

---

---

## 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

№ 3(54)/2017

---

## ЗМІСТ

---

### ОГЛЯДИ

- Вринчану Н. О.* Роль ефлюкських систем у резистентності мікроорганізмів до антибіотиків ..... 3
- Добреля Н. В., Гула Н. С., Богатирьова О. В., Хромов О. С.* Ліпосоми: не тільки «ліпо-» ..... 16

### У НАУКОВИХ ЛАБОРАТОРІЯХ

- Дудікова Д. М., Войчук С. І., Вринчану Н. О.* Особливості ультраструктури *Staphylococcus aureus* за дії 4-(1-адамантил)фенокси-3-(N-бензил, N-метил, N-циклогексил)-2-пропанол хлориду ..... 32
- Зайченко Г. В., Стахорська М. О., Файзуллін О. В.* Лейкоцитарна реакція в білих щурів за умов моделювання хронічної анальної тріщини та лікування ректальним кремом комбінованого складу ..... 37
- Залыгина Е. В., Подплетняя Е. А.* Исследование противоязвенной активности густого экстракта из незрелых плодов ореха грецкого на модели индометацин-индуцированной язвы желудка у крыс ..... 42
- Ісаєнко О. Ю., Книш О. В., Бабич Є. М., Зачепило С. В., Савінова О. М., Набойченко О. А.* Протимікробна активність продуктів метаболізму *Saccharomyces boulardii* відносно тест-культур стафілококів і коринібактерій ..... 50
- Калапко О. М., Штриголь С. Ю., Мерзлікін С. І.* Порівняльне дослідження ефективності N,N'-(етан-1,2-дііл)біс(хінолін-2-карбоксаміду), діакамфу гідрохлориду та метформіну на моделі інсулінорезистентності ..... 56
- Кошова О. Ю., Гращенкова С. А., Штриголь С. Ю., Щербініна В. С., Трутаєв І. В., Юдкевич Т. К., Єрьомін О. П.* Дослідження впливу капсул «Равісол®» на розвиток гіперліпідемії в щурів, викликаній Твіном-80 ..... 64
- Маркина А. Ю., Мищенко О. Я.* Скрининговые исследования новых производных 2-оксоиндолина ..... 69
-

---

---

<i>Трутаєв С. І., Штриголь С. Ю., Гращенко С. А., Лебединець І. О.</i> Анагетична дія субстанції зирилону на моделі болю з переважно центральним механізмом ноцицепції та її модуляція адренотропними препаратами.....	74
<i>Хміль Д. А., Костенко В. А.</i> Ефективність сочетанного применения L-аргинина и ингибитора ядерного фактора κВ для коррекции последствий окислительно-нитрозирующего стресса в коже крыс при избыточном поступлении в организм нитрата натрия.....	80
<b>Правила для авторів</b> .....	89
<b>To Authors</b> .....	92
<b>СОДЕРЖАНИЕ</b> .....	95
<b>CONTENT</b> .....	96

Н. О. Вринчану

## Роль ефлюксних систем у резистентності мікроорганізмів до антибіотиків

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

*Ключові слова: мікроорганізми, антимікробні засоби, резистентність, ефлюксні помпи*

Одним з головних досягнень медицини минулого століття є відкриття антибіотиків. Упровадження антимікробних препаратів у клінічну практику значно зменшило кількість інфекційних захворювань, дало надію на повний контроль людини над вірусними, бактеріальними інфекціями та мікозами. Але, не дивлячись на наявність у клінічній практиці достатньої кількості антимікробних препаратів, проблема профілактики та лікування захворювань, зумовлених мікроорганізмами, залишається актуальною. Практично одночасно з впровадженням антибіотиків у медичну практику були виявлені резистентні до їхньої дії штами збудників.

Поява антибіотикостійких штамів бактерій знижує терапевтичну ефективність антимікробних засобів, потребує додаткових матеріальних затрат (близько 1,5 млрд євро на один рік) та сприяє збільшенню кількості летальних випадків. Смертність від хвороб, зумовлених резистентними штамми мікроорганізмів, складає у країнах Євросоюзу, Норвегії та Ісландії близько 25 тис. осіб щорічно, у США – близько 23 тис. [1–3].

Однією з основних причин недостатньої ефективності антимікробної терапії є наявність у мікроорганізмів механізмів протидії як природних, так і набутих [4]. Природна резистентність реалізується різноманітними шляхами, зокрема, відсутністю мішені дії, ферментативною інактивацією препарату та недостатньою проникністю клітинної стінки, що сприяє зменшенню внутрішньоклітинної концентрації антимікробного препарату. Останній з наведе-

них механізмів резистентності є суттєвою перепоною для дії антибіотиків відносно грамнегативних бактерій, що зумовлено наявністю зовнішньої мембрани. Зменшення вмісту антибіотиків у клітинах бактерій досягається також завдяки гіперактивації або гіперпродукції ефлюксних помп.

Ефлюксні помпи є транспортерами білкової природи, локалізованими в цитоплазматичній мембрані всіх клітин як прокариот, так і еукариот, і відіграють важливу роль у їхній життєдіяльності, зокрема, забезпечують мікроорганізмам стійкість до дії ксенобіотиків [5–7]. Генетичні детермінанти транспортерів можуть міститись на хромосомах та плазмідах або транспозонах, що зумовлює легкість передачі цих генів. Антимікробні препарати є індукторами або регуляторами експресії генів ефлюксних систем і здатні сприяти селекційному відбору стійких штамів.

Мікроорганізми різних видів мають помпи, які можуть відрізнятися за структурою та належати до різних родин ефлюксних помп. Бактеріальні ефлюксні помпи поділяються на 2 типи: первинні транспортери (АТФ-залежні) та вторинні, які використовують енергію трансмембранного потенціалу й включають 5 родин (надродин) ефлюксних транспортерів – АВС-надродину (ATP binding cassette); MFS-надродину (major facilitator superfamily); MATE-родину (multidrug and toxic compound extrusion); SMR-родину (small multidrug resistance) та RND-надродину (resistance nodulation division) [7].

Схематичне зображення будови основних родин ефлюксних транспортерів наведено на рисунку 1, їхня структура та топологія – на рисунку 2.

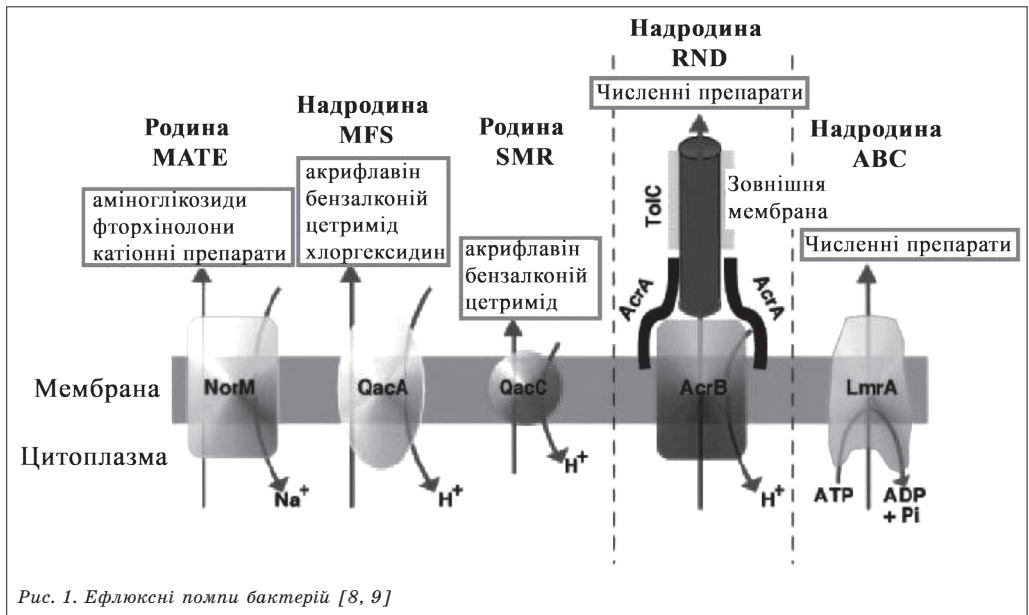


Рис. 1. Ефлюксні помпи бактерій [8, 9]

Надродина ABC відноситься до первинних транспортерів та є найпоширенішою в еукаріотів і прокаріотів. Загальною характеристикою всіх цих систем є те, що вони є консервативними АТФ-азами, використовують енергію гідролізу АТФ для екструзії цитотоксичних сполук. ABC-транспортери включають 4 домени: 2 гідрофобні, які складаються з шести трансмембранних  $\alpha$ -спіралей, та 2

гідрофільні нуклеотид-зв'язуючі домени [11–13]. ABC-транспортери виявлені в *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Helicobacter pylori*, *Mycoplasma genitalium*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* та інших бактерій [13, 14]. У кишкової палички описано 7 транспортерів цієї надродини.

Серед ABC-транспортерів є білки, що транспортують сполуки певних класів

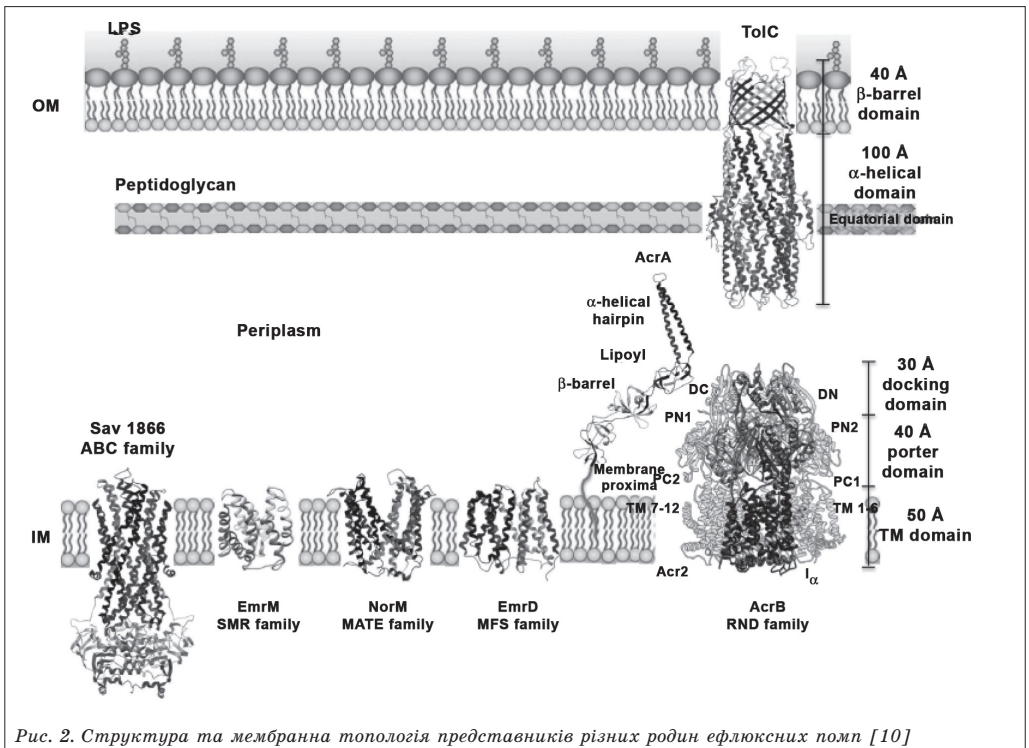


Рис. 2. Структура та мембранна топологія представників різних родин ефлюксних помп [10]

(MsrA транспортує лише макроліди в стафілококів чи стрептококів), та мультиекспортери, що забезпечують викид структурно подібних антибактеріальних сполук, флуоресцентних барвників тощо. Більшість відомих сьогодні АТФ-залежних переносників є специфічними відносно субстратів.

ABC-транспортери поділяються за функцією на 3 основні групи:

I група – забезпечує транспорт у клітину іонів, амінокислот, пептидів, цукрів й інших речовин, в основному гідрофільних. У клітинах еукаріотів така група транспортерів відсутня;

II група – видаляє з клітини токсичні речовини та лікарські препарати (присутні в клітинах прокаріотів та еукаріотів), у тому числі полісахариди, ліпополісахариди, тейхоеві кислоти, білки (гемолізину, гем-зв'язуючий білок, лужну протеазу), бактеріоцини, антибіотики, сідерофори. Крім того, вони відіграють важливу роль у біосинтезі полісахаридів [15] та цитохромів [16, 17];

III група – бере участь у процесах репарації ДНК та трансляції. Функція переносників у них відсутня [4, 18–21].

*Надродина MFS* – найчисельніша група вторинних транспортерів, включає 74 родини [8], сьогодні секвеновано понад 1000 індивідуальних представників. MFS-білки, виявлені в грамнегативних і грампозитивних бактерій та еукаріот, транспортують цукри, метаболіти, амінокислоти, пептиди, аніони тощо. До цієї групи входять помпи Bcr, EmrB і EmrD у *E. coli*; PmrA – у *Streptococcus pneumoniae*; QacA та NorA – у *S. aureus* [13, 22–24].

Транспортери цієї надродини зазвичай функціонують як однокомпонентні системи, однак у грамнегативних бактерій вони можуть функціонувати також у складі потрійного транспортного комплексу, сумісно з MFP (membrane fusion protein) та білком зовнішньої мембрани, утворюючи MDR (multi drug resistant)-системи. Трикомпонентна система складається з транспортера, локалізованого на зовнішній мембрані, білка-порина, який утворює канал у зовнішній мембрані, та допоміжного периплазматичного білка

MFP, який зв'язує зовнішню- та внутрішньомембранну частину комплексу. Цей комплекс каталізує перенос речовин через обидві мембрани грамнегативних бактерій. Зазвичай для кожного MDR транспортера існує свій MFP, а гени, які кодують ці білки, організовані в один оперон.

MDR-транспортери мають 12 або 14 трансмембранних сегментів та належать до декількох родин у складі MFS. До 12-членних MFS-транспортерів входять близько 400 амінокислот, які й формують 12 трансмембранних спіралей з великою цитоплазматичною петлею між шостою та сьомою спіралями. 12-членні транспортери виявлені в різних видів мікроорганізмів. Так, у *B. subtilis* присутні Bmr, Blt білки (гомологічні NorA), у *Lactococcus lactis* ефлюкс забезпечує lmrP транспортер, у *S. pneumoniae* – PmrA [25]. Як і помпи NorA, Bmr та LmrP, помпа PmrA пригнічується алкалоїдом резерпіном. Підвищена експресія гена, що кодує PmrA помпу, призводить до зниження чутливості бактерій до дії антимікробних засобів, у тому числі до фторхінолонів ципрофлоксацину та норфлоксацину [26]. 14-членний транспортер виявлений у різних видів бактерій, зокрема в *Vibrio cholerae*. У цього мікроорганізму присутня помпа VseAB, яка забезпечує полірезистентність до хлорамфеніколу та налідиксової кислоти [13].

Представники надродини MFS можуть бути як субстраг-специфічними, так і мультитранспортерами, що свідчить про відсутність фундаментальних відмінностей поміж помпами цих двох типів. MFS-транспортери відіграють головну роль при певних захворюваннях, зокрема, при вірусних інфекціях, оскільки ці білки здатні переносити через мембрану аналоги нуклеозидів. Мутації генів, які кодують транспортери MFS, забезпечують стійкість до противірусної терапії [27].

Транспортери *родини MATE* уперше виявлені в 1998 році в *Vibrio parahaemolyticus* (NorM), потім у *E. coli* (YdhE) [28, 29]. У 2005 році NorM виявлено в людини та мишей. Білки MATE-родини мають мембранну топологію, подібну до топології MFS-транспортерів,

однак, аналіз амінокислотних послідовностей не виявив гомології між членами родин MATE та MFS. Бактеріальні транспортери MATE-родини складаються з 450 амінокислотних залишків і мають 12 трансмембранних сегментів. Члени цієї родини використовують як рушійну силу транспортно-процесу електрохімічний градієнт, організований за механізмом субстрат: Na<sup>+</sup> антипорт.

