліпофлавону. Передній епітелій рогівки при електронно-мікроскопічному дослідженні має чітку ультраструктурну організацію. Базальні клітини великі зі специфічними утвореннями, полудесмосомами, і базальною мембраною (рис. 10). Строма рогівки складається з типових колагенових ламел і сплощених кератоцитів з довгими відростками (рис. 11). Десцеметова мембрана звичайного вигляду. Задній епітелій складається з одного ряду клітин, зі сплощеними ядрами та великою кількістю типових цитоплазматичних органел (рис. 12).

Таким чином, за результатами електронно-мікроскопічного дослідження субкон'юктивальне введення Ліпофлавону не призводить до змін ультраструктури рогівки.

Ультраструктурні зміни судинної оболонки, сітківки та склери після парабульбарного введення Ліпофлавону. Сполучнотканинна основа судинної оболонки містить ознаки набряку. Пучки колагенових фібрил роз'єднані, колагенові фібрили розпушені, ендотелій стінки хоріокапілярів дуже тонкий. Частина ендотеліальних клітин хоріокапілярів у нормальному стані. Окремі клітини різко набряклі. У хоріокапілярах невиражена фенестрація ендотеліальних клітин. Міжклітинний набряк також спостерігається в тканинах мембрани Бруха. Базальна складчастість пігментного епітелію сітківки виражена, проте її елементи відрізняються розширеннями різноманітної форми з електронно-прозорим вмістом. У цитоплазмі клітин також підвищена кількість везикул і вакуолів з електронно-прозорим вмістом. Спостерігається розпушення строми судинної оболонки, витончення ендотеліальної вистилки хоріокапілярів, дезорганізація мембрани Бруха та гідропічні зміни в цитоплазмі пігментного епітелію. Апікальна область клітин і зовнішніх сегментів фоторецепторів клітин без змін (рис. 13).

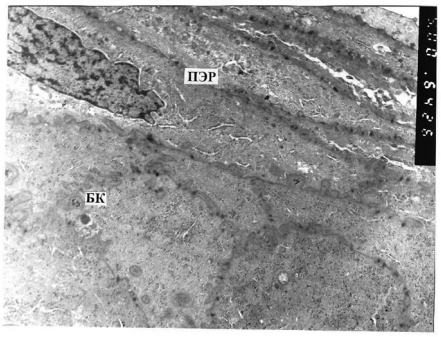


Рис. 10. Ультраструктура рогівки після субкон'юнктивального введення Ліпофлавону. Передній епітелій рогівки з великими базальними клітинами та не зміненою структурою. Електронна мікрофотографія. Збільш. × 5000

Примітка. ПЭР – передній епітелій рогівки, БК – базальна клітина.

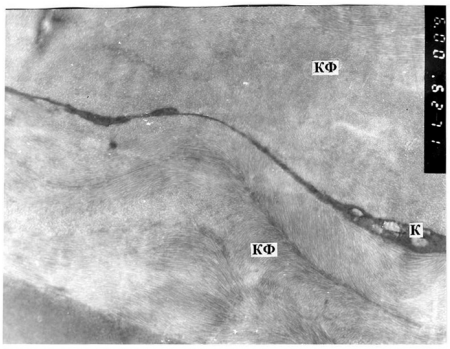


Рис. 11. Ультраструктура рогівки після субкон'юнктивального введення Ліпофлавону. Колагенові волокна строми рогівки з кератоцитами. Їхня структура практично не змінена. Електронна мікрофотографія. Збільш. × 6000

Примітка. К – кератоцит, КФ – колагенові фібрили.

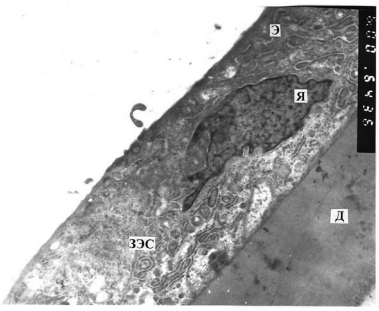


Рис. 12. Ультраструктура рогівки після субкон'юнктивального введення Ліпофлавону. Клітина ендотелію зі звичайною ультраструктурою. Електронна мікрофотографія. Збільш. × 6000

Примітка. Д – десцеметова оболонка, Э – ендотелій, Я – ядро, ЗЭС – зерниста ендоплазматична сітка.

Разом з тим, на інших ділянках зрізу описані зміни значно менш виражені. Стан структур хоріокапілярів і клітин пігментного епітелію практично не відрізняється від норми. Гідропічні зміни, в основному, присутні на окремих ділянках цитоплазми клітин пігментного епітелію сітківки. Апікальна область без змін (рис. 14). Структура пігментного епітелію сітківки, у цілому, зберігається, включаючи базальну складчастість. Фоторецепторні клітини мають нормальну ультраструктуру, як й інші відділи сітківки. Ядерна частина фоторецепторних клітин без змін (рис. 15). Гангліозна клітина з невеликим набуханням мітохондрій у цитоплазмі (рис. 16).

Після парабульбарного введення Ліпофлавону клітинні елементи й сполучнотканинні волокна практично без особливостей (рис. 17).

Таким чином, на підставі узагальнених гістоморфологічних даних щодо наслідків субкон'юнктивального та парабульбарного введення Ліпофлавону можна зробити висновок про відсутність негативного впливу на структури кон'юнктиви та рогової оболонки, а також суттєвих структурних змін судинної оболонки та сітківки.

При електронно-мікроскопічному дослідженні встановлено, що після субкон'юнктивального введення Ліпофла-

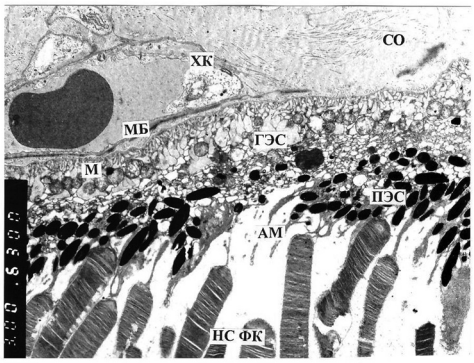


Рис. 13. Ультраструктура хоріокапілярів і сітківки після парабульбарного введення Ліпофлавону. Електронна мікрофотографія. Збільш. × 3000

Примітка. СО – судинна оболонка, ХК – хоріокапіляри, МБ – мембрана Бруха, ПЭС – пігментний епітелій сітківки, ГЭС – гладка ендоплазматична сітка, М – мітохондрії, АМ – апікальні мікровілли, НСФК – зовнішні сегменти фоторецепторних клітин.

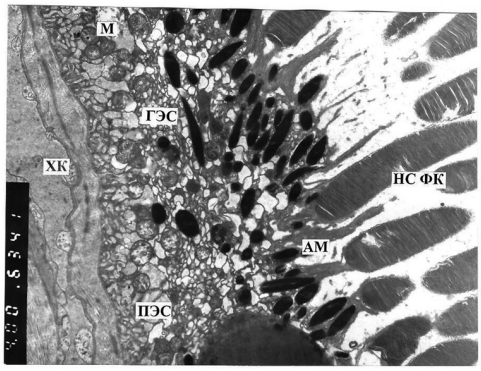


Рис. 14. Ультраструктура хоріокапілярів і сітківки після парабульбарного введення Ліпофлавону. Електронна мікрофотографія. Збільш. × 4000

Примітка. ХК – хоріокапіляри, ПЭС – пігментний епітелій сітківки, М – мітохондрії, ГЭС – гладка ендоплазматична сітка, АМ – апікальні мікровілли, НСФК – зовнішні сегменти фоторецепторних клітин.

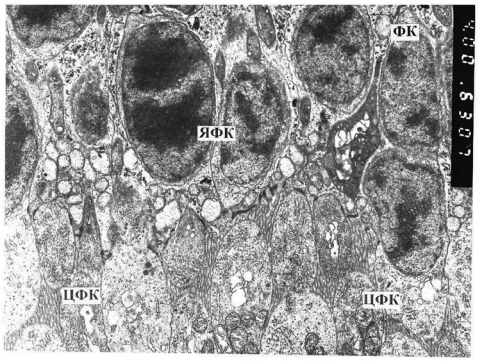


Рис. 15. Ультраструктура сітківки після парабульбарного введення Ліпофлавону. Електронна мікрофотографія. Збільш. × 4000

Примітка. ФК – фоторецепторні клітини, ЯФК – ядра фоторецепторних клітин, ЦФК – цитоплазма фоторецепторних клітин.

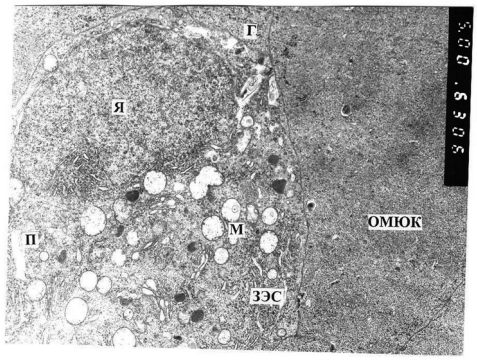


Рис. 16. Ультраструктура сітківки після парабульбарного введення Ліпофлавону. Електронна мікрофотографія. Збільш. × 5000

Примітка. Г – гангліозна клітина, ЗЭС – зернистa ендоплазматична сітка, М – мітохондрії, Я – ядро, П – полісоми, ОМЮК – відростки мюллеровських клітин.

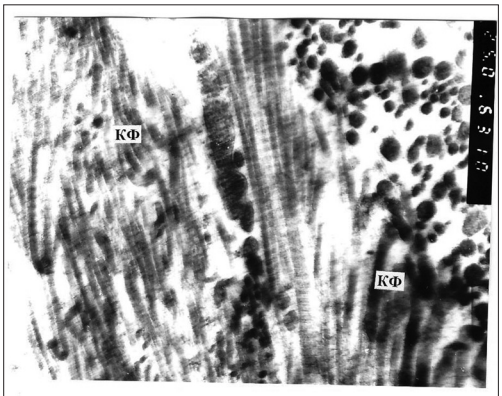


Рис. 17. Ультраструктура склери після парабульбарного введення Ліпофлавону. Нормальна ультраструктура колагенових фібрил склери. Електронна мікрофотографія. Збільш. × 25000

Примітка. КФ – колагенові фібрили склери.

вону зберігається нормальна організація структур заднього епітелію та задніх шарів строми рогівки, а також ультраструктури кон'юнктиви. Стан клітин переднього епітелію дещо змінений через набряк органел частини базальних клітин. Незначний набряк також спостерігається в сполучнотканинних суб'епітеліальних структурах строми рогівки.