Натепер транспортери MATE виявлені в *Bacteroides thetaiotaomicron* (MexA), *H. influenzae* (HmrM), *P. aeruginosa* (PmpM), *Clostridium difficile* (CdeA). Не дивлячись на те, що MATE-транспортери є характерними для грамнегативних мікроорганізмів, вони виявлені й у грампозитивних, зокрема в *S. aureus* (MerA). MATE є найменш вивченою серед усіх 5 родин. Сьогодні детально охарактеризовано помпу NorM, яка відповідає за формування резистентності до катіонних сполук, барвників, фторхінолонів та аміноглікозидів і присутня в *V. parahaemolyticus*, *Neisseria gonorrhoeae* та *Neisseria meningitidis*. У *E. coli* описана YdhE помпа, що забезпечує кишковій паличці стійкість до катіонних антимікробних засобів.

**Родина SMR.** SMR-транспортери складаються з 100–120 амінокислотних залишків (~ 12 kDa) і містять 4 трансмембранних сегменти. SMR-транспортери є протон-залежними ефлюксними системами [30] та належать до MDR-помп, їхня субстратна специфічність обмежена ліпофільними катіонами, у тому числі антисептиками та дезінфектантами. Транспортери цієї родини виявлені в грамнегативних та грампозитивних мікроорганізмів, у тому числі в збудника туберкульозу – *Mycobacterium tuberculosis* [31].

Найдетальніше вивчені транспортери цієї родини в кишковій паличці. У *E. coli* описано 3 транспортери, найдослідженіша EmrE-помпа – мультисубстратний транспортер, зданий виводити з клітини бромистий етидій. У *M. tuberculosis* виявлений MmrG-транспортер, який забезпечує бактеріям резистентність до бромистого етидію, еритроміцину, сахарину O, піроніну Y, ізоніазиду та інших

речовин. Встановлено, що стійкість до ізоніазиду у штамів *M. tuberculosis*, яка сформувалась під впливом антибіотика, зумовлена саме гіперекспресією *mmr*-генів [32]. Гени *mmr* виявлені в інших мікобактерій, зокрема в *Mycobacterium simiae*, *Mycobacterium gordonae*, *Mycobacterium marinum* та *Mycobacterium bovis*.

Практично ідентичною до EmrE-помпи *E. coli* є мультисубстратна SMR-помпа *P. aeruginosa*, яка забезпечує природну резистентність до бромистого етидію, акрифлавіну та аміноглікозидних антибіотиків.

До надродини RND входять вторинні транспортери, які взаємодіють з мембраноз'язуючим білком та білком зовнішньої мембрани й представлені 12 трансмембранними сегментами з двома великими петлями між 1 і 2 та 7 і 8 сегментами [13, 31, 33]. Представниками RND-надродини є AcrB-помпа в *E. coli*, *Salmonella spp.* і *Enterobacter aerogenes*; MexB, MexD, MexF і MexY – у *P. aeruginosa*; AmrB – у *Burkholderia pseudomallei*; MtrD – у *N. gonorrhoeae*.

Найдетальніше структура цієї помпи та функціонування досліджені в *E. coli*, така сама модель RND-помпи підтверджена структурою MexB-білка надродини RND у *P. aeruginosa* [13, 34–36].

Однією з транспортних систем, що каталізує активний ефлюкс широкого спектра антибактеріальних засобів у *E. coli* та інших представників родини *Enterobacteriaceae*, є AcrAB-TolC. Ефлюксна помпа AcrAB-TolC має складну структуру, що складається з трьох частин, представлених цитоплазматичним компонентом «насоса» AcrB, мембранним білком злиття AcrA і каналом зовнішньої мембрани – TolC.

Цей комплекс може одночасно транспортувати антибіотики як через цитоплазматичну, так і через зовнішню мембрану, що забезпечує високоефективний механізм стійкості [13, 15, 37]. Ефлюксна помпа AcrAB-TolC виявлена в різних грамнегативних бактерій. Встановлено, що субстратами цієї системи в *E. coli* є хлорамфенікол, фторхінолони, тетрациклін, рифампіцин, новобіоцин, фузидієва кислота, налідиксова кислота та β-лактамі антибіо-



тики, у *S. typhimurium* – хінолони, хлорамфенікол, тетрациклін та налідиксова кислота. У *P. aeruginosa* виявлена помпа MexAB-OprM, яка є гомологом AcrAB-TolC і здатна активно видаляти з мікробної клітини фторхінолони, тетрацикліни та хлорамфенікол.

Ефлюксні помпи надродини RND виявляють низьку субстратну специфічність і здатні здійснювати транспорт великої кількості сполук, призводячи до появи мультирезистентних штамів [38].

Таким чином, у мікроорганізмів виявлені складні транспортні системи білкової природи, функція яких – виведення з внутрішнього середовища мікробної клітини різних класів хімічних речовин, первинна функція цих транспортних систем, як і їхня специфічність у повній мірі ще не з'ясована.

У мікроорганізмів існує 2 типи адаптивних механізмів резистентності, пов'язаних з ефлюксними процесами, які реалізуються за рахунок SDR-систем (specific drug resistance transporters), що забезпечують стійкість до окремого препарату, та MDR-систем, необхідних для розвитку полірезистентності збудників (табл. 1).

Встановлено деякі особливості ефлюксу в грампозитивних та грамнегативних бактерій. Так, у клінічних штамів грамнегативних бактерій ефлюкс більшою мірою пов'язаний з

RND-надродиною, у грампозитивних – з MFS-надродиною.

Встановлено, що ефлюкс тетрациклінів забезпечують MFS-помпи. У грамнегативних мікроорганізмів ефлюкс здійснюється за допомогою транспортерів Tet(A), Tet(B), Tet(C), Tet(D), Tet(E), Tet(G), Tet(H), Tet(J), Tet(Y), Tet(Z), Tet(30), Tet(39), у грампозитивних – за участю Tet(K), Tet(L). У *S. aureus*, *M. tuberculosis*, *Mycobacterium fortuitum*, *M. bovis* присутні й транспортери Tet38, Tet(V), Rv1258/Tap, P55/Rv1410, MdfA, а в *E. coli* – MexAB-OprM [39]. Детермінанти резистентності зазвичай локалізовані на плазмідах, що забезпечує їхнє швидке розповсюдження як серед бактерій одного виду, так і серед мікроорганізмів різних видів.

**Ефлюкс макролідів.** У видаленні препаратів цієї групи беруть участь помпи, що відносяться до MFS, ABC та RND-надродин. У представників родів *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Enterococcus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Acinetobacter*, *Bacteroides* та *Neisseria* викид макролідів забезпечують Mef(A)-транспортери MFS-надродини. З'ясовано, що окрім Mef(A)-транспортера, у видаленні антибіотиків цієї групи з клітин *S. aureus* бере участь і MdeA. Останній видаляє макроліди також з клітин *Streptococcus haemolyticus*, *Bacillus cereus* та *B. subtilis*. Видалення макролідів з клітин *E. coli* забезпечують MacAB-TolC-білки, з *S. aureus* – Msr(A),

Таблиця 1

Субстрати ефлюксних систем бактерій [22]

Родина	Помпа	Мікроорганізми	Субстрат помпи
SMR	Smr/QacC	<i>S. aureus</i>	QA
SMR	EmrE	<i>E. coli</i>	AC
MFS	TetA	<i>E. coli</i>	TC
MFS	NorA	<i>S. aureus</i>	AC, CA, FQ, PM, QA
MATE	YdhE	<i>E. coli</i>	CF, KM, NF, SM
ABC	MacB	<i>E. coli</i>	AZ, CL, EM, OL
RND	AcrB/AcrA/TolC	<i>E. coli</i>	AC, BL, CA, EM, FA, FQ, MC, NA, NV, TC
RND	MexB/MexA/OprM	<i>P. aeruginosa</i>	AZ, CF, RP

Примітка. AC – акрифлавін, AZ – азитроміцин, BL – β-лактами, CA – хлорамфенікол, CF – ципрофлоксацин, CL – кларитроміцин, EM – еритроміцин, FQ – фторхінолони, FA – фузидієва кислота, KM – канаміцин, MC – мітоміцин, NA – налідиксова кислота, NF – норфлоксацин, NV – новобіоцин, OL – олеандоміцин, PM – пуроміцин, QA – сполуки четвертинного амонію (у тому числі бензалконію хлорид).

з *S. pneumonia* – Msr(D) білок, представники надродини ABC [6, 9, 14].

**Ефлюкс хінолонів/фторхінолонів.** При аналізі чутливості патогенів до хінолонів/фторхінолонів встановлено, що цей механізм резистентності виявляється як у грампозитивних, так і в грамнегативних бактерій. У грампозитивних мікроорганізмів ефлюкс забезпечується мембранозв'язаним білком NorA [1]. Дослідження показали, що гіперекспресію різних генів, які кодують білки помп, здатні зумовити як різні субстрати, так і один у різних концентраціях [40].

Фторхінолони (норфлораксацин, ципрофлораксацин) з клітин *S. aureus* видаляють NorA-, NorB-транспортери, *S. pneumonia* – PmrA, *E. faecalis* – EmeA, *Listeria monocytogenes* – Lde-білки, *B. subtilis* – Bmr, Blt, Bmr3, *M. tuberculosis* – Rv1634, MdfA, які є представниками MFS-надродини. Окрім MFS-помп, у видаленні макролідів з клітин *M. tuberculosis* беруть участь і ABC-помпи, а саме Rv2686c-Rv2687c-Rv2688c-білки. Транспортери ABC-надродини видаляють норфлораксацин та ципрофлораксацин з клітин *E. faecalis* (EfrAB), *Pseudomonas spp.* (Orf12-Orf11-Orf10) та *L. lactis* (LmrA). В ефлюксі норфлораксацину та ципрофлораксацину задіяні також SMR- та RND-помпи. Так, представник SMR-родини, транспортер Mmr, видаляє фторхінолони з *Mycobacterium smegmatis*, а представники RND-надродини SmeABC, SmeDEF та MexEF-OprNc – з *Stenotrophomonas maltophilia* та *P. aeruginosa* відповідно. З гіперактивністю RND-помп (AcrAB-TolC, MexXY-OprM, MexAB-OprM, MexCD-OprJ) пов'язане зниження вмісту фторхінолонів у *Proteus mirabilis*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii* та *P. aeruginosa*. Ці помпи також відповідають за резистентність зазначених мікроорганізмів до гліцилциклінів. В ефлюксі фторхінолонів беруть участь і MATE-помпи. Так, транспортер цієї родини видаляє фторхінолони з клітин золотистого стафілокока [9, 13, 22].

Доведено, що гіперактивність ефлюксних помп MFS- та RND-надродин призводить до зниження концентрації лінкозамідів у *B. subtilis*, *Corynebacterium glutamicum*, що забезпечується LmrB-

транспортером (MFS-надродина); у *E. coli*, *E. aerogenes*, *P. aeruginosa* та інших грамнегативних бактерій ефлюкс антибіотиків цього класу здійснюють AcrAB-TolC, Mex-транспортери (RND-надродина) [9, 13, 27].

Встановлено, що ефлюксні помпи видаляють з клітин мікроорганізмів і антибіотики інших груп, зокрема бета-лактами; транспортні білки AcrAB-TolC (*H. influenza*) і MexAB-OprM (*P. aeruginosa*) є представниками RND-надродини, LmrA (*P. aeruginosa*) – ABC-надродини [6, 9].

Резистентність бактерій до антимікробних препаратів, що пов'язана з ефлюксом, наведено в таблиці 2.

Активне виведення антибактеріального препарату з мікробної клітини є розповсюдженим механізмом стійкості мікроорганізмів до антибіотиків різних груп і є серйозною проблемою, оскільки сприяє зниженню клінічної ефективності протимікробних препаратів (табл. 3).

Дані, що наведено в таблиці 3, свідчать про зниження антибіотикочутливості мікроорганізмів у 2–32 разів за умови активації ефлюксних процесів, що в свою чергу може призводити до суттєвої втрати ефективності антимікробної хіміотерапії.

Дослідженнями останніх років встановлено основні типи ефлюксних систем, які забезпечують стійкість клінічно значущих патогенів до антибактеріальних засобів. Зокрема, резистентність *P. aeruginosa* зумовлена присутністю таких помп, як MexAB-OprM, MexXY-OprM, MexCD-OprJ та MexEF-OprN, які забезпечують викид декількох антибіотиків, зокрема, хлорамфеніколу, фторхінолонів та тетрациклінів, хоча не всі з зазначених Mex-систем одночасно експресуються.

У *E. coli* клінічне значення має помпа AcrAB-TolC (надродини RND), яка відповідає за нечутливість бактерій до хлорамфеніколу, фторхінолонів, фузидієвої кислоти, β-лактамних антибіотиків, налідиксової кислоти, новобіоцину, рифампіцину та тетрацикліну. AcrAB-TolC-помпа *Salmonella typhimurium* подібна до такої *E. coli*,



## Ефлюкс-опосередкована резистентність до антимікробних засобів [41]

Антимікробні речовини	Ефлюксна система	Родина помп	Мікроорганізми
Хлорам-фенікол	Cml, CmlA, CmlB	MFS	<i>P. aeruginosa</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>K. pneumonia</i> , <i>S. enterica</i>
	Cml, Cmlv, Cmr, Cmx, CmrA	-	<i>Streptomyces spp.</i> , <i>Corynebacterium spp.</i> , <i>Rhodococcus spp.</i>
	MdfA	MFS	<i>E. coli</i>
	OqxAB	RND	<i>E. coli</i>
	MexEF-OprNc	RND	<i>P. aeruginosa</i> , деякі грам(-) бактерії
Хлорамфені-кол, флорфе-нікол	Flo, FloR, pp-Flo	MFS	<i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>V. cholerae</i> , <i>S. enterica</i>
	FexA	-	<i>S. lentus</i>
Макроліди	Mef(A)	MFS	<i>Streptococcus spp.</i> , <i>Corynebacterium spp.</i> , <i>Enterococcus spp.</i> , <i>Micrococcus spp.</i> , <i>Staphylococcus spp.</i> , <i>Acinetobacter spp.</i> , <i>Bacteroides spp.</i> , <i>Neisseria spp.</i>
	MacAB-ToIC	ABC	<i>E. coli</i>
	MtrCDE	RND	<i>N. gonorrhoeae</i>
Еритроміцин	Cme	MFS	<i>C. difficile</i>
Лінкозаміди	LmrB	MFS	<i>B. subtilis</i> , <i>C. glutamicum</i>
Тетрацикліни	Tet(A), Tet(B), Tet(C), Tet(D), Tet(E), Tet(G), Tet(H), Tet(J), Tet(Y), Tet(Z), Tet(30), Tet(39)	MFS	Грам(-) бактерії
	Tet(K), Tet(L)	MFS	Грам(+) бактерії
	Tet38, Tet(V), Rv1258/ Tap, P55/Rv1410	MFS	<i>S. aureus</i> , <i>M. tuberculosis</i> , <i>M. fortuitum</i> , <i>M. bovis</i> ,
	MexAB-OprM	RND	<i>E. coli</i>
Бета-лактами	AcrAB-ToIC	RND	<i>H. influenzae</i>
	MexAB-OprM	RND	<i>P. aeruginosa</i> , грам(-) бактерії
	LmrA	ABC	<i>L. lactis</i>
Аміногліко-зиди	AcrAD-ToIC	RND	<i>E. coli</i>
	MdfA	MFS	<i>E. coli</i>
	ВреAB-OprB AmrAB-OprA	RND	<i>B. pseudomallei</i>
	MexXY-OprM MexAB-OprM EmrE	RND	<i>P. aeruginosa</i>
Оксазоліди-нони	AcrAB-ToIC, AcrEF-ToIC	RND	<i>E. coli</i>