При парабульбарному введенні в судинній оболонці є окремі прояви міжклітинного набряку строми. У хоріокапілярах у деяких клітинах виявляються просвітлення цитоплазми та елементи набряку внутрішньоклітинних структур, але переважна частина ендотеліальних клітин хоріокапілярів знаходиться в нормальному стані. Сітківка зберігає свою нормальну організацію й ультраструктуру. Місцями в шарах сітківки відмічаються клітини з проявами набряку внутрішньоклітинних органел, що переважно стосується пігментного епітелію сітківки.

Висновок

Отримані результати свідчать про відсутність небажаних очних проявів за різних обраних способів періокулярного введення Ліпофлавону, причому субкон'юнктивальне введення є практично нешкідливим щодо структури та ультраструктури кон'юнктиви, рогової оболонки та сітківки, а незначні зміни за парабульбарного введення не розглядаються як серйозні.

Верифікація періокулярних способів уведення Ліпофлавону створює перспективу розширення шляхів застосування ліпосомального засобу при очних патологіях для цілеспрямованої доставки препарату до осередку ураження.

1. *Краснопольский Ю. М.* Фармацевтическая биотехнология: бионанотехнология в фармации и медицине / Ю. М. Краснопольский, А. С. Дудниченко, В. И. Швец. – Харьков : Издательский центр НТУ «ХПИ», 2011.– № 1. – С. 219–221.
2. *Пасечникова Н. В.* Клинико-биохимическое обоснование применения препарата «Липофлавон» у больных возрастной катарактой после операции экстракции катаракты и имплантации продуктов перекисного окисления / Н. В. Пасечникова, Р. А. Горшкова // Украинский мед. альманах.– 2006.– Т. 9, № 1. – С. 214–218.
3. *Пасечникова Н. В.* Экспериментальное обоснование применения Липофлавона для снижения степени послеоперационной воспалительной реакции / Пасечникова Н. В., Горшкова Р. А. // Офтальмол. журн. – 2006. – № 2. – С. 36–40.
4. *Петруня А. М.* Эффект применения глазных капель и инъекционной формы препарата Липофлавон у больных непролиферативной диабетической ретинопатией / А. М. Петруня, А. В. Спектор. – Офтальмологический журнал. – 2007. – № 2. – С. 36–39.
5. *Иванова Н. В.* Значение провоспалительных факторов в прогрессировании диабетической ретинопатии, патогенетическое обоснование и эффективность их коррекции / Иванова Н. В., Ярошева Н. А. // Новости медицины и фармации. – № 9 (325). – 2010.
6. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes // Council of Europe. – Strasbourg, 1986. – 53 p.
7. *Norman H. J.* Requirements of bioethics of Helsinki declaration about ethical regulation of medical researches / H. J. Norman // Хроніка ВООЗ. – 1985. – Т. 39, № 3. – С. 3–9.
8. *Матвієнко А. В.* Морфологічні дослідження на етапі доклінічного вивчення лікарських засобів / Матвієнко А. В., Степанова Л. В. // Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації; Під ред. О. В. Стефанова. – Київ : Авіцена, 2001. – С. 196–208.
9. *Reynoldes E. S.* The use of lead citrate at higt pH an electron opaque stain in electron microscopy / Reynoldes E. S. // J. of Cell Biol. – 1963. – V. 17. –P. 208–212.

Г. С. Фесюнова, В. В. Віт, Н. І. Молчанюк, О. П. Сотнікова, Г. С. Григор'єва

Експериментальна верифікація безпечності періокулярних способів застосування ліпосомальної форми кверцетину в офтальмології

Мета дослідження – визначення впливу періокулярного введення ліпосомального препарату «Ліпофлавон» на зовнішні та внутрішні структури ока та встановлення можливих небажаних наслідків з використанням показових гістологічних та електронно-мікроскопічних експериментальних методів.

Отримані результати свідчать про відсутність небажаних очних проявів за різних обраних способів періокулярного введення Ліпофлавону, причому субкон'юнктивальне введення є практично нешкідливим щодо структури та ультраструктури кон'юнктиви, рогової оболонки та сітківки при мінімальних змінах за парабульбарного введення.

Верифікація періокулярних способів уведення Ліпофлавону створює перспективу розширення шляхів застосування ліпосомального засобу при очних патологіях для цілеспрямованої доставки препарату до осередку ураження.

Ключові слова: ліпосомальна форма кверцетину, періокулярні шляхи введення, гістологія, ультраструктура

Г. С. Фесюнова, В. В. Вит, Н. И. Молчанюк, Е. П. Сотникова, А. С. Григорьева

Экспериментальная верификация безопасности периокулярных способов применения липосомальной формы кверцетина в офтальмологии

Цель исследования – определение влияния периокулярного введения липосомального препарата «Липофлавон» на внешние и внутренние структуры глаза и установление возможных нежелательных последствий с использованием показательных гистологических и электронно-микроскопических экспериментальных методов.

Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии нежелательных глазных проявлений при разных выбранных способах периокулярного введения Липофлавона, причем субконъюнктивальное введение практически безопасно для структуры и ультраструктуры конъюнктивы, роговой оболочки и сетчатки, а изменения при парабульбарном введении минимальны.

Верификация периокулярных способов введения Липофлавона создает перспективу расширения путей применения липосомального средства при глазных патологиях для целенаправленной доставки препарата в очаг поражения.