Антимікробні речовини	Ефлюксна система	Родина помп	Мікроорганізми
Фторхінолони	NorA, NorB	MFS	<i>S. aureus</i>
	PmrA	MFS	<i>S. pneumoniae</i>
	EmeA	MFS	<i>E. faecalis</i>
	Lde	MFS	<i>L. monocytogenes</i>
	EfrAB	ABC	<i>E. faecalis</i>
	Bmr, BIt, Bmr3	MFS	<i>B. subtilis</i>
	Rv1634	MFS	<i>M. tuberculosis</i>
	Rv2686c-Rv2687c-Rv2688c	ABC	<i>M. tuberculosis</i>
	Mmr	SMR	<i>M. smegmatis</i>
	SmeABC, SmeDEF	RND	<i>S. maltophilia</i>
	Orf12-Orf11-Orf-10	ABC	<i>Pseudomonas spp.</i>
Фторхінолони+ аміноглікозиди	LmrA	ABC	<i>L. lactis</i>
Фторхінолони+ еритроміцин	MdfA	MFS	<i>E. coli</i>
Макроліди + стрептограміни типу В	Msr(A)	ABC	<i>Staphylococcus spp.</i>
	Msr(C)	ABC	<i>E. faecium</i>
Макроліди + кетоліди	Msr(D)	ABC	<i>S. pneumoniae</i>
Макроліди + лінкозаміди + стрептограміни типу А	MdeA	MFS	<i>S. aureus, S. hemolyticus, B. cereus, B. subtilis</i>
	Vga(A/B)	ABC	<i>S. aureus</i>
Еритроміцин, рокситроміцин	MexCD-OprJ	RND	<i>Pseudomonas spp.</i>
Макроліди, лінкозаміди, кетоліди, фторхінолони	AcrAB-ToIC, Mex	RND	<i>E. coli, E. aerogenes, P. aeruginosa, грам(-) бактерії</i>
Гліцилцикліни, фторхінолони	AcrAB-ToIC, MexXY-OprM, MexAB-OprM, MexCD-OprJ	RND	<i>P. mirabilis, E. coli, K. pneumoniae, M. morganii P. aeruginosa</i>
	MepA	MATE	<i>S. aureus</i>

Антибіотикочутливість штамів бактерій з підвищеною експресією  
MDR-ефлюксних помп [39]

Штами бакте- рій, генотип	Ефлюксна помпа з під- вищеною експресією	Антимікробний препарат (МІК, мкг/мл)			
		ципро- флоксацин	хлорам- фенікол	тетраци- клін	β-лактами
<i>P. aeruginosa</i> PAO1 nalR-мутант	-	64,0	64,0	16,0	64,0
	MexAB-OprM	256,0	256,0	64,0	256,0
<i>S. enterica</i> SL1344 acrAB-мутант	-	0,03	4,0	2,0	4,0
	AcrB	0,5	16,0	16,0	32,0
<i>C. jejuni</i> 11168 cmeR-мутант	-	0,25	1,0	0,25	4,0
	CmeABC	8,0	16,0	8,0	32,0
<i>S. aureus</i> RN4222 norA-мутант	-	0,5	Н/д	0,12	0,25
	NorA	16,0	Н/д	Н/д	0,5
<i>S. pneumoniae</i> R6 pmrA-мутант	-	0,5	4,0	Н/д	Н/д
	PmrA	2,0	32,0	Н/д	Н/д

Примітка. Тут і в табл. 4: Н/д – не досліджено.

субстратами для неї також є антибіотики хлорамфенікол, хінолони та тетрациклін.

Резистентність до антибіотиків *Campylobacter jejuni*, що зумовлює гастроентерити, зумовлена іншою помпою RND-надродини – CmeABC, з якою пов'язана резистентність бактерій до дії ципрофлоксацину та еритроміцину [42].

Як зазначено раніше, у грамнегативних бактерій резистентність шляхом активації ефлюксних помп пов'язана переважно з помпами надродини MFS. Так, експресія в клітинах *S. aureus* помпи NorA забезпечує мікроорганізмам стійкість до хлорамфеніколу та фторхінолонів. У той самий час чутливість збудників до дії ванкоміцину та лінезоліду не змінюється. Встановлено, що резистентність *S. pneumoniae* до ципрофлоксацину та норфлоксацину забезпечується ефлюксною помпою PmrA [9, 17].

Натепер з'ясовано, що з ефлюксними помпами пов'язаний не лише викид антибіотиків з клітини назовні, але й виділення факторів патогенності, адег-

зинів, токсинів, сигналів міжклітинної взаємодії, що забезпечує мікроорганізмам існування в певних екологічних нішах, зокрема, макроорганізмі (табл. 4).

У декількох дослідженнях доведено, що експресія ефлюксних помп грамнегативних бактерій пов'язана з патогенністю останніх. Так, ефлюксна помпа AcrAB-TolC є важливою для здатності *S. typhimurium* викликати інфекції в мишей BALB/c або курчат. Доведено також, що ефлюксні помпи RND-надродини забезпечують патогенність різним видам бактерій, зокрема збудникам хвороб рослин [39, 43].

Таким чином, наведені дані свідчать про досить складну систему ефлюксу в прокаріотів, яка забезпечує мікроорганізмам здатність до колонізації макроорганізму та стійкість до антибіотиків. Гіперактивність ефлюксних помп є одним з основних механізмів протидії антимікробним препаратам та створює серйозну проблему в разі лікування пацієнтів з гнійно-запальними процесами, зумовленими резистентними штамми збудників.

**MDR-ефлюксні помпи, необхідні для виживання бактерій  
в їхніх екологічних нішах [39]**

Помпа	Родина	Вид бактерій	Властивості, які забезпечує експресія помпи	Субстрат помпи
AcrAB-TolC	RND	<i>S. enterica</i>	Адгезія, інвазія, колонізація та персистенція у клітинах макроорганізму (курчата)	Жовч
AcrAB-TolC	RND	<i>E. coli</i>	Н/д	Жовч та стероїди (ссавці)
AcrAB-TolC	RND	<i>Erwinia amylovora</i>	Колонізація тканин рослини	Ізофлавоноїди, ізопреноїди та алкалоїди рослин
MexAB-OprM	RND	<i>P. aeruginosa</i>	Інвазія клітин макроорганізму (щури, миші)	Н/д
Cme ABC	RND	<i>C. jejuni</i>	Колонізація та персистенція (курчата)	Жовч
Mtr CDE	RND	<i>N. gonorrhoeae</i>	Колонізація сечо-статевого тракту в мишей-самиць	Статеві гормони, протегрин-1, пептид LL-37

1. Алев И. А. Апокалипсис от ВОЗ: бактерии, панрезистентные к антибиотикам, как реальная угроза человечеству [Электронный ресурс] / И. А. Алев // Здоров'я України. – 2015. – Режим доступу: [http://health-ua.com/stati/inf\\_zabolevaniya/apokalipsis-ot-voz-bakterii-panrezistentnyie-k-antibiotikam-kak-realnaya-ugroza-chelovechestvu.html](http://health-ua.com/stati/inf_zabolevaniya/apokalipsis-ot-voz-bakterii-panrezistentnyie-k-antibiotikam-kak-realnaya-ugroza-chelovechestvu.html).
2. ECDC/EMA Joint Technical Report: The bacterial challenge: time to react. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: [http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/0909\\_TER\\_The\\_Bacterial\\_Challenge\\_Time\\_to\\_React.pdf](http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/0909_TER_The_Bacterial_Challenge_Time_to_React.pdf).
3. Antibiotic resistance threats in the United States. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013>
4. Практическое руководство по антиинфекционной терапии / [под ред. Л. С. Страчунского, Ю. Б. Белоусова, С. Н. Козлова]. – Москва : Боргес, 2002. – 375 с.
5. Сидоренко С. В. Молекулярные механизмы резистентности к антибиотикам / С. В. Сидоренко, В. И. Тишков // Успехи биологической химии. – 2004. – Т. 44. – С. 263–306.
6. Vambeke V. F. Antibiotic efflux pumps / V. F. Vambeke, E. Balzi, P. M. Tulkens // Biochemical Pharmacology. – 2000. – № 60. – P. 457–470.
7. Marquez B. Bacterial efflux systems and efflux pumps inhibitors / B. Marquez // Biochimie. – 2005. – V. 87, № 12. – P. 1137–1147.
8. Zechini B. Inhibitors of multidrug resistant efflux systems in bacteria / B. Zechini, I. Versace // Recent Pat Antiinfect Drug Discov. – 2009. – № 4. – P. 37–50.
9. Piddock L. J. Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pumps in bacteria / L. J. Piddock // Clin Microbiol Rev. – 2006. – V. 19, № 2. – P. 382–402.
10. Du D. Assembly and operation of bacterial tripartite multidrug efflux pumps / D. Du, H. W. van Veen, B. F. Luisi // Trends Microbiol. – 2015. – V. 23, № 5. – P. 311–319.
11. Distantly related sequences in the  $\alpha$ - and  $\beta$ -subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP requiring enzymes and a common nucleotide binding fold / J. E. Walker, M. Saraste, M. J. Runswick [et al.] // EMBO J. – 1982. – № 1. – P. 945–951.
12. Structural model of ATP-binding proteins associated with cystic fibrosis, multidrug resistance and bacterial transport / S. C. Hyde, P. Emsley, M. J. Hartshorn [et al.] // Nature. – 1990. – № 346. – P. 362–365.
13. Putman M. Molecular properties of bacterial multidrug transporters / M. Putman, H. W. van Veen, W. N. Konings // Microbiology and Molecular Biology Reviews. – 2000. – V. 64, № 4 – P. 672–693.
14. ABC transporters and multidrug resistance / [Ed. by A. Boumendjel, J. Boutonnat, J. Robert]. – New Jersey : Wiley, 2009. – 459 p.
15. Function of Escherichia coli MsbA, an essential ABC family transporter, in lipid A and phospholipid biosynthesis / Z. M. Zhou, K. A. White, A. Polissi [et al.] // J. Biol Chem. – 1998. – V. 273, № 20. – P. 12466–12475.

16. *Poole R. K.* The *cydD* gene product, component of a heterodimeric ABC transporter, is required for assembly of periplasmic cytochrome-c and of cytochrome-bd in *Escherichia coli* / R. K. Poole, F. Gibson, G. H. Wu // *FEMS Microbiol. Lett.* – 1994. – V. 117, № 2. – P. 217–224.
17. *Gill M. J.* Identification of an efflux pump gene *pmrA*, associated with fluoroquinolone resistance in *Streptococcus pneumoniae* / M. J. Gill, N. P. Brenwald, R. Wise // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* – 1999. – № 43. – P. 187–189.
18. Structure, function, and evolution of bacterial ATP-binding cassette systems / A. L. Davidson, E. Dassa, C. Orelle [et al.] // *Microbiol Mol Biol Rev.* – 2008. – V. 72, № 2. – P. 317–364.
19. *Davidson A. L.* ATP-binding cassette transporters in bacteria / A. L. Davidson, J. Chen // *Annu Rev Biochem.* – 2004. – № 73. – P. 241–268.
20. *Webber M. A.* The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance // M. A. Webber, L. J. V. Piddock // *J. Antimicrob Chemother.* – 2003. – V. 51, № 1. – P. 9–11.
21. *Dassa E.* The ABC of ABCs: a phylogenetic and functional classification of ABC systems in living organisms / E. Dassa, P. Bouige // *Res Microbiol.* – 2001. – № 152. – P. 211–229.
22. *Poole K.* Efflux-mediated resistance to fluoroquinolones in Gram-negative bacteria / K. Poole // *Antimicrob Agents Chemother.* – 2000. – № 44. – P. 2233–2241.
23. Physical and biochemical characterization of the *qacA* gene encoding antiseptic and disinfectant resistance in *Staphylococcus aureus* / J. M. Tennent, B. R. Lyon, M. Midgley [et al.] // *J. Gen Microbiol.* – 1989. – № 135. – P. 1–10.
24. *Saier M. H.* Phylogeny of multidrug transporters / M. H. Saier, I. T. Paulsen // *Seminars in cellular and developmental biology.* – 2001. – № 12. – P. 205–213.
25. The secondary multidrug transporter *LmrP* contains multiple drug interaction sites / M. Putman, L. A. Koole, H. W. van Veen [et al.] // *Biochemistry.* – 1999. – № 38. – P. 13900–13905.
26. *Gill M. J.* Identification of an efflux pump gene, *pmrA*, associated with fluoroquinolone resistance in *Streptococcus pneumoniae* / M. J. Gill, N. P. Brenwald, R. Wise // *Antimicrob Agents Chemother.* – 1999. – № 43. – P. 187–189.
27. *Pao S. S.* Major facilitator superfamily / S. S. Pao, I. T. Paulsen, M. H. Saier // *Microbiol Mol Biol Rev.* – 1998. – V. 62, № 1. – P. 1–34.
28. A human transporter protein that mediates the final excretion step for toxic organic cations / M. Otsuka, T. Matsumoto, R. Morimoto [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2005. – V. 102, № 50. – P. 17923–17928.
29. The MATE proteins as fundamental transporters of metabolic and xenobiotic organic cations / H. Omote, M. Hiasa, T. Matsumoto [et al.] // *Trends Pharmacol Sci.* – 2006. – V. 27, № 11. – P. 587–593.
30. Two highly similar multidrug transporters of *Bacillus subtilis* whose expression is differentially regulated / M. Ahmed, L. Lyass, P. N. Markham [et al.] // *J. Bacteriol.* – 1995. – V. 177, № 14. – P. 3904–3910.
31. *Paulsen I. T.* Proton-dependent multidrug efflux systems / I. T. Paulsen, M. H. Brown, R. A. Skurray // *Microbiol Rev.* – 1996. – № 60. – P. 575–608.
32. Role of the *Mmr* efflux pump in drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* / L. Rodrigues, C. Villellas, R. Bailo [et al.] // *Antimicrob Agents Chemother.* – 2013. – V. 57, № 2. – P. 751–757.
33. Two novel families of bacterial membrane proteins concerned with nodulation, cell division and transport / M. H. Saier, R. Tam, A. Reizer [et al.] // *Mol Microbiol.* – 1994. – № 11. – P. 841–847.
34. Membrane topology of the xenobiotic-exporting subunit, *MexB*, of the *MexA,B-OprM* extrusion pump in *Pseudomonas aeruginosa* / L. Guan, M. Ehrmann, H. Yoneyama [et al.] // *J. Biol Chem.* – 1999. – № 274. – P. 10517–10522.
35. *Zgurskaya H. I.* *AcrA* is a highly asymmetric protein capable of spanning the periplasm / H. I. Zgurskaya, H. Nikaido // *J. Mol Biol.* – 1999. – № 285. – P. 409–420.
36. *Sun J.* Bacterial multidrug efflux pumps: mechanisms, physiology and pharmacological exploitations / J. Sun, Z. Deng, A. Yan // *Biochemical and Biophysical Research Communications.* – 2014. – V. 453, № 2. – P. 254–267.
37. *Yu E. W.* *AcrB* Multidrug efflux pump of *Escherichia coli*: composite substrate-binding cavity of exceptional flexibility generates its extremely wide substrate specificity / E. W. Yu., J. R. Aires., H. Nikaido // *Journal of bacteriology.* – 2003. – V. 185, № 19. – P. 5657–5664.
38. Predicting transcriptional regulatory interactions with artificial neural networks applied to *E. coli* multidrug resistance efflux pumps [Електронний ресурс] / D. F. T. Veiga, F. F. R. Vicente, M. F. Nicolás [et al.] // *BMC Microbiology.* – 2008. – V. 8, № 1. – Режим доступу: <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2180-8-101>.
39. *Piddock L. J. V.* Multidrug-resistance efflux pumps — not just for resistance / L. J. V. Piddock // *Nat Rev Microbiol.* – 2006. – V. 4. – P. 629–636.
40. Exploring the contribution of efflux on the resistance to fluoroquinolones in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* [Електронний ресурс] / S. S. Costa, C. Falcão, M. Viveiros [et al.] // *BMC Microbiol.* – 2011. – V. 11. – Режим доступу: <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2180-11-241>.
41. *Poole K.* Efflux-mediated antimicrobial resistance / K. Poole // *J. Antimicrob Chemother.* – 2005. – № 56. – P. 20–51.