Ключевые слова: липосомальная форма кверцетина, периокулярные пути введения, гистология, ультраструктура

G. S. Fesiunova, V. V. Vit, N. I. Molchaniuk, O. P. Sotnikova, G. S. Grigoryeva

Experimental verification of the safety of periocular application of quercetin liposomal form in ophthalmology

The aim of the study is to determine the impact of periocular application of liposomal drug «Lipoflavon» on the external and internal structures of the eye and to establish the possible adverse effects using the representative histological and electron-microscopic experimental methods.

The results indicate the absence of adverse ocular manifestations in different chosen ways of periocular Lipoflavon injections: subconjunctival administration is practically safe for the structure and the ultrastructure of conjunctiva, cornea and retina, with minimal changes under parabulbarnian administration.

The verification of periocular Lipoflavon injections creates the prospect of expanding the ways of liposomal agent application in ocular pathologies for targeted delivery of the drug to the lesion focus.

Key words: quercetin liposomal form, periocular administration, histology, ultrastructure

Надійшла: 21 січня 2016 р.

Контактна особа: Фесюнова Г. С., ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії імені В. П. Філатова НАМН України», буд. 49/51, Французький бульвар, 65061, м. Одеса.
Тел.: + 38 0 48 729 83 48.

Рецензия на монографию Л. Т. Киричек, А. В. Перепелица, Р. О. Кальчук «Лекарственный антистресс в эксперименте (иммобилизация, травма, воспаление)», Харьков, НПТ «Контракт», 2015 г.

Прежде всего, огромное спасибо профессору Л. Т. Киричек за то постоянство, с которым Людмила Трофимовна снова и снова возвращает нас, фармакологов, к проблеме медикаментозного сопровождения стресса. Впервые в Украине в национальные учебники и руководства по фармакологии вошла группа «Стреспротекторні препарати» («Фармакологія», 2011 р., розділ 12). Предлагаемое авторами новое научное издание «Лекарственный антистресс в эксперименте» действительно представляет собой монографию, в которой с особой тщательностью и, в то же время, лаконично изложены общебиологические, патофизиологические, биохимические, фармакологические и методические аспекты стресса на примере иммобилизации, травмы, воспаления. Можно видеть подчеркнутую авторами связь между специфическими и неспецифическими проявлениями стресса в условиях экспериментальных эквивалентов клинически значимых патологических состояний.

Заслуживает уважения избранный авторами способ дискретной подачи материала – это выделение разделов (иммобилизация, травма, воспаление) и подразделов (определение конкретного стресса и его подвидов, например, при воспалении); представление о механизмах развития на системном уровне и ключевых защитных реакций на клеточном, субклеточном и молекулярном уровнях, которые, безусловно, отражаются на функциональных состояниях так называемых органов-мишеней, особенно чувствительных к стрессу. Описаны способы моделирования стресс-обусловленных патологических состояний, определены маркеры их соответствия клинико-лабораторным проявлениям.

Особое внимание в монографии отведено возможностям медикаментозного управления стрессовыми реакциями. Это, прежде всего, антистрессовые препараты нейрометаболического действия и представители ряда других фармакотерапевтических/фармакологических групп. Приводится доказательная база их эффективности, сравнительной активности, дается убедительное резюме.

Что бы хотелось отметить еще?! Это пожелание в своих публикациях чаще вспоминать об определении группы «Стресспротекторы» или «Антистрессорные препараты», о существующей классификации этих препаратов, о путях поиска ее новых представителей. Ибо мнение авторов монографии в этой области, как ведущих специалистов, являются для всей фармакологической общественности основополагающими. Научная школа «стресспротективной фармакологии профессора Людмилы Трофимовны Киричек» – это понимание и убеждение в том, что антистрессовые препараты действительно существуют. Пусть среди них нет, да и, наверное – не может быть исключительно специфических стресс-протекторов, но предупреждение и защита лекарственными препаратами стресс-обусловленных патологических состояний различных морфофункциональных систем организма, отдельных органов, тканей – это своеобразная алмазная грань фармакологического портрета целого ряда лекарственных средств различных фармакотерапевтических групп.

Безусловно, монография «Лекарственный антистресс в эксперименте (иммобилизация, травма, воспаление)», авторами которой являются профессор-фармаколог Л. Т. Киричек и ее ученики, что очень важно, практические врачи высшей категории А. В. Перепелица и кандидат медицинских наук Р. О. Кальчук, будет полезна всем тем, кто ищет и приветствует новое, создает, исследует и рационально использует в своей повседневной практике средства медикаментозной терапии.

Заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», доктор медицинских наук, профессор В. И. Мамчур

До ювілею професора кафедри фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, доктора медичних наук, лауреата Державної премії України в галузі науки і техніки Надії Олександрівни Горчакової

Альберт Ейнштейн (1879–1955) стверджував: «Проявляй прагнення не для того, щоб бути успішним, а для того щоб життя твоє знайшло сенс». Усе життя Н. О. Горчакової проходить під цим гаслом.

Надія Олександрівна Горчакова захопилась фармакологією з третього курсу навчання в Київському медичному інституті імені О. О. Богомольця. Вона стала членом наукового студентського гуртка на цій кафедрі, якою керував академік АМН, всесвітньо відомий вчений О. І. Черкес. Наукові студентські роботи Надії Олександрівни були присвячені стандартизації серцевих глікозидів на голубах та фармакології сумісного застосування їх з гангліоблокаторами. Під час навчання в аспірантурі Н. О. Горчакова була співавтором трьох друкованих робіт, виступала на українських конференціях, з'їздах фармакологів України та СРСР.

Після закінчення лікувального факультету з відзнакою вона була прийнята до аспірантури кафедри фармакології, де за два з половиною роки виконала кандидатську дисертацію на тему «Влияние сердечных гликозидов на фракционный состав и суммарное содержание белков миокарда», яку захистила в 1967 році. Науковими керівниками цієї роботи були академік О. І. Черкес та професор Н. М. Дмитрієва. Дослідниця встановила, що серцеві глікозиди за умов серцевої недостатності та гемічної гіпоксії відновлюють фракційний склад скоротливих білків міокарда, передусім актоміозину, що опосередковано свідчить про вплив серцевих глікозидів на скоротливі білки. Через кілька років це визначив грузинський учений Н. В. Карсанов. Окрім того, Н. О. Горчакова довела нормалізуючий ефект серцевих глікозидів у разі серцевої патології на вміст саркоплазматичних білків, рівень яких показує здатність глікозидів впливати на провідну систему міокарда. У подальших наукових роботах Надія Олександрівна підтвердила здатність глікозидів за серцевої недостатності та гемічної гіпоксії відновлювати вміст нуклеїнових кислот.

Після захисту дисертації працювала на кафедрі фармакології на посаді асистента, певний час виконувала обов'язки керівника наукового студентського гуртка, профорга, культорга кафедри. У зв'язку з тим, що кафедра фармакології входила до складу педіатричного факультету, Н. О. Горчакова була обрана головою профсоюзного бюро педіатричного факультету. На цій громадській посаді вона залишалася 10 років (1968–1978 рр.).

Докторську дисертацію «Фармакологічні аспекти комплексоутворення кардіотропних засобів з катіонами біометалів» Н. О. Горчакова захистила в 1986 році (визнано кращою дисертацією серед фармакологів). Ця робота присвячена фізико-хімічним механізмам реалізації кардіотропного ефекту серцевих глікозидів завдяки їхньому комплексоутворенню з катіонами кальцію, що сприяє конформації їхніх молекул, а також з катіонами магнію, а це забезпечує взаємодію з рецептором – калій-магнієвою АТФ-азою. У подальшому Н. О. Горчакова отримала комплексні сполуки з кальцієм і магнієм, похідні глутамінової та сукцинової кислот, тобто були закладені основи створення та впровадження синтетичних комплексних сполук з біометалами. Здійснено доклінічні та клінічні випробування комплексної сполуки глютамінової кислоти з катіонами кальцію, магнію та

калію з умовною назвою «Глутамакс». Визначені антигіпоксичні, кардіо- й органопротекторні властивості глутамаксу, що мало неабияке значення для кардіологічної, терапевтичної клініки, кардіохірургії, спортивної медицини та космічних досліджень. Були також проведені клінічні дослідження в кардіологічних клініках та інститутах фізкультури України, Російської Федерації. Препарат «Глутамакс» призначали космонавтам для забезпечення стабільності електролітного обміну в крові, м'язах і кістках.

Досліджуючи сполуки, похідні сукцинової кислоти, Н. О. Горчакова визначила найактивнішу з них – суфан. В експерименті сполука зарекомендувала себе як м'який кардіотонік та антиаритмічний засіб. У клініці була підтверджена наявність у суфану кардіотонічних властивостей і можливість його застосування за гострої та хронічної серцевої недостатності, зокрема, під час оперативних втручань. Дослідження фізико-хімічних властивостей серцевих глікозидів Надія Олександрівна продовжила в напрямі з'ясування ролі процесів комплексоутворення в організмі катіонів біометалів з глікозидами. Показано, що введення серцевих глікозидів зумовлює перерозподіл концентрації вільних і зв'язаних катіонів біометалів. Константи стійкості серцевих глікозидів з катіонами магнію та кальцію визначають більшу лабільність їхніх біокомплексів в організмі. Завдяки ЕПР дослідженням було показано можливість формування різних координаційних сполук глікозидів з біолігандами. Аналіз фазових станів біомембран саркоплазматичного ретикулуму серця кролів методом ЕПР зі застосуванням спінових міток підтвердив, що глікозиди суттєво зменшують час обертальної кореляції спінової мітки в біомембрані, змінюючи її мікров'язкість.

Цей факт, а також обчислені константи стійкості комплексів серцевих глікозидів з фосфатидилхоліном, свідчать про взаємодію кардіостероїдів з ліпідним компонентом біологічних мембран, що позначається на функціональних характеристиках останніх. Усе це дало змогу виділити комплекси глікозидів з біометалами як провідні чинники, що визначають їхню фармакодинаміку, а також прояснити трофічні ефекти кортикостероїдів за серцево-судинної недостатності гемодинамічного типу та гемічної гіпоксії. Тобто підтвердилася теорія академіка О. І. Черкеса щодо трофічної дії серцевих глікозидів. Подальші дослідження похідних сукцинової кислоти були пов'язані з визначенням кардіо- та органопротекторних властивостей похідного сукцинової кислоти – яктону.