- 
42. Bacterial multidrug efflux pumps: much more than antibiotic resistance determinants [Електронний ресурс] / P. Blanco, S. Hernando-Amado, J. A. Reales-Calderon [et al.] // Microorganisms. – 2016. – V. 4, № 1. – Режим доступу: <http://www.mdpi.com/2076-2607/4/1/14>.
43. Lin J. Сме ABC functions as a multidrug efflux system in *Campylobacter jejuni* / J. Lin, L.O. Michel, Q. Zhang // Antimicrob Agents Chemother. – 2002. – V. 46, № 7. – P. 2124–2131.

**Н. О. Вринчану**

### **Роль еффлюксних систем у резистентності мікроорганізмів до антибіотиків**

Огляд літератури узагальнює сучасні дані щодо класифікації, структури та функцій еффлюксних pomp, їхньої ролі в життєдіяльності бактерій, зокрема, у розвитку резистентності до антимікробних препаратів. Генетичні детермінанти транспортерів можуть міститися на хромосомах та плазмідах або транспозонах, що зумовлює легкість передачі цих генів, а отже й появу нових стійких штамів патогенів. Слід зазначити, що резистентність, що пов'язана з еффлюксом, на тепер виявлена практично для всіх відомих класів антибактеріальних препаратів.

Еффлюксні помпи, що присутні в клітинах прокариот та еукариот, поділяються на 2 типи: первинні (АТФ-залежні) транспортери та вторинні, які використовують енергію електрохімічного градієнта. Згідно з класифікацією за молекулярною структурою, виділяють 5 родин (надродин) еффлюксних pomp – ABC (ATP binding cassette), MFS (major facilitator superfamily), MATE (multidrug and toxic compound extrusion), SMR (small multidrug resistance) та RND (resistance-nodulation-division). Встановлено, що в клінічних штамів грамнегативних бактерій еффлюкс більшою мірою пов'язаний з RND-надродиною, у грампозитивних – з MFS-надродиною.

Сьогодні з'ясовано, що з еффлюксними помпами пов'язаний не лише викид антибіотиків з клітини назовні, але й виділення факторів патогенності, адгезинів, токсинів, сигналів міжклітинної взаємодії, що забезпечує мікроорганізмам існування в певних екологічних нішах, зокрема, в організмі людини, тварин і рослин.

Надана інформація свідчить про досить складну систему еффлюксу в прокариотів, яка забезпечує їм здатність до колонізації макроорганізму та стійкість до антибіотиків. Гіперактивність еффлюксних pomp є одним з основних механізмів протидії антимікробним препаратам і створює серйозну проблему в разі лікування пацієнтів з гнійно-запальними процесами, зумовленими резистентними штамми збудників.

*Ключові слова: мікроорганізми, антимікробні засоби, резистентність, еффлюксні помпи*

**Н. А. Вринчану**

### **Роль эффлюксных систем в резистентности микроорганизмов к антибиотикам**

Обзор литературы обобщает современные данные о классификации, структуре и функциях эффлюксных pomp, их роли в жизнедеятельности бактерий, в частности, в развитии резистентности к антимикробным препаратам. Генетические детерминанты транспортеров могут содержаться на хромосомах и плазмидах или транспозонах, что обуславливает легкость передачи этих генов, а значит и появление новых устойчивых штаммов патогенов. Следует отметить, что резистентность, связанная с эффлюксом, в настоящее время обнаружена практически у всех известных классов антибактериальных препаратов.

Эффлюксные помпы, присутствующие в клетках прокариот и эукариот, делятся на 2 типа: первичные (АТФ-зависимые) транспортеры и вторичные, использующие энергию электрохимического градиента. Согласно классификации по молекулярной структуре, выделяют 5 семейств (суперсемейств) эффлюксных насосов – ABC (ATP binding cassette), MFS (major facilitator superfamily), MATE (multidrug and toxic compound extrusion), SMR (small multidrug resistance) и RND (resistance nodulation division). Установлено, что у клинических штаммов грамотрицательных бактерий эффлюкс в большей степени связан с помпами RND-суперсемейства, у грамположительных – MFS-суперсемейства.

В настоящее время установлено, что с эффлюксными насосами связан не только выброс антибиотиков из клетки наружу, но и выделение факторов патогенности, адгезинов, токсинов, сигналов межклеточного взаимодействия, обеспечивающее микроорганизмам существование в определенных экологических нишах, в частности, в организме человека, животных и растений.

Представленная информация свидетельствует о наличии достаточно сложной системы эффлюкса у прокариот, которая обеспечивает им способность к колонизации макроорганизма и устойчивость к антибиотикам. Гиперактивность эффлюксных насосов является одним из основных механизмов противодействия антимикробным препаратам и создает серьезную проблему при лечении пациентов с гнойно-воспалительными процессами, обусловленными резистентными штаммами возбудителей.

*Ключевые слова: микроорганизмы, антимикробные средства, резистентность, эффлюксные помпы*

---

---

**N. O. Vrynchanu**

## **Role of efflux systems in microbial resistance to antibiotics**

The review summarizes current data about classification, structure, and functions of efflux pumps, their role in microorganism survival and resistance. Genetic determinants of transporters are located on chromosomes, plasmids or transposons, contributing in fast gene transfer, and, therefore – in the appearance of new resistant pathogens. It is important to remark, that efflux-mediated resistance had been already identified for all known classes of antibiotics.

Prokaryotic and eukaryotic efflux pumps are divided into two types: primary (ATP-depending) and secondary transporters (using an electrochemical gradient energy). The molecular structure of efflux systems was the basis for their classification into 5 families (superfamilies) – ABC (ATP binding cassette), MFS (major facilitator superfamily), MATE (multidrug and toxic compound extrusion), SMR (small multidrug resistance) and RND (resistance-nodulation-division). It is currently established, that clinically relevant antibiotic resistance in Gram-negative and Gram-positive pathogens is mostly caused by RND- and MFS-pumps, respectively.

In addition to the role in resistance, efflux pumps are involved in extrusion of virulence factors, adhesins, toxins, signals of intercellular interactions, ensuring the microorganism survival in certain ecological niches, particularly – in human, animal or plant organism.

The presented data underline a complexity of efflux systems in prokaryotes and its significant role in antibiotic resistance and colonization of macroorganism. Hyperactivation of efflux pumps is one of the key resistance mechanisms, resulting in a serious challenge in the treatment of patients with inflammatory diseases, caused by resistant strains of pathogens.

*Key words: microorganisms, antimicrobial agents, resistance, efflux pumps*

---

*Надійшла: 16 квітня 2017 р.*

**Контактна особа:** Вринчану Ніна Олексіївна, доктор медичних наук, відділ фармакології протимікробних засобів, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ, вул. Е. Потьє, 14, 03057. Тел.: +38 0 44 456 78 62.  
Електронна пошта: ninaoleks@yandex.ua

Н. В. Добреля<sup>1</sup>, Н. С. Гула<sup>1</sup>, О. В. Богатирьова<sup>2</sup>, О. С. Хромов<sup>1</sup>

## Ліпосоми: не тільки «ліпо-»

<sup>1</sup>Державна установа «Інститут фармакології та токсикології  
Національної академії медичних наук України», м. Київ

<sup>2</sup>Донецький національний медичний університет, м. Ліман

*Ключові слова:* ліпосоми, ліпосомальні препарати

Ліпосоми являють собою замкнуті сфери, утворені одним або декількома бішарами ліпідів, у середині яких знаходиться простір, найчастіше заповнений водним розчином. Ліпосоми, що складаються з фосфоліпідів і холестерину, прийнято називати конвенціональними. Вони мають певну фізіологічну активність та можуть слугувати для транспорту як гідрофільних, так і гідрофобних ліків завдяки наявності водного середовища в центральній частині та гідрофобної частини ліпідного бішару [1–3].

Важко перерахувати всі галузі, в яких існує можливість використання ліпосом: від біології та медицини до таких, здавалось би, несумісних, як хімічна промисловість та екологія [4, 5]. Проте головними проблемами, які обмежують їхнє практичне використання, є хімічна та фізична нестабільність, великий діапазон розмірів, занадто швидка біодеградація. Для підвищення стабільності ліпосом використовують кріопротектори, поліетиленгліколь (ПЕГ) та велику кількість інших сполук, які змінюють властивості бішару [6]. Тому модифікація складу та поверхні ліпосом – перспективний напрям фармакології, що дає можливість говорити про численні варіанти, якими можна замінити частину «ліпо-» у слові ліпосома.

Існує декілька класифікацій ліпосом, що ґрунтуються на формі, способі отримання, структурі та розмірі або на складі та застосуванні. *Мета дослідження* – проаналізувати дані літератури щодо модифікацій складу ліпосом та їхньої поверхні, а також можливості застосування різних типів нановезикул у фармакології.

*Археосоми.* Археосоми характеризуються наявністю ліпідів, які мають прості ефірні зв'язки. Такі ліпіди були виявлені в клітинних мембранах архей, виділених в окремий домен живих організмів [7]. Мембрани архей містять діефірні та тетраефірні ліпіди, які нетипові для інших організмів, і є однією з таксономічних ознак архей (рис. 1). Стереохімічно фосфоліпіди архей відрізняються від фосфоліпідів бактерій та еукаріот L-, а не D-конфігурацією асиметричного атома в залишку молекули гліцерину. Гідрофобними хвостами є насичені ізопренові ланцюги, інколи розгалужені, з циклопропановими та циклогексановими кільцями, з'єднані між шарами (біполярні) [8]. Вони практично не залишають вільного простору в гідрофобній частині, для них не характерна впорядкованість окремих молекул, їхня витягнута форма, паралельність одна одній і нахил відносно площини мембрани – ті властивості, що сприяють фазовому переходу та заважають збереженню «рідкого» стану мембрани [9]. Така унікальна структура ліпідів обумовлює стабільність клітин архей за екстремальних температурних умов, широкого діапазону значень кислотності середовища та зміни тиску. Для виготовлення цього типу ліпосом використовуються як природні або хімічно модифіковані ліпіди архей, так і суто синтетичні ліпіди. У цьому разі застосовують гідратацію тонкої плівки з наступною обробкою ультразвуком або екструзією за фізіологічної або нижчої температури [10]. Археосоми можуть бути виготовлені та зберігатись у присутності кисню без будь-якої деградації та стерилізуватись за допомогою автоклавування, що вигідно відрізняє їх від інших ліпосом. Згідно з даними літератури, завдяки біосумісності та високій стабільності

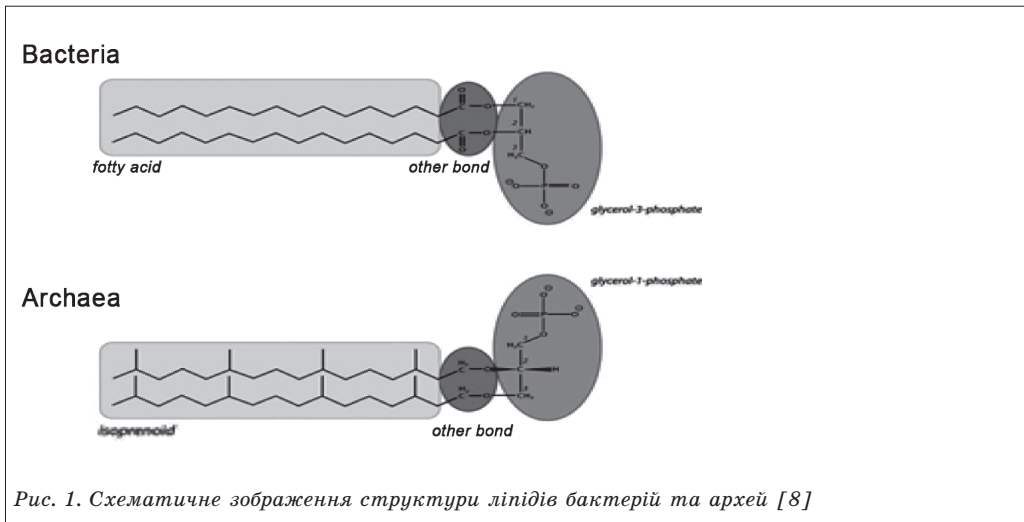


Рис. 1. Схематичне зображення структури ліпідів бактерій та архей [8]

археосоми мають значну перевагу порівняно зі звичайними ліпосомами, особливо щодо виготовлення вакцин і доставки генетичного матеріалу та білків [11–13].

**Ніосоми.** Ніосоми – ліпосоми, побудовані з молекул неіоногенних поверхнево-неактивних речовин (ПАР, наприклад: модифіковані силіконові емульгатори – диметикон кополіоли та т. ін.) з можливим додаванням холестерину (рис. 2). Загалом цей тип ліпосом є біосумісним, для нього не характерні підвищені токсичність, імуногенність і канцерогенність, та він легко піддається біодеградації. Залежно від мети змінюють склад, плинність і розмір ніосом [14, 15]. Їх вирізняє підвищена стабільність, осмотична активність, менша

схильність до руйнування під впливом солей жовчних кислот, розчинників [16, 17]. Також для підвищення стабільності ліпосом та запобігання їхньої агрегації на поверхні везикул індуюють заряд [18]. Ніосоми найчастіше використовують для підвищення біодоступності препаратів для перорального застосування та нанесення на шкіру, хоча можливе парентеральне введення [19, 20].