Надією Олександрівною разом з професорами І. С. Чекманом та В. А. Тумановим проводилися наукові дослідження фармакодинаміки радіопротекторів, за що в 1986 році І. С. Чекман, В. А. Туманов, Н. О. Горчакова отримали Державну премію України в галузі науки і техніки за роботи з радіобіології. Наукова діяльність Н. О. Горчакової продовжувалася в галузі вивчення впливу метаболітних і метаболітотропних засобів різної будови (похідних глутамінової, бурштинової кислот, таурину та інших) на прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз та енергетичний обмін міокарда. Разом зі співробітниками Інституту геронтології НАМН України були вивчені фармакологічні ефекти водорості спіруліни, а надалі метаболітотропного препарату з ендотелійпротекторними властивостями «Кораргін». Певні експерименти стали фрагментами комплексних робіт співробітників кафедри, що стосуються фармакодинаміки похідного бурштинової кислоти – яктону, таурину – краталу, урацилу – карбіцилу. Разом з професором І. С. Чекманом та завідувачем кафедрою Запорізького медичного університету І. Ф. Бєленічевим Н. О. Горчакова брала участь у комплексному дослідженні фармакодинаміки інгібіторів АПФ, блокаторів рецепторів ангіотензину-II, бетаадреноблокаторів, антагоністів кальцію з метаболітними та метаболітотропними засобами синтетичного та рослинного походження з метою визначення їхньої кардіопротекторної та органопротекторної активності.

Серед друкованих робіт слід відмітити монографії «Магний в медицине» (1992 р.) з І. С. Чекманом та молдавським ученим С. Л. Ніколай, «Магнійвмісні препарати: фармакологічні властивості, застосування» (2007 р.) з І. С. Чекманом та співробітниками Запорізького державного медичного університету, «Очерки фармакологии средств метаболической терапии» (2001 р.) з І. С. Чекманом та професором Кубанської медичної академії П. О. Галенко-Ярошевським.

На кафедрі фармакології було досліджено квантово-фармакологічні й антитоксичні властивості нікотинаміду та встановлено, що цей метаболічний препарат значно зменшує токсичність антрациклінового антибіотика доксорубіцину. Результати досліджень висвітлено в монографії «Нікотинамід» (2008 р.), співавторами якої є професор І. С. Чекман, професор Н. О. Горчакова, доцент О. О. Нагорна, кандидат фармацевтичних наук Т. Ю. Небесна. Н. О. Горчакова є також співавтором монографій «Сердечные гликозиды» (1982 р.), «Індивідуальна чутливість організму до ліків» (1991 р.), «Фармакодинамика и пути поиска кардиотонических лекарственных средств» (1999 р.), «Кардиопротекторы» (2005 р.), «Метаболітотропні препарати» (2007 р.), «Метаболитные и метаболитотропные препараты в системе кардио- и органопротекции» (2009 р.). Дослідження в галузі нанотехнологій відображені в монографії «Нанонаука, нанобіологія, нанофармація» (2012 р.). Разом зі співробітниками Інституту геронтології НАМН України Надія Олександрівна є співавтором монографії «Спіруліна та здоров'я» (2000 р.), зі співробітниками Державного експертного центру – співавтором монографії «Нестероїдні протизапальні препарати: ефективність, доступність, прийнятність для пацієнта» (2011 р.), а зі співробітниками Запорізького державного медичного університету – «Нейропротекция и нейропластичность» (2015 р.). Певний цикл досліджень був виконаний Н. О. Горчаковою спільно з колегами Національного університету фізичного виховання та спорту України, внаслідок чого були видані такі книги за її участю: «Допинг и эргогенные средства в спорте» (2003 р.), «Спортивная фармакология и диетология» (2008 р.), «Фармакология спорта» (2010 р.), «Медико-биологическое обеспечение подготовки хоккеистов» (2013 р.).

Н. О. Горчакова брала активну участь у підготовці всіх підручників з фармакології, у тому числі в виданні попередніх 5 підручників російською мовою.

Необхідність викладання фармакології англомовним студентам спонукала до підготовки колективом кафедри відповідного підручника англійською мовою. До співпраці були запрошені доктор філологічних наук, професор кафедри англійської мови Черкаського державного університету імені Богдана Хмельницького Н. І. Панасенко та завідувач кафедри методики навчання іноземних мов і прикладної лінгвістики, доктор філологічних наук, професор П. О. Бех, професор Н. О. Горчакова й професор І. С. Чекман. Підручник «Pharmacology» побачив світ у 2006 році у видавництві «Нова книга».

Викладання фармакології студентам стоматологічного факультету має свої особливості. Специфіка практичної діяльності лікарів-стоматологів, домінуюче використання ними препаратів певних фармакологічних груп, шляхи їхнього введення в особливих лікарських формах зумовили видання підручника з фармакології для студентів стоматологічних факультетів. У 2011 році викладачі Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, Одеського національного медичного університету та Вищого державного навчального закладу «Українська медична стоматологічна академія» підготували та видали підручник «Фармакологія» для студентів стоматологічних факультетів вищих навчальних закладів IV рівня акредитації, який затверджено Міністерством освіти і науки України. У підручнику викладено сучасні аспекти фармакології з основами фармакотерапії, що необхідно майбутнім стоматологам для ефективної та безпечної фармакотерапії різних захворювань.

Працюючи на кафедрі фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, Н. О. Горчакова плідно співпрацює з кафедрою фармакології та клінічної фармації Державного університету медицини та фармації імені Ніколая Тестеміцану Міністерства охорони здоров'я Республіки Молдова. Така співпраця є результативною: у 2008 році з'явився підручник «Общая рецептура» російською, а в 2013 – «Farmacologie» румунською мовою.

Професор Н. О. Горчакова є співавтором «Справочника по клинической фармакологии и фармакотерапии» (1986 р.), видання «Термины в фармакологии и фармации» (1989 р.). Опануванню фармакології допомагають посібники, у написанні яких Н. О. Горчакова брала активну участь. Це «Фармакология» (1993 р.), «Экспериментальная и клиническая

фармакология» (1995 р.), «Фармакологія і клінічна фармакологія» (2007 р.), «Побічні реакції серцево-судинної системи» (2010 р.), «Фармакологія, посібник для самостійної роботи студентів фармацевтичного факультету» (2010 р.), «Pharmacology» (2008 р.), «Общая рецептура» (Кишинев, 2008 р.), «Острые отравления лекарственными препаратами: диагностика, меры неотложной помощи» (2013 р.), «Практикум по фармакологии для студентов медицинского факультета» (2014 р.). Крім того, Надія Олександрівна є співавтором книги «Лекции по фармакологии» (1996 р., 1998 р.), підручника «Экологическая фармакология» (1998 р.).

Талант дослідника яскраво проявився в Надії Олександрівни, коли вона спільно з професором В. І. Мілько виконувала спеціальну тему. Завдяки цим науковцям ми змогли отримати світового рівня наукові факти.

Вона також є співавтором методичних рекомендацій Державного експертного центру МОЗ України, зокрема, 4 методичних рекомендацій з доклінічного вивчення кардіотоніків, антиангінальних, антигіпертензивних, гіполіпідемічних препаратів у збірнику «Доклинические исследования лекарственных средств, методические рекомендации» (2002 р.). Крім того, Н. О. Горчакова є членом Державного експертного центру МОЗ України та співавтором методичних рекомендацій з доклінічного дослідження лікарських засобів в окремих виданнях: «Методи вивчення кардіопротекторної дії лікарських засобів у фармакологічному експерименті» (2005 р.), «Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов» (2010 р.), «Доклиническое изучение специфической активности эндотелиопротекторных препаратов» (2014 р.), «Доклінічне вивчення специфічної активності потенційних лікарських засобів первинної та вторинної нейропротекції» (2016 р.). Н. О. Горчакова є співавтором понад 60 патентів та 1000 друкованих наукових праць.

Викладач, лектор, наставник студентів, за свою тривалу та плідну педагогічну діяльність Н. О. Горчакова підготувала багато поколінь лікарів, які після закінчення університету часто приходять до свого вчителя за фаховою порадою і щоразу дякують за науку. Нині Надія Олександрівна викладає фармакологію українською, російською та англійською мовами. За творчу та викладацьку діяльність у 2006 році Н. О. Горчакова була нагороджена орденом «За заслуги III ступеня».

Надія Олександрівна має ще один хист – поетичний. Її вірші друкувалися в багатьох виданнях. Але нас, її колег, завжди приємно дивувало вміння експромтом написати кілька поетичних рядків прямо за святковим столом.

Товариськість, колективізм – риси притаманні Надії Олександрівні, як і вміння організувати, наснажити людей на виконання певного завдання і самій докласти максимум зусиль до праці в колективі.

Н. О. Горчакова повна сил та енергії, є цілісною особистістю, освіченою та ерудованою. У пам'яті її серця навічно залишаються члени родини, вчителі, друзі, колеги, ті, що були поруч з нею в дні пошуків, радості, скорботи. Вона з задоволенням згадує минуле, але дуже прагне зробити для кафедри, університету, країни ще багато корисного.

Колеги, студенти, лікарі кажуть доктору медичних наук, професору, лауреату Державної премії України в галузі науки і техніки, орденоносцю Н. О. Горчаковій словами видатного українського історика, педагога, фольклориста М. І. Драгоманова (1841–1895): «Той, хто виховує, сам має володіти світлим розумом, великим самовладанням, добротою, високими моральними переконаннями». Ці якості притаманні Вам, Надіє Олександрівно, людині, яка щедро ділиться з нами своїми знаннями та багаторічним досвідом. Приміть наше щире вітання з ювілеєм! Ми шануємо Вас як талановитого вченого та педагога, доброзичливу, неймовірно енергійну та працелюбну людину, віддану науці – фармакології.

Бажаємо Вам, вельмишановна Надіє Олександрівно, міцного здоров'я, багатьох років яскравого творчого життя!

Кафедра фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця,
ВГО «Асоціація фармакологів України»,
ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»

СОДЕРЖАНИЕ

ОБЗОРЫ

Лабенская И. Б. Янтарная кислота – потенциальный фармакофор при моделировании новых биорегуляторов на основе азотсодержащих гетероциклов.....3

Хромов А. С. Липосомальные препараты – реализация нанотехнологий в медицине ...14

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ НЕЙРОФАРМАКОЛОГИИ

Беленичев И. Ф., Кучер Т. В. Влияние тиольных антиоксидантов на состояние нитрозирующего стресса в головном мозге крыс, подверженных хронической алкогольной интоксикации 24

Беленичев И. Ф., Литвиненко Е. С., Субачева Т. И. Маркеры окислительной модификации белка и нитрозирующего стресса при экспериментальном ишемическом инсульте и фармакологической модуляции системы глутатиона 30

В НАУЧНЫХ ЛАБОРАТОРИЯХ

Боброва Н. А., Важничая Е. М. Антимикробные свойства метилэтилпиридинола 37

Калениченко А. С., Малоштан Л. Н. Скрининговое исследование антикоагулянтной, мембраностабилизирующей и противовоспалительной активности густого экстракта из листьев лещины обыкновенной 43