**Етасоми.** Етасоми та трансферсоми – два типи ліпосом, які часто порівнюють, оскільки вони містять спирти (етиловий або ізопропіловий) та використовуються в першу чергу для трансдермальної доставки препаратів [22–24]. Механізм проникнення діючої речовини крізь шкіру за допомогою етасом повністю не вивчений, але в ньому виділяють дві фази – дію спирту (етанолу) та дію власне етасом, що включає проникнення ліпосом у глибокі шари шкіри, взаємодію ліпосомальних ліпідів з ліпідами клітинної мембрани, вивільнення завантаженої в етасоми активної речовини (рис. 3) [25, 26]. Етанол діє на ліпіди, підвищуючи плинність як ліпосом, так і клітинних мембран, та зменшуючи їхню щільність. Крім того, етанол може взаємодіяти з довголанцюговими жирними кислотами з утворенням етилових ефірів, які спричиняють більш потужну дезорганізуючу дію на клітинну мембрану, ніж сам етанол. Показано, що етанол змінює розподіл компонентів ліпідних рафтів (зокрема комплексу

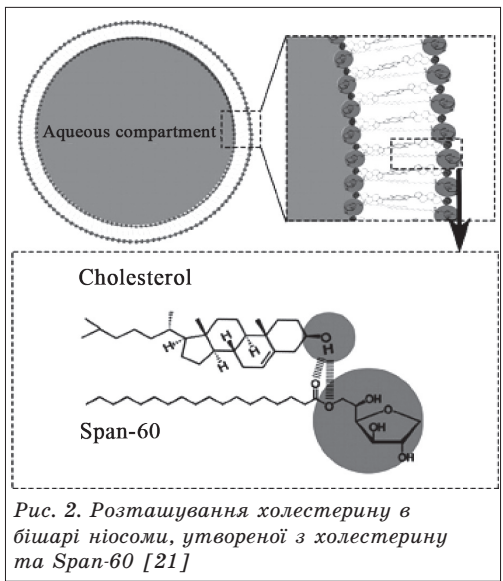


Рис. 2. Розташування холестерину в бішарі ніосоми, утвореної з холестерину та Span-60 [21]

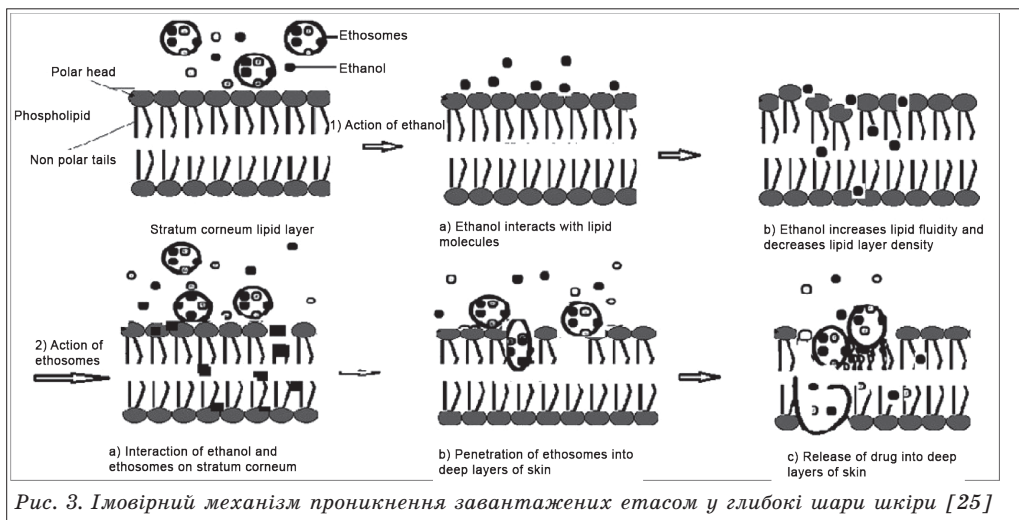


Рис. 3. Імовірний механізм проникнення звантажених етасом у глибокі шари шкіри [25]

TLR4), впливаючи на регуляторну дію мембранних білків [27]. Висока концентрація етилового спирту (20–50 %) в етасомах та зміни співвідношення компонентів і хімічної структури фосфоліпідів дозволяють виготовляти композиції з досить прогнозованою взаємодією з клітинами шкіри [28].

**Трансферсоми.** Трансферсоми – відносно новий тип носіїв для трансдермального проникнення білків і пептидів, таких як інсулін, альбумін, різноманітні вакцини тощо. Головною перевагою трансферсом є підвищена гнучкість, м'якість форми, що зумовлена наявністю ліпідних супрамолекулярних комплексів з фосфоліпідів та ПАВ та забезпечує неінвазивну доставку препарату в/крізь глибокі шари шкіри або слизові оболонки до системного кровообігу [29–31]. За рахунок деформації ці ліпосоми легко проникають крізь пори, навіть якщо розмір пор набагато менший, ніж у самих трансферосом (рис. 4) [32]. Таким чином можна запобігти передчасному включенню лікарського засобу до метаболізму з наступною деградацією, отримати прогнозовану

тривалість дії, мінімізувати небажані побічні ефекти, забезпечити підтримання певної концентрації ліків у тканинах та органах, уникнути інвазивних процедур за введення препарату – тобто, використати всі переваги трансдермального введення фармакологічних агентів, яким, зазвичай, заважає низька проникність рогового шару шкіри. Гнучкість мембрани трансферсом досягається шляхом підтримання певного співвідношення між відповідними поверхнево-активними речовинами (edge activator) та мінімізує ризик розриву везикул у разі проходження різних шарів шкіри, дозволяючи проникати через неушкоджений роговий та інші шари епідермісу за градієнтом концентрації [33, 34]. Для виготовлення мембран трансферсом використовують фосфоліпіди як основний компонент (соевий або ячний фосфатидилхолін, дипальмітоїлфосфатидилхолін і т. ін.), 10–25 % ПАВ для забезпечення еластичності (холат натрію, дезоксихолат натрію, Span 80, Tween 80 тощо), 3–10 % спирту для розчинності (етанол, метанол) [35]. Трансферсоми можуть місти-

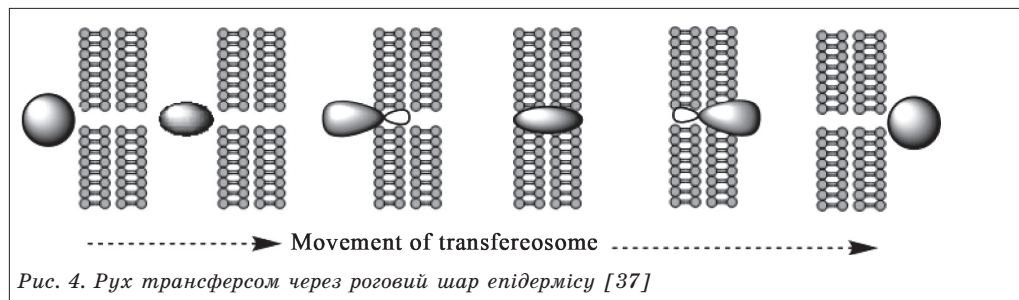


Рис. 4. Рух трансферсом через роговий шар епідермісу [37]



ти фармацевтичні агенти як з низькою, так і з високою молекулярною масою (аналгетики, кортикостероїди, інсулін, статеві гормони тощо). Ефективність включення ліпофільних препаратів у такі ліпосоми може сягати 90 % [36].

Для трансферсом та етосом характерні однакові переваги: 1) можливість доставки великих молекул, 2) відносна нетоксичність сировини, з якої виготовляються ці типи ліпосом, 3) поліпшене проникнення крізь непошкоджену шкіру, 4) відсутність інвазивного втручання, що полегшує дотримання пацієнтами схеми лікування, особливо при застосуванні лікарського засобу у вигляді крему або гелю, 5) спрощене застосування порівняно з іншими трансдермальними процедурами (іонофорез, ультрафонофорез тощо), 6) можливість широкого комерційного застосування у фармації, косметології та ветеринарії. Але ці види ліпосом мають і певні спільні недоліки: 1) не підлягають такому введенню препарати, добова доза яких має перевищувати 10 мг, тобто цей метод аплікації може застосовуватися для сильнодіючих молекул, 2) введення ліків за допомогою етасом або трансферсом не передбачає швидкого підвищення концентрації препарату в організмі – цей процес поступовий та повільний, 3) препарати для місцевого застосування можуть потрапляти до системної циркуляції, 4) існують певні обмеження для розміру молекул, які містяться у таких ліпосомах, 5) можливість виникнення алергічних реакцій, подразнень шкіри чи дерматитів, 6) комплекс може легко змиватись або, у разі пластиру, відклеюватись.

Деякі дослідники відмічають підвищену «завантаженість» препарату в трансферсоми, їхню вищу еластичність та підсилений трансдермальний дифузійний потік лікарського засобу [38, 39]. У випадку, коли необхідно досягти вищої концентрації діючої речовини в шкірі, надається перевага трансферсомам, а для доставки ліків у системний кровотік бажано використовувати етасоми [40].

*Новасоми.* Новасоми – ліпосоми, що мають 2–7 бішарів, які складаються з поліоксіетилену моноєфіру жирних

кислот, холестерину та вільних жирних кислот. Внутрішнє аморфне ядро може бути завантажене на 80–85 % лікарським засобом. Поверхня різних шарів може мати різний заряд і відрізнятися за розчинністю. Новасоми можуть включати гідрофільні та гідрофобні речовини в одній композиції, препарати, що взаємодіють між собою, можуть бути розділені подвійними шарами. Новасоми зберігають стабільність у широкому діапазоні рН (2–13) та температури (0–100 °C) [41]. Застосування новасом підвищує швидкість абсорбції за місцевого застосування лікарських засобів за рахунок нефосфоліпідних структур, тому дуже перспективним видається їхнє застосування в дерматології [42, 43].

*Віросоми.* Віросоми – комплекси, до складу яких входять ліпіди та фузогенні білки оболонки вірусу (рис. 5). Віросоми можуть також містити білки, виділені з інших організмів, та необхідні для вироблення імунної відповіді. Уперше цей термін у сучасній інтерпретації був використаний у 1975 році для визначення ліпосом, які містили білки оболонки вірусу грипу: гемаглютинін і нейрамінідазу [44].

Найважливішою перевагою використання віросом в імунології є можливість активування двох ланцюгів імунної відповіді: гуморального та клітинного. У цьому разі для презентації білків через систему глікопротеїнових рецепторів головного комплексу гістосумісності I класу та розвитку гуморальної відповіді (появи специфічних антитіл) досить пікомолярної концентрації білка, що свідчить про підвищення чутливості імунної системи в кілька тисяч разів порівняно з використанням розчину білка, не захищеного ліпосомами [46, 47]. Також за допомогою віросом можна активувати Т-лімфоцити та ініціювати клітинний фагоцитоз, що цілком залежить від фузогенної здатності білків віросом. Здатність доставляти антигени безпосередньо до цитоплазми відрізняє віросоми від інших агентів, які використовуються в медицині для активації імунної відповіді. Використання віросом для імунізації дозволяє виробити імунітет

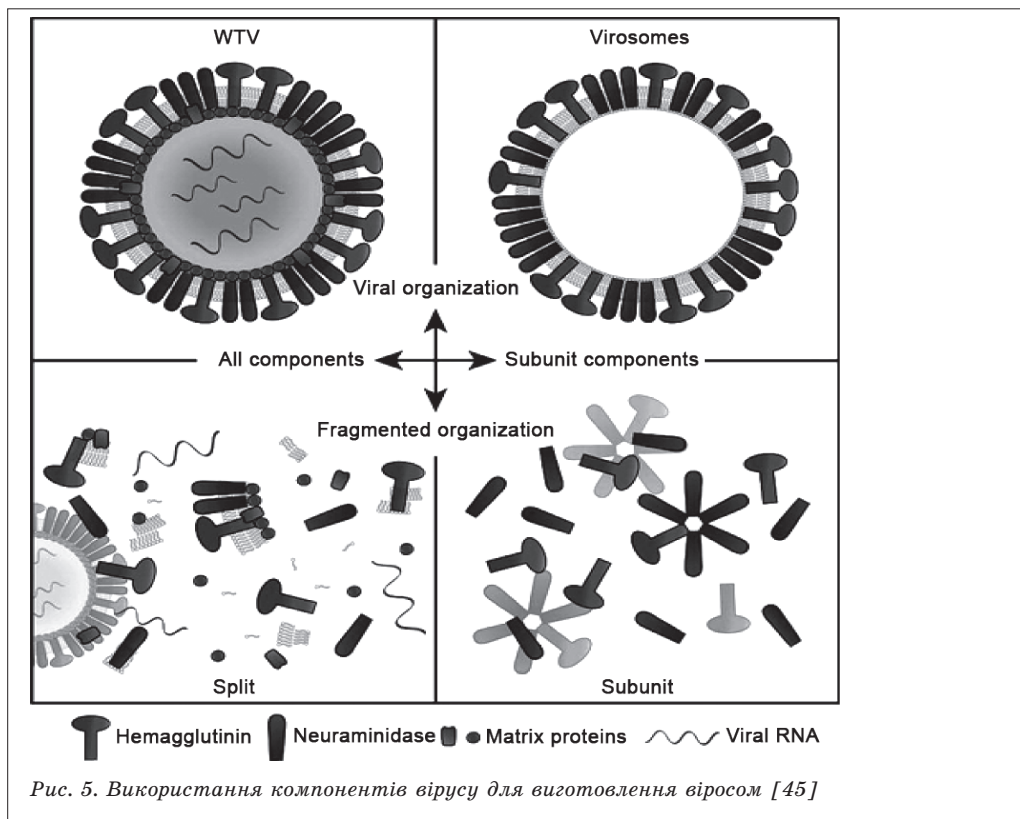


Рис. 5. Використання компонентів вірусу для виготовлення віросом [45]

до певних інфекційних агентів, але уникнути проявів захворювання, що іноді зустрічається за використання звичайної вакцини [48]. Це сприяє підвищенню стабільності антигена завдяки захисту від дії агресивних чинників, наприклад літичних ферментів, зниженню токсичних проявів, покращенню імуногенності та дає можливість відтворювати імуностимулюючу дію з уповільненим і контрольованим вивільненням антигена.

Найбільша кількість досліджень проведена з віросомами, отриманими на основі компонентів вірусу грипу [49]. Заміна власних ліпідів вірусу на природні та синтетичні ліпіди дозволяє суттєво спростити процедуру приготування віросом, які отримали назву «імуностимулюючі реконструйовані віросоми грипу» (IRIV) [50]. IRIV можуть містити різні лікарські речовини, специфічні рецептори, генетичний матеріал і антигени різних патогенних організмів, необхідні для вироблення імунної відповіді.

Перспективним вважають посилення активності віросом за допомогою

ад'ювантів – агентів, які не є антигенами, але здатні прискорити імунну відповідь, збільшити її тривалість або посилити антигенну специфічність імунної відповіді. Самі ліпосоми, згідно з Грегоріадисом та Елісоном, використовували як імунологічні ад'юванти [51].

У разі розробки ліпосомальних вакцин необхідно враховувати біофізичні параметри ліпосомальної композиції. Наявність ковалентної кон'югації, інкапсуляції або адсорбції між антигенами та ліпідним бішаром, властивості самих ліпідів (підвищення температури переходу гель/рідкий кристал посилює специфічну імунну відповідь), наявність заряду мембрани, тривале збереження ліпосом у місці ін'єкції, підвищення кількості ендогенних ліпідів сприяють посиленню захисної реакції організму [52–54].

Введення віросом в організм може бути парентеральне (внутрішньовенне, внутрішньом'язове, підшкірне, внутрішньоартеріальне) [55], пероральне [56], трансдермальне [56], місцеве [57] або внутрішньолегеневе [58].

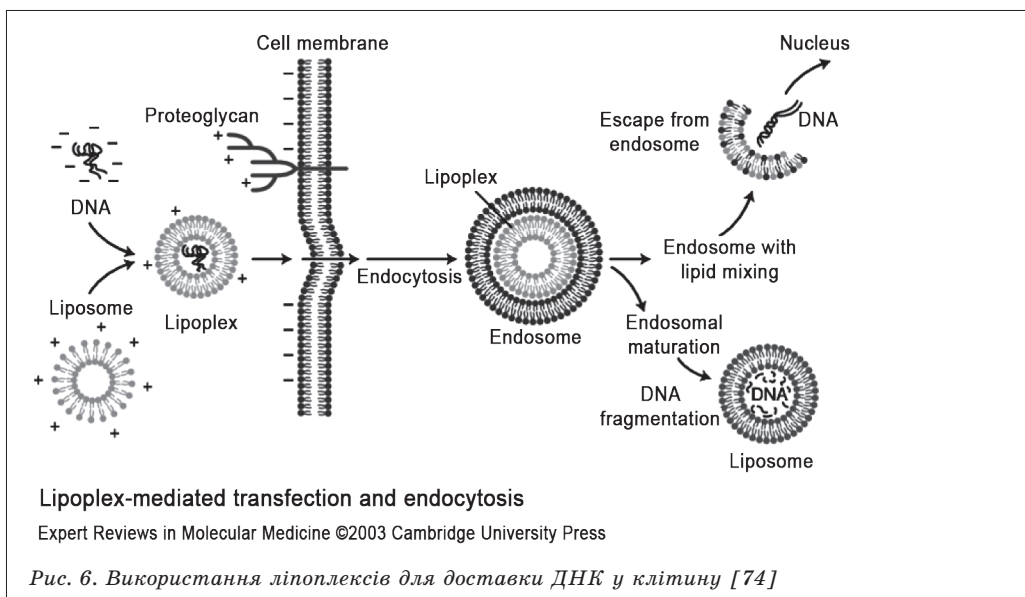
Нові перспективи відкриваються за використання віросом для доставки генетичного матеріалу: плазмідної ДНК [59], малих інтерферуючих РНК (si-РНК) [60] тощо. Ліпосоми, які використовують для перенесення генетичного матеріалу, не обмежуються віросомами й отримали загальну назву *геноси*.

*Геносоми*. Основними етапами у роботі генної терапії є визначення ролі геному в розвитку захворювання, виявлення клітин- та генів-мішеней, проектування відповідних векторів, перенесення генетичного матеріалу та ефективний вплив на відповідні клітини, тканини та органи. Під ефективним впливом мається на увазі заміна генів, надходження або активація генів для виробництва певних активних речовин, наприклад, стимулюючих імунну систему тощо. Цей напрям вважають перспективним для таких захворювань, як муковісцидоз, гемофілія, дреапноцитоз (серповидноклітинна анемія), гіперхолестеринемія, мутантні гени-супресори пухлин та ін. [61, 62].

Хоча в галузі генної терапії першість як перевізника генетичного матеріалу належить вірусам, вірусні вектори можуть викликати небажані мутації та імунні реакції або виявитися неефективними, якщо реципієнт має імунітет до захворювання, викликаного застосуванням вірусом [63–65]. Використан-

ня ліпосом, що містять катіонні ліпіди, не тільки запобігає таким небажаним явищам, але має деякі переваги: залежно від дизайну вони можуть тривалий час циркулювати в судинах, взаємодіючи з клітинами різних органів (рис. 6). Серед недоліків слід відмітити проблеми у разі перетину клітинної мембрани, надходження в перинуклеарний простір та проникнення в ядро, а також негативний вплив літичних ферментів і в'язкості цитоплазми. Як катіонні ліпіди використовують синтетичні (DOTMA, DOTAP, DODAP тощо) та природні ліпіди, яким надано катіонний заряд (фосфатидилхолін або холестерин) [66]. Використання катіонних ліпідів пов'язують з проявами цитотоксичності, що потребує подальшої корекції складу ліпосом, наприклад, за допомогою природного аніонного полімеру – гіалуронової кислоти [67]. Ефективність включення генетичного матеріалу в такі ліпосоми може досягати 100 % [68].

Оскільки комплекси, що утворюються за взаємодії ліпосом і генетичного матеріалу, суттєво відрізняються від класичних ліпосом, їх часто називають ліпоплексами. Завдяки електростатичній взаємодії ДНК і ліпідного бішару відбуваються суттєві структурні зміни, що можуть включати агрегацію та колапс ліпосом [69]. Результат цієї взаємодії залежить від співвідношення



ДНК/ліпід та розміру ліпосом. Малі катіонні ліпосоми залишаються стабільними в разі надлишку ДНК, але зливаються за надлишку ліпідів. Великі моноламельярні катіонні ліпосоми на надлишок ДНК відповідають злиттям мембран та утворенням мультиламельярних комплексів, інвертованих трубок ліпідів і т. ін., але за ефективністю трансфекції ці складні композиції можуть переважати вплив малих ліпосом [70]. Самі молекули ДНК, адсорбовані на поверхні шару ліпідів або між шарами в мультиламельярних структурах, утворюють кластери паралельно орієнтованих ниток [71, 72]. Активність трансфекції корелює з сумарним зарядом ліпоплексу, кількістю та довжиною гідрофобних «хвостів» та природою різних полярних частин ліпідів, здатністю сумішей ліпідів до переходу гель-рідкий кристал за фізіологічних температур, а також з можливістю обміну ліпідами між ліпоплексом і мембраною клітини або їх об'єднання [73].

**Криптосоми.** Створення криптосом, або стелс-ліпосом, також викликане необхідністю забезпечити високу стабільність доставки лікарських засобів до клітин-мішеней і захисту від фагоцитів і білків плазми. До складу таких ліпосом повинні входити хімічні групи, здатні блокувати електростатичні або гідрофобні взаємодії та попереджати опсонізацію. На відміну від інших видів ліпосом, їхня оболонка складається з фосфоліпідів та поллоксамерів – три-блок-сополімерів поліоксіетилену

та поліоксипропілену або ПЕГ (рис. 7) [10, 75]. Такий захист є найефективнішим, якщо вміст ПЕГ приблизно відповідає 10 %, а молекулярна маса його ланцюга більша, ніж 2000 Да [76]. Прикріплення до лінійних ланцюгів ПЕГ додаткових груп посилює стеричні перешкоди для опсонів та суттєво (у 5–10 разів) збільшує час циркуляції ліпосом у крові порівняно зі звичайним ПЕГ [77]. Серед інших полімерів, що здатні утворювати стеричні перешкоди опсонізації, використовують полівінілпіролідон (ПВП), полі(ε-капролактон), полі(β-гідроксибутират), полімолочну кислоту, полістерол, сироватковий альбумін, желатин (В-тип), полісахариди, поліакриламід тощо [78].

Уперше цей принцип було використано для розробки завантажених доксерубіцином ліпосом, доступних на фармацевтичному ринку, як Doxil (Janssen Biotech, Inc., Horsham, США) для лікування пухлин [10].

**Емульсоми.** Деякі дослідники виділяють окрему групу ліпосом, внутрішня частина яких являє собою жирову субстанцію, оточену одним або кількома подвійними шарами фосфоліпідів – емульсоми [10, 80]. Емульсоми мають певну структурну схожість з хіломікронами – ліпопротеїнами, що утворюються в тонкому кишківнику, надходять до лімфатичних судин, а потім у системний кровообіг та забезпечують транспорт харчових ліпідів до печінки. Завдяки цій спорідненості емульсоми здатні доставляти діючі речовини до лімфатичної системи та печінки [81].

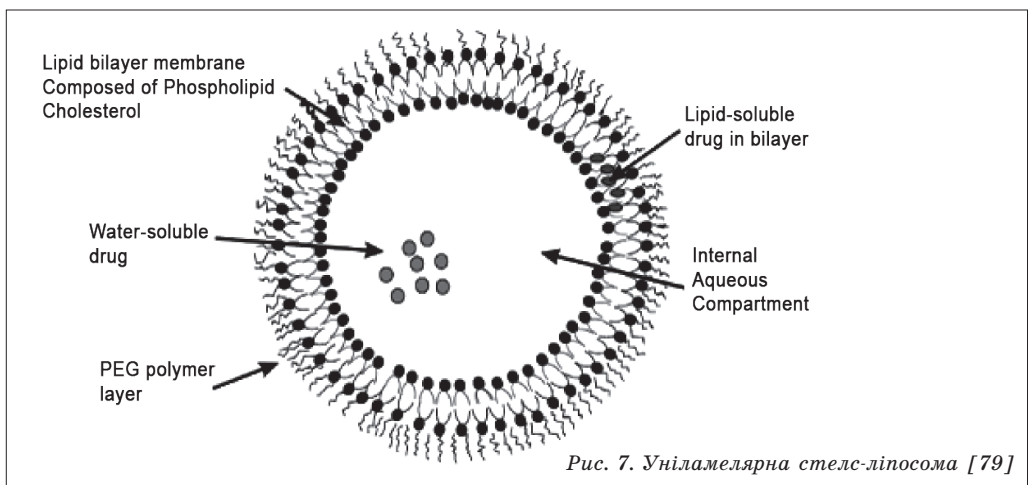


Рис. 7. Уніламельярна стелс-ліпосома [79]

За перорального введення емульсоми захищають вміст ядра від ферментів шлунка, оскільки останні не гідролізують тригліцериди. За внутрішньовенного введення емульсоми, завдяки своїм колоїдним властивостям, найчастіше поглинаються макрофагами печінки, що дозволяє таргетно впливати на цей орган. Емульсоми здатні довше знаходитись у кров'яному руслі (до 24 год) порівняно з конвенціональними ліпосомами (6 год) [10].

Використання емульсом для введення біологічно-активних речовин в організм дозволяє не тільки підвищити біодоступність речовин, використовувати пероральний шлях введення для речовин з низькою розчинністю, але й покращує фармакокінетичні показники препарату, дозволяє створити умови для уповільненого вивільнення, запобігати виникненню резистентності до лікарських засобів, пов'язаної з надмірною експресією глікопротеїну, завдяки підтриманню необхідної концентрації препарату в клітині-мішені та використанню менших доз ліків [82, 83]. Особливо слід виділити роботи, в яких властивості емульсом модифікують завдяки, наприклад, білкам S-шару бактерій (рис. 8). Додавання цього шару поліпшує протизапальні властивості, запобігає передчасній деструкції емульсомальних комплексів, а завдяки можливості утворення кількох S-шарів розширюється функціональність таргетної доставки ліків [84].

**Везисоми.** Везисоми – оліговезикулярні ліпосоми, які можуть забезпечити транспорт декількох лікарських засобів і послідовне або паралельне їхнє вивільнення [85]. Наприклад, йде інтенсивна розробка оліговезикулярних ліпосом з 2 препаратами – карбоплатином і паклітакселом, комбінація яких використовується для лікування раку яєчників, але різна фармакокінетика обмежує клінічну ефективність цієї комбінації [86]. Використані в дослідженні мультиламелярні ліпосоми, «зшиті» між подвійними шарами, показують вищу ефективність та безпечність порівняно як з самими препаратами, так і з комбінацією ліпосомальних форм кожного з них [87]. Це

підтверджується і результатами вивчення мультиламелярних ліпосом, які «зшиті» між подвійними шарами й завантажені саліноміцином і доксирубіцином, у разі лікування раку грудей [88]. Особливу увагу привертає здатність цієї комбінації знешкоджувати стійкі до опромінення та хіміотерапії стовбурові клітини ракових пухлин. Певні надії покладають і на використання цього типу ліпосом для подолання множинної лікарської резистентності пухлин [89]. Цей тип ліпосом також здатен посилювати гуморальну та клітинну імунну відповідь, тож його розглядають як основу для створення вакцин [90].

**Фотосоми.** Фотосоми – ліпосоми, що містять фотосенсибілізатори, які фототригерно активуються та запускають реакції між активними формами кисню та клітинними мішенями (рис. 9) [91, 92]. Фотосоми можуть застосовуватися для діагностики, у фотодинамічній терапії, коли фотобіохімічна реакція призводить до утворення в тканині та/або судинах пухлини цитотоксичних речовин, або у фотохіміотерапії, коли світло забезпечує вивільнення

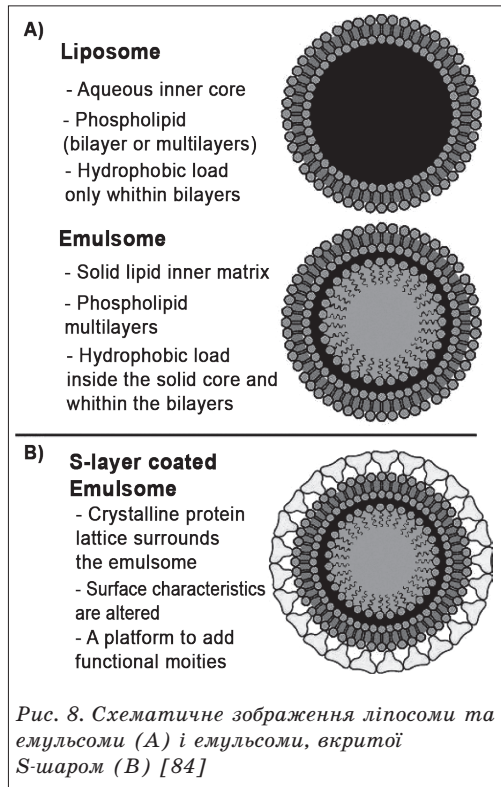


Рис. 8. Схематичне зображення ліпосоми та емульсоми (А) і емульсоми, вкритої S-шаром (В) [84]



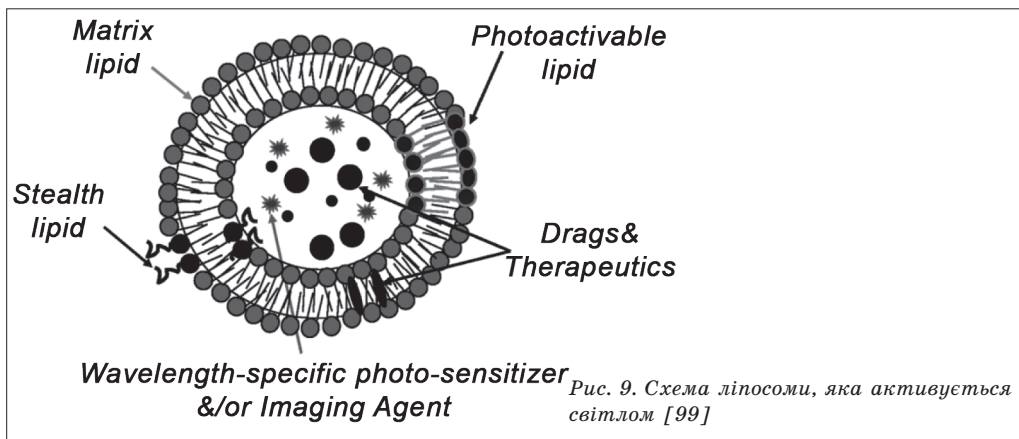


Рис. 9. Схема ліпосоми, яка активується світлом [99]

цитостатичного лікарського засобу, завантаженого в ліпосомах. До фотосенсибілізаторів, які застосовуються у фотодинамічній терапії, висувається низка вимог: високе значення екстинкції та квантового виходу синглетного кисню, зручний спектральний діапазон, високі флуоресцентні властивості, швидке виведення з організму. На жаль, сучасні фотосенсибілізатори, серед яких похідні порфірину, сульфоталокіанідів, хлоринів, мають низьку селективність накопичення в пухлинах порівняно зі здоровими тканинами, перебувають у шкірі до кількох місяців, а їхнє збудження викликається тим діапазоном світла, який поглинається тканинами (600–700 нм.) [93]. Включення фотосенсибілізаторів у ліпосоми дозволяє не тільки вводити в системний кровотік речовини з низькою розчинністю, але й поліпшує їхній фармакодинамічний профіль та дозволяє регулювати процес надходження препаратів у зони патології [94, 95]. Так, порфірини активніше накопичуються в пухлинах у разі застосування ліпосомальної форми, ніж за введення їхнього водного розчину [96], а вміст композиції, що складається з малих моноламельярних ліпосом, які містять фталоціанін германію з двома аксіально зв'язаними залишками холестерину, у тканині пухлин у 5 разів переважає його кількість у нормальних тканинах [97]. Барвник, введений у ліпосоми, може ізомеризувати або індукувати фотодеградацію компонентів мембрани, викликати порушення бішару ліпідів і вивільнення лікарського засобу [98].

Вивільнення активної речовини з ліпосом залежить від концентрації сенсибілізатора, плинності мембрани ліпосом, умісту в ній холестерину, характеру лазерного опромінення [99].

*Імуноліпосоми.* Ще один тип ліпосом – імуноліпосоми – вирізняється наявністю моноклональних антитіл, які забезпечують специфічну взаємодію ліпосом з антигенпозитивними клітинами та вивільнення препарату [101]. Їх поділяють на три типи. В імуноліпосомах типу А моноклональні антитіла ковалентно зв'язані з ліпосомами. Ліпосоми типу В, які зазвичай вкриті поліетиленгліколем, також мають ковалентно зв'язані моноклональні антитіла. Тип С – стерично стабілізовані ПЕГ ліпосоми, у яких моноклональні антитіла або їхні фрагменти кріпляться до термінального кінця поліетиленгліколю, що забезпечує активніше зв'язування з мішенями [102]. Ефективна взаємодія імуноліпосом і клітин-мішеней можлива, якщо мішені знаходяться в судинах або захищені порушеною судинною стінкою, як в осередках запалення або в разі васкулізації пухлин. За селективністю дії імуноліпосоми вважаються чи не найперспективнішою розробкою в галузі ліпосомології, але складність створення таких комплексів відтермінує їхнє широке застосування.