Калько Е. А., Дроговоз С. М., Пазюк Д-М. В. Циркадианная зависимость влияния карсила на активность маркеров цитолиза и содержание восстановленого глутатиона в условиях хронодетерминированного парацетамолового гепатита 49

Лукьянчук В. Д., Кравец Д. С., Сейфуллина И. И., Мищенко Е. М., Марцинко Е. Э. Сравнительная характеристика перехода потенциального церебропротектора из центральной камеры кинетической модели распределения в периферические в норме и на модели закрытой черепно-мозговой травмы 54

Мархонь Н. А., Жилюк В. И., Мамчур В. И., Левых А. Э. Состояние процессов свободнорадикального окисления в неокортексе крыс с метаболическим синдромом в условиях применения ресвератрола, пропиленгликолевых экстрактов рябины и маточного молочка.....60

Нефедов А. А., Мамчур В. И., Ларионов В. Б., Смандич В. С. Прогнозирование в экспериментах *in silico* взаимодействия габапентина с метилпреднизолоном как средств комбинированной терапии демиелинизирующих заболеваний.....67

Ниженковская И. В., Сейфуллина И. И., Нароха В. П., Марцинко Е. Э., Чебаненко Е. А. Изучение антиоксидантных свойств комплекса германия с никотиновой кислотой (МИГУ-1) в условиях экспериментальной хронической сердечной недостаточности.....74

Сытник И. Н., Хайтович Н. В., Черновол П. А. Антиоксидантная активность ингибиторов ангиотензина II и метаболитотропных кардиопротекторов в условиях *in vitro* и *in silico* 80

Симонова И. В., Лукьянчук В. Д., Кравец Д. С., Волуй А. В. Экспериментально-математическое обоснование эффективности оптимальных комбинаций фитопрепаратов, предназначенных для коррекции когнитивно-мнестических процессов 86

Фесюнова Г. С., Вит В. В., Молчанюк Н. И., Сотникова Е. П., Григорьева А. С. Экспериментальная верификация безопасности периокулярных способов применения липосомальной формы кверцетина в офтальмологии 94

РЕЦЕНЗИИ

Мамчур В. И. Рецензия на монографию Л. Т. Киричек, А. В. Перепелица, Р. О. Кальчук «Лекарственный антистресс в эксперименте (иммобилизация, травма, воспаление)».....102

ЛИЧНОСТИ

К юбилею профессора кафедры фармакологии Национального медицинского университета имени А. А. Богомольца, доктора медицинских наук, лауреата Государственной премии Украины в области науки и техники Надежды Александровны Горчаковой 103

CONTENT

REVIEWS

Labenska I. B. Succinic acid as a potential pharmacophore for modeling of new bioregulators based on nitrogen containing heterocycles 3

Khromov A. S. Liposomal drugs – implementation of nanotechnology in medicine 14

CONTEMPORARY ASPECTS OF NEUROPHARMACOLOGY

Belenichev I. F., Kucher T. V. The influence of thiol antioxidants on the state of nitrosating stress in brain of rats with chronic ethanol intoxication 24

Belenichev I. F., Lytvynenko E. S., Subachova T. I. Markers of oxidative modification of proteins and nitrosating stress in the experimental ischemic stroke and pharmacological modulation of glutathione system 30

WORKING OUT OF THE NEW METHODICAL WAYS

Bobrova N. A., Vazhnichaya E. M. Antimicrobial properties of methylethylpiridinol 37

Kalenichenko A. S., Maloshtan L. N. Screening study of anticoagulant, membrane stabilizing and anti-inflammatory activity of the thick extract from the leaves of corylus avellana 43

Kalko K. O., Drogovoz S. M., Paziuk D-M. V. Circadian dependence of karsil effect on the cytolysis markers activity and reduced glutathione content under time-determined paracetamol hepatitis 49

Lukyanchuk V. D., Kravets D. S., Seifullina I. I., Mishchenko K. M., Martsinko O. E. Comparative characteristics of the potential cerebroprotector transition from the central chamber of kinetic distribution model to peripheral ones in norm and in traumatic intracranial injury model 54

Markhon N. O., Zhylyuk V. I., Mamchur V. I., Lievykh A. E. State of free radical oxidation in neocortex of rats with metabolic syndrome under administration of resveratrol, propylene glycol extracts of ashberry and royal jelly 60

Nefyodov A. A., Mamchur V. I., Larionov V. B., Smandych V. S. In silico prediction of gabapentin and methylprednisolone interactions as components of combined therapy under demyelinization pathology 67

Nizhenkovskaya I. V., Seifullina I. I., Narokha V. P., Martsinko O. E., Chebanenko E. A. Study of antioxidant properties of the complex of germanium with nicotinic acid (MIGU-1) in experimental chronic heart failure 74

Sytnik I. M., Khaitovych M. V., Chernovol P. A. Antioxidant activity of angiotensin II inhibitors and metabotropic cardioprotectors under conditions *in vitro* and *in silico* 80

Simonova I. V., Lukyanchuk V. D., Kravets D. S., Volui A. V. Experimental-mathematical justification effectiveness of optimal combination of herbal medication that intended for correction of cognitive-mnestic processes 86

Fesiunova G. S., Vit V. V., Molchaniuk N. I., Sotnikova O. P., Grigoryeva G. S. Experimental verification of the safety of periocular application of quercetin liposomal form in ophthalmology 94