Деякі дослідники, крім перелічених, виділяють інші типи ліпосом, наприклад, гемосоми, які містять гемоглобін [103]. Гемосоми планують використовувати не тільки за умов ішемії, геморагічного шоку [104], але й для підвищення оксигенації тканин пухлин за радіотерапії [105].

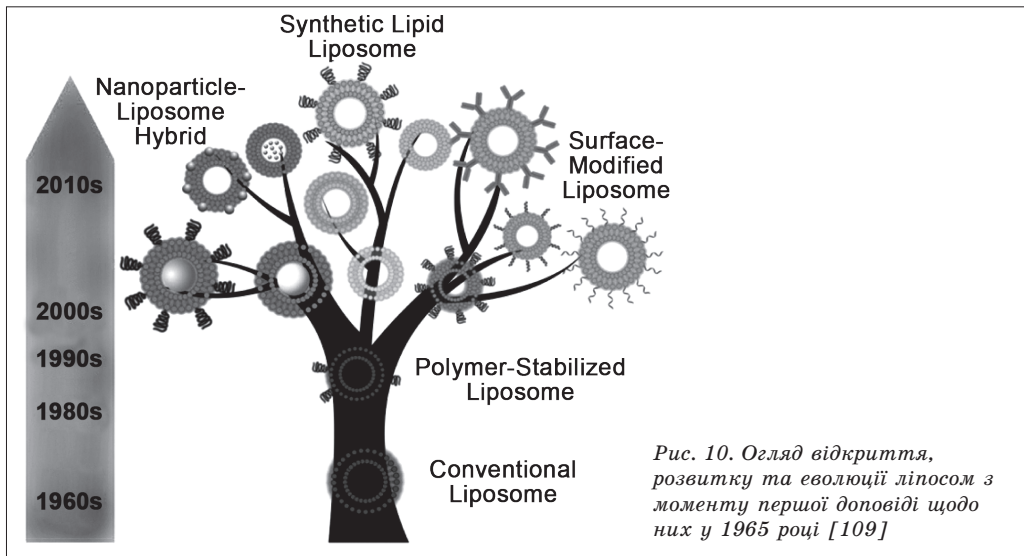


Рис. 10. Огляд відкриття, розвитку та еволюції ліпосом з моменту першої доповіді щодо них у 1965 році [109]

З розвитком ліпосомальних технологій кордони між цими, досить умовними, групами ліпосом стають розмитішими (рис. 10). Наприклад, раніше було доведено, що використання мультиламелярних ніосом дозволяє підвищити ефективність включення офтальмологічних лікарських засобів та лікування патологічних процесів не тільки порівняно з розчинами лікарських засобів, але й порівняно зі звичайними ніосомами [106]. Нещодавно було продемонстровано високу ефективність використання стелс-ліпосом для трансфекції малими інтерферуючими РНК у разі лікування онкологічних захворювань слизової оболонки [107]. Додавання С8-РЕГ2000-цераміду (Керамід-РЕГ2000) дозволило значно знизити ризик прояву цитотоксичності, пов'язаної з катіонним зарядом ліпоплексу. Трансферсоми, до

складу яких входить Твін 20, та фотосенсибілізатори фталоціанін цинку та нітрозильний комплекс рутенію (zinc phthalocyanine (ZnPc) and the nitrosyl ruthenium complex  $[Ru(NH.NHq)(tpy)NO]_3^+$  (RuNO)), розробляють для місцевого застосування в разі фотодинамічної терапії [108].

Таким чином, з часу першовідкриття можливості використання ліпосом значно розширилися. Тепер їх розглядають не тільки як модель мембрани клітини, але завдяки численним модифікаціям вони можуть виконувати роль окремого фармакологічного засобу або системи транспорту лікарських засобів, забезпечуючи контроль фармакокінетики, певні фармакодинамічні властивості, зниження токсичності за підвищення біодоступності та навіть можуть допомогти подолати обмеження традиційної терапії.

1. Стефанов А. В. Использование липосом в медицине / А. В. Стефанов // Молекулярная биология. – 1980. – № 2. – С. 23–30.
2. Zylberberg C. Pharmaceutical liposomal drug delivery: a review of new delivery systems and a look at the regulatory landscape / C. Zylberberg, S. Matosevic // Drug Delivery. – 2016. – № 23 (9). – P. 3319–3329.
3. Abu Lila A. S. Liposomal Delivery Systems: Design Optimization and Current Applications / A. S. Abu Lila, T. Ishida // Biological and Pharmaceutical Bulletin. – 2017. – № 40. – P. 1–10.
4. Liposome Technology: [in 3 vol.]. – New York – London: Informa, 2006 – 2007. [Ed. Gregoriadis G.]. – [3-ed edition]. – V. 3: Interactions of liposomes with the biological milieu. – 2007. – 464 p.
5. Liposome-based sensor for the detection of bacteria / M. Petaccia, C. Bombellib, F. P. Sterbini [et al.] // Sensors and Actuators B: Chemical. – 2017. – № 248. – P. 247–256.
6. Liposome: Method of Preparation, Advantages, Evaluation and its Application / B. Pradhan, N. Kumar, S. Saha, A. Roy // Journal of Applied Pharmaceutical Research. – 2015. – V. 3, Iss. 3. – [Електронний ресурс] / Режим доступу: <http://www.japtronline.com/index.php/JOAPR/article/view/54/50>.
7. Woese C. R. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya / C. R. Woese, O. Kandler, M. L. Wheelis // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 1990. – № 87 (12). – P. 4576–4579.

8. *Caforio A.* Archaeal phospholipids: Structural properties and biosynthesis // *A. Caforio, A. J. Driesen // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular and Cell Biology of Lipids.* – 2016. [Електронний ресурс] / Режим доступу: – <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1388198116303432> – doi: 10.1016/j.bbali.2016.12.006.
9. Liquid but Durable: Molecular Dynamics Simulations Explain the Unique Properties of Archaeal-Like Membranes / *A. O. Chugunov, P. E. Volynsky, N. A. Krylov [et al.] // Scientific Reports.* – 2014. – № 4. – P. 7462.
10. *Alavi M.* Application of Various Types of Liposomes in Drug Delivery Systems / *M. Alavi, N. Karimi, M. Safaei // Advanced Pharmaceutical Bulletin.* – 2017. – № 7 (1). – P. 3–9.
11. *Freisleben H.-J.* Archaeosomes and Tetraether Lipid Liposomes / *H.-J. Freisleben // Pharmaceutical Sciences and Research.* – 2012. – № 1. – P. 53–65.
12. Archaeosomes: an excellent carrier for drug and cell delivery / *G. Kaur, T. Garg, G. Rath, A. K. Goyal // Drug Delivery.* – 2016. – № 23 (7). – P. 2497–2512.
13. Folate-conjugated stealth archaeosomes for the targeted delivery of novel antitumoral peptides / *A. Jiblaoui, J. Barbeau, T. Vives [et al.] // RSC Advances.* – 2016. – № 6 (79). – P. 75234–75241.
14. Niosomes as Nanoparticulate Drug Carriers: Fundamentals and Recent Applications / *D. A. Selec, M. Selec, J. G. Walter [et al.] // Journal of Nanomaterials.* – 2016. – Article № 33. – 13 p. [Електронний ресурс] / Режим доступу: <http://downloads.hindawi.com/journals/jnm/2016/7372306.pdf>.
15. Further Evolution of Multifunctional Niosomes Based on Pluronic Surfactant: Dual Active Targeting and Drug Combination Properties / *L. Tavano, L. Mauro, G. D. Naimo [et al.] // Langmuir.* – 2016. – № 32 (35). – P. 8926–8933.
16. *Makeshwar K. B.* Niosome: a Novel Drug Delivery System / *Makeshwar K. B., Wasankar S. R. // Asian J. Pharm. Res.* – 2013. – V. 3, Iss. 1. – P. 16–20.
17. *Muzzalupo R.* Niosomal drug delivery for transdermal targeting: recent advances / *R. Muzzalupo, L. Tavano // Research and Reports in Transdermal Drug Delivery.* – 2015. – V. 4. – P. 23–33.
18. Biomimetic lipid-based nanosystems for enhanced dermal delivery of drugs and bioactive agents / *N. G. Kotla, B. Chandrasekar, P. Rooney [et al.] // ACS Biomaterials Science & Engineering.* – 2017. – [Електронний ресурс] / Режим доступу до документа: – [https://www.researchgate.net/profile/Niranjan\\_Kotla4/publication/313235258\\_Biomimetic\\_lipid-based\\_nanosystems\\_for\\_enhanced\\_dermal\\_delivery\\_of\\_drugs\\_and\\_bioactive\\_agents/links/58a59add4585150402d09ae4/Biomimetic-lipid-based-nanosystems-for-enhanced-dermal-delivery-of-drugs-and-bioactive-agents.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Niranjan_Kotla4/publication/313235258_Biomimetic_lipid-based_nanosystems_for_enhanced_dermal_delivery_of_drugs_and_bioactive_agents/links/58a59add4585150402d09ae4/Biomimetic-lipid-based-nanosystems-for-enhanced-dermal-delivery-of-drugs-and-bioactive-agents.pdf).
19. Comparison Between Effects of Free and Niosomal Formulations of *Artemisia annua* L. (*Asteraceae*) on Chronic Myelogenous Leukemia (K562) Cell Line / *B. Ilkhanizadeh, A. Mehrshad, A. Seddighnia, L. Zarei // International Journal of Pharmacology.* – 2017. – № 13. – P. 191–197.
20. *In-vivo* disposition characteristics of PEG niosome and its interaction with serum proteins / *T. Shehata, T. Kimura, K. Higaki, K. Ogawara // Int. J. Pharm.* – 2016. – № 512 (1). – P. 322–328.
21. *Moghassemi S.* Nano-niosomes as nanoscale drug delivery systems: An illustrated review / *S. Moghassemi, A. Hadjizadeh // Journal of Controlled Release.* – 2014. – № 185. – P. 22–36.
22. *Aggarwal D.* Ethosomes: A review / *D. Aggarwal, U. Nautiyal // International Journal of Pharmaceutical and Medicinal Research.* – 2016. – V. 4, Iss. 4. – P. 354–363.
23. *Rita B.* Ethosomes: A Novel Tool for Transdermal Drug Delivery System / *B. Rita // International Journal of Pharma Research & Review.* – 2016. – V. 5, Iss. 7. – P. 35–42.
24. *Akhtar N.* Ethosomes as vesicles for effective transdermal delivery: From bench to clinical implementation / *N. Akhtar, A. Varma, K. Pathak // Current Clinical Pharmacology.* – 2016. – V. 11, Iss. 3. – P. 168–190.
25. *Verma P.* Therapeutic and cosmeceutical potential of ethosomes: An overview / *P. Verma, K. Pathak // Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research.* – 2010. – V. 1, Iss. 3. – P. 274–282.
26. Ethosomes: A Novel Vesicular Carrier System For Therapeutic Applications / *A. Tiwari, K. Mishra, K. Nayak [et al.] // IOSR Journal Of Pharmacy.* – 2016. – V. 6, Iss. 9. – P. 25–33.
27. TLR4, Ethanol, and Lipid Rafts: A New Mechanism of Ethanol Action with Implications for other Receptor-Mediated Effects / *G. Szabo, A. Dolganiuc, Q. Dai, S. B. Pruetz // The Journal of Immunology.* – 2007. – № 178. – P. 1243–1249.
28. Ethosomal nanocarriers: the impact of constituents and formulation techniques on ethosomal properties, *in vivo* studies, and clinical trials / *I. M. Abdulbaqi, Y. Darwis, N. A. K. Khan [et al.] // International Journal of Nanomedicine.* – 2016. – № 11. – P. 2279–2304.
29. Transfersomes – a review / *D. Solanki, L. Kushwah, M. Motiwala, V. Chouhan // World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* – 2016. – V. 5, Iss. 10. – P. 435–449.
30. Transfersome: A Novel Technique Which Improves Transdermal Permeability / *A. Y. Pawar, K. R. Jadhav, L. H. Chaudhari [et al.] // Asian Journal of Pharmaceutics.* – 2016. – V. 4, Iss. 10. – P. S425–s436.
31. *Chaurasia S.* Transfersome: A Novel Technique Which Improves Transdermal Permeability / *S. Chaurasia, S. S. Dogra // European Journal of Pharmaceutical and Medical Research.* – 2017. – № 4, V. 3. – P. 192–203.
32. *Benson H. A.* Elastic Liposomes for Topical and Transdermal Drug Delivery / *H. A. Benson // Current Drug Delivery.* – 2009. – № 6. – P. 217–226.

33. Wachter C. U. Development of ultradeformable lipid vesicles comprising polyoxyethylene oleyl ether for targeted drug delivery across the skin / C. U. Wachter, Germany: Halle. – 2008. – [Електронний ресурс] / Режим доступу до документа: – <https://sundoc.bibliothek.uni-halle.de/diss-online/08/08H318/prom.pdf>.
34. Lipase-Sensitive Transfersomes Based on Photosensitizer/Polymerizable Lipid Conjugate for Selective Antimicrobial Photodynamic Therapy of Acne / H. Park, J. Lee, S. Jeong [et al.] // *Adv. Healthcare Mater.* – 2016. – № 5. – P. 3139 – 3147.
35. Transfersomes – a review / D. Solanki, L. Kushwah, M. Motiwale, V. Chouhan // *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* – 2016. – V. 5, Iss. 10. – P. 435–449.
36. Formulation and Evaluation of Mefenamic Acid Loaded Transfersome for Topical Delivery / M. P. Eldhose, F. Mathew, N. J. Mathew [et al.] // *International Journal of Universal Pharmacy and Bio Sciences.* – 2016. – № 5, V. 4. – P. 214–223.
37. Ethosomes and ultradeformable liposomes for transdermal delivery of clotrimazole: A comparative assessment / R. G. S. Maheshwari, R. K. Tekade, P. A. Sharma // *Saudi Pharmaceutical Journal.* – 2012. – V. 20, Iss. 2. – P. 161–170.
38. Shaji J. Transethosomes and ethosomes for enhanced transdermal delivery of ketorolac tromethamine: a comparative assessment / J. Shaji, S. Garude // *International Journal of Current Pharmaceutical Research.* – 2014. – V. 6, Iss. 4. – P. 88–93.
39. Ethanol Based Vesicular Carriers in Transdermal Drug Delivery: Nanoethosomes and Transethosomes in Focus / L. Kumar, S. Verma, K. Singh [et al.] // *NanoWorld Journal.* – 2016. – V. 2, Iss. 3. – P. 41–51.
40. Sudhakar C. K. A Comparison Study of Liposomes, Transfersomes and Ethosomes Bearing Lamivudine / C. K. Sudhakar, S. Jain, R. N. Charyulu // *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research.* – 2016. – V. 7, Iss. 10. – P. 4214–4221.
41. Waghmare S. Novasome: Advance in Liposome and Niosome / S. Waghmare, A. Patil, P. Patil // *The Pharma Innovation Journal.* – 2016. – № 5. – P. 34–38.
42. Singh A. Novasome-A Breakthrough in Pharmaceutical Technology a Review Article / A. Singh, R. Malviya, P. K. Sharma // *Advances in Biological Research.* – 2011. – № 5, V. 4. – P. 184–189.
43. Agarwal S. Advances in novasome technology / S. Agarwal, K. Kumari // *International Journal of Applied Pharmaceutics.* – 2013. – V. 5, Iss. 1. – P. 1–4.
44. Formation of virosomes from influenza subunits and liposomes / J. D. Almeida, D. C. Edwards, C. M. T. D. Brand, Heath // *Lancet.* – 1975. – № 2. – P. 899–901.
45. Current and next generation influenza vaccines: Formulation and production strategies / P. C. Soema, R. Kompier, J.-P. Amorij, G. F. A. Kersten // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.* – 2015. – V. 94. – P. 251–263.
46. Virosome-mediated delivery of protein antigens *in vivo*: efficient induction of class I MHC-restricted cytotoxic T lymphocyte activity / L. Bungener, A. Huckriede, A. de Mare // *Vaccine.* – 2005. – № 23. – P. 1232–1241.
47. Virosome-mediated delivery of protein antigens to dendritic cells / L. Bungener, K. Serre, L. Bijl // *Vaccine.* – 2002. – № 20. – P. 2287–2295.
48. Lipopeptide-adjuvanted respiratory syncytial virus virosomes: A safe and immunogenic non-replicating vaccine formulation / T. Stegmann, T. Kamphuis, T. Meijerhof [et al.] // *Vaccine.* – 2010. – № 28. – P. 5543–5550.
49. Virosomes: a novel vaccination technology / P. Rathore, G. Swami // *International Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research.* – 2012. – № 8. – P. 3591–3597.
50. Immunopotentiating reconstituted influenza virus virosome vaccine delivery system for immunization against hepatitis / R. Gluck, R. Mischler, S. Brantschen [et al.] // *Journal of Clinical Investigation.* – 1992. – № 90. – P. 2491–2495.
51. Allison A. G. Liposomes as immunological adjuvants / A. G. Allison, G. Gregoriadis // *Nature.* – 1974. – № 252. – P. 5480.
52. Role of Lipid Excipients in Modifying Oral and Parenteral Drug Delivery: Basic Principles and Biological Examples / ed. K. M. Wasan. – Wiley-Interscience: 2007. – 205 p.
53. Давидова Т. В. Нові підходи до створення ліпосомальних вірусних вакцин / Т. В. Давидова, А. Ю. Волянський // *Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень.* – 2014. – № 2, Т. 4. – С. 391–404.
54. Mucosal Vaccine Development Based on Liposome Technology / V. Bernasconi, K. Norling, M. Bally [et al.] // *Journal of Immunology Research.* – 2016. – V. 2016. [Електронний ресурс] / Режим доступу до документа: – <file:///C:/Documents%20and%20Settings/Nataly/%D0%9C%D0%BE%D0%B8%20%D0%B4%D0%BE%D0%BA%D1%83%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D1%82%D1%8B/Downloads/5482087.pdf>.
55. Gowtham M. «Virosomes» a novel strategy for delivery of drugs and targeting: an overview / M. Gowtham, M. Pulak, K. K. Krishnakumar // *Journal of Pharmaceutical & Scientific Innovation.* – 2012. – V. 1 Iss. 5. – P. 31–35.
56. Kalam M. A. Non-invasive administration of biodegradable nano-carrier vaccines / M. A. Kalam, A. A. Khan, A. Alshamsan // *American Journal of Translational Research.* – 2017. – № 9. – P. 15–35.



57. Nanotechnology Based Virosomal Drug Delivery Systems / K. N. Basavaraj, F. I. Nagi, N. C. Ramchandra [et al.] // *Journal of Nanotechnology and Materials Science*. – 2014. – № 1. – P. 1–9.
58. Pulmonary Delivery of Virosome-Bound Antigen Enhances Antigen-Specific CD4+ T Cell Proliferation Compared to Liposome-Bound or Soluble Antigen / R. A. M. Blom, M. Amacker, R. M. van Dijk [et al.] // *Frontier in Immunology*. – 2017. – № 8. – P. 359.
59. Sendai Virosomes Revisited: Reconstitution with Exogenous Lipids Leads to Potent Vehicles for Gene Transfer / E. Ponimaskin, K. K. H. Bareesel, K. Markgraf [et al.] // *Virology*. – 2000. – № 269. – P. 391–403.
60. Efficient Cellular Knockdown Mediated by siRNA Nanovectors of Gemini Cationic Lipids Having Delocalizable Headgroups and Oligo-Oxyethylene Spacers / M. Martínez-Negro, K. Kumar, A. L. Barrán-Berdón [et al.] // *ACS Applied Materials & Interfaces*. – 2016. – № 8 (34). – P. 22113–22126.
61. *Lasic D. D.* Liposomes in gene delivery / D. D. Lasic. – USA, Boca Raton: CRC Press. – 1997. – 320 p.
62. *Shokri M.* Effect of Lipoplex Charge Ratio on Transfection Efficiency / M. Shokri, M. Tavallaie, S. M. Hosseini // *Osteosarcoma Cells. SOJ Pharm Pharm Sci*. – 2016. – № 3 (3). – P. 1–4.
63. Efficient and non-toxic gene delivery by anionic lipoplexes based on polypropyl ammonium salts and their effects on cell physiology / M. Rak, A. Ochafek, E. Bielecka [et al.] // *The Journal of Gene Medicine*. – 2016. – V. 18, Iss. 11–12. – P. 331–342.
64. Non-viral strategies for ocular gene delivery / A. V. Oliveiraa, A. M. Rosa da Costab, G. A. Silva // *Materials Science and Engineering*. – 2017. – № 77. – P. 1275–1289.
65. Advances in Non-Viral DNA Vectors for Gene Therapy / C. L. Hardee, L. M. Arévalo-Soliz, B. D. Hornstein, L. Zechiedrich // *Genes*. – 2017. – № 8. – P. 65.
66. *LaManna C. M.* Synthesis, Characterization, and Evaluation of Photo-active Amphiphiles for Gene Delivery Applications / C. M. LaManna // USA, Boston: Boston University. – 2013. – 432 p.
67. *Fukushige K.* The offset effect of a hyaluronic acid coating to cationic carriers containing siRNA: Alleviated cytotoxicity and retained gene silencing *in vitro* / K. Fukushige, T. Tagami, T. Ozeki // *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. – 2017. – V. 39. – P. 435–441.
68. *In vitro* and *ex vivo* delivery of tailored siRNA-nanoliposomes for E2F1 silencing as a potential therapy for colorectal cancer / S. Bochicchioa, B. Dapasc, I. Russo [et al.] // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2017. – V. 525, Iss. 2. – P. 377–387.
69. *Balazs D. A.* Liposomes for Use in Gene Delivery / D. A. Balazs, W. T. Godbey // *Journal of Drug Delivery*. – 2011. – V. 2011. [Електронний ресурс] / Режим доступу до документа: – <http://downloads.hindawi.com/journals/jdd/2011/326497.pdf>.
70. *Shokri M.* Comparison of Unilamellar and Multilamellar Lipoplexes in Terms of Transfection Efficiency of Human Embryonic Kidney Cells / M. Shokri, M. Tavallaie, S. M. Hosseini // *Journal of Nanotechnology and Materials Science*. – 2016. – № 3 (2). – P. 1–4.
71. Structure of DNA-Cationic Liposome Complexes: DNA Intercalation in Multilamellar Membranes in Distinct Interhelical Packing Regimes / J. O. Rädler, I. Koltover, T. Salditt, C. R. Safinya // *Science*. – 1997. – V. 275, Iss. 5301. – P. 810–814.
72. *Velghe T.* Characterizing the Complexation of Plasmid DNA with lipid-based non-viral Drug Delivery Carriers Using Single Particle Tracing / T. Velghe. Ghent University. – 2016. – 50 p. [Електронний ресурс] / Режим доступу до документа: [http://lib.ugent.be/fulltxt/RUG01/002/275/230/RUG01-002275230\\_2016\\_0001\\_AC.pdf](http://lib.ugent.be/fulltxt/RUG01/002/275/230/RUG01-002275230_2016_0001_AC.pdf).
73. Charge-Reversal Lipids, Peptide-Based Lipids, and Nucleoside-Based Lipids for Gene Delivery / C. M. LaManna, H. Lusic, M. Camplo [et al.] // *Accounts of Chemical Research*. – 2012. – V. 45, Iss. 7. – P. 1026–1038.
74. Nonviral gene delivery: techniques and implications for molecular medicine *Expert Rev* / A. L. Parker, C. Newman, S. Briggs [et al.] // *Mol Med*. – 2003. – V. 5 (22). – P. 1–15.
75. *Huang L.* Stealth Liposomes, Ninja Liposomes, Or Cryptosomes: Are They Really Sterically Stabilized Liposomes? / L. Huang // *Journal of Liposome Research*. – 1992. – V. 2, Iss. 3. – P. 451–454.
76. Interaction between PEG lipid and DSPE/DSPC phospholipids: An insight of PEGylation degree and kinetics of de-PEGylation / D. Paolinoa, M. L. Accollac, F. Cilurzo [et al.] // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2017. – V. 155. – P. 266–275.
77. Recent advances in various emerging vesicular systems: An overview / M. Gangwar, R. Singh, R. K. Goel, G. Nath // *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. – 2012. – № 8. – P. S1176–S1188.
78. *Owens D. E.* Opsonization, biodistribution, and pharmacokinetics of polymeric nanoparticles / D. E. Owens, N. A. Peppas // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2006. – № 307. – P. 93–102.
79. Vesicular systems: An overview / S. S. Biju, S. Talegaonkar, P. R. Mishra, R. K. Khar // *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2006. – V. 68 (2). – P. 141–153.
80. *Kumar R.* Emulsomes: an Emerging Vesicular Drug Delivery System / R. Kumar, N. Seth, S. L. H. Kumar // *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*. – 2013. – № 3 (6). – P. 133–142.
81. Nanodrug formulations to enhance HIV drug exposure in lymphoid tissues and cells: clinical significance and potential impact on treatment and eradication of HIV/AIDS / J. Shao, J. C. Kraft, B. Li [et al.] // *Nanomedicine (Lond)*. – 2016. – № 11 (5). – P. 545–564.
82. *Çağdaş M.* Liposomes as Potential Drug Carrier Systems for Drug Delivery / M. Çağdaş, A. D. Sezer, S. Bucak // *Application of Nanotechnology in Drug Delivery*. – Publisher: InTech, 2014. – 50 p.



83. Zhou X. Preparation and performance evaluation of emulsomes as a drug delivery system for silybin / X. Zhou, Z. Chen // Archives Pharmacal Research. – 2015. – № 38 (12). – P. 2193–2200.
84. Ucisik M. H. Emulsomes Meet S-layer Proteins: An Emerging Targeted Drug Delivery System / M. H. Ucisik, U. B. Sleytr, B. Schuster // Current Pharmaceutical Biotechnology. – 2015. – V. 16. – P. 392–405.
85. Mishra M. K. Liposomes: clinical aspect and challenges / M. K. Mishra, T. Kumar Singh, P. Tiwari // Advanced Journal of Pharmacie and Life science Research. – 2016. – № 4. – P. 41–52.
86. Crosslinked Multilamellar Liposomes for Controlled Delivery of Anticancer Drugs / K.-I. Joa, L. Xiaoa, S. Liu [et al.] // Biomaterials. – 2013. – № 34 (12). – P. 3098–3109.
87. Co-delivery of carboplatin and paclitaxel via cross-linked multilamellar liposomes for ovarian cancer treatment / X. Zhang, Y. Liu Y. J. Kim [et al.] // RSC Advances. – 2017. – № 7. – P. 19685–19693.
88. Co-Eradication of Breast Cancer Cells and Cancer Stem Cells by Cross-Linked Multilamellar Liposomes Enhances Tumor Treatment / Y. J. Kim, Y. Liu, S. Li [et al.] // Molecular Pharmacology. – 2015. – № 12 (8). – P. 2811–2822.
89. Codelivery of Chemotherapeutics via Crosslinked Multilamellar Liposomal Vesicles to Overcome Multidrug Resistance in Tumor / Y. Liu, J. Fang, K. Joo [et al.] // PLoS One. – 2014. – № 9 (10). – P. e110611.
90. Interbilayer-crosslinked multilamellar vesicles as synthetic vaccines for potent humoral and cellular immune responses / J. J. Moon, H. Suh, A. Bershteyn [et al.] // Nature Materials. – 2011. – № 10. – P. 243–251.
91. Light-regulated permeability of rhodopsin:eggphosphatidylcholine recombinant membranes / D. F. O'Brien, N. Zumbulyadis, F. M. Michaels, R. A. Ott // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1977. – № 74. – P. 5222–5226.
92. Pidgeon C. Photosomes: light sensitive liposomes / C. Pidgeon. – Thesis/dissertation Ph. D. University of California, USA: San Francisco 1982. – 374 p.
93. Oncologic Photodynamic Therapy: Basic Principles, Current Clinical Status and Future Directions / D. van Straten, V. Mashayekhi, H. S. de Bruijn [et al.] // Cancers. – 2017. – № 9. – pii: E19. [Електронний ресурс] / Режим доступу до документа: file:///C:/Documents%20and%20Settings/Nataly/%D0%9C%D0%BE%D0%B8%20%D0%B4%D0%BE%D0%BA%D1%83%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D1%82%D1%8B/Downloads/cancers-09-00019.pdf.
94. Current trends in the use of liposomes for tumor targeting / P. P. Deshpande, S. Biswas, V. P. Torchilin [et al.] // Nanomedicine. 2013. – № 8 (9). – P. 1509–1528.
95. Lipid nanoemulsions and liposomes improve photodynamic treatment efficacy and tolerance in CAL-33 tumor bearing nude mice / D. Hinger, S. Gräfe, F. Navarro [et al.] // J. Nanobiotechnology. – 2016. – № 14. – P. 71.
96. Controlled targeting of different subcellular sites by porphyrins in tumour-bearing mice / G. Joril, E. Reddil, I. Cozzani, L. Tomiol // British Journal of Cancer. – 1986. – № 53. – P. 615–621.
97. CGP 55398, a liposomal Ge(IV) phthalocyanine bearing two axially ligated cholesterol moieties: a new potential agent for photodynamic therapy of tumours / A. Segallal, C. Milanese, G. Joril [et al.] // Br. J. Cancer. – 1994. – № 69. – P. 817–825.
98. Miranda D. Mechanisms of light-induced liposome permeabilization / D. Miranda, J. F. Lovell // Bioengineering & Translational Medicine. – 2016. – № 1. – P. 267–276.
99. Leung S. J. Light-Activated Content Release from Liposomes / S. J. Leung, M. Romanowski // Theranostics. – 2012. – № 2 (10). – P. 1020–1036.
100. Puri A. Phototriggerable Liposomes: Current Research and Future Perspectives / A. Puri // Pharmaceutics. – 2014. – V. 6 (1). – P. 1–25.
101. Paszko E. Immunoliposomes / E. Paszko, M. O. Senge // Curr Med Chem. – 2012. – № 19 (31). – P. 5239–5277.
102. Non-viral Gene Therapy: Gene Design and Delivery / Ed. by Kazunari T., Kazunori K., Takuro N. – Japan: Tokyo, Springer-Verlag. – 2005. – 487 p. – P. 19–34.
103. Development of Hemosomal Drug Delivery System / N. F. Idris, Y. R. Hundekar, R. N. Chilkawar [et al.] // Austin Journal of Analytical and Pharmaceutical Chemistry. 2014. – № 1 (3). – P. 1011. [Електронний ресурс] / Режим доступу до документа: <http://austinpublishinggroup.com/analytical-pharmaceutical-chemistry/fulltext/download.php?file=ajapc-v1-id1011.pdf>.
104. Nanovesicular liposome-encapsulated hemoglobin (LEH) prevents multi-organ injuries in a rat model of hemorrhagic shock / V. R. Yadava, G. Rao, H. Houson [et al.] // European Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2016. – V. 93. – P. 97–106.
105. Liposome-Encapsulated Hemoglobin Improves Tumor Oxygenation as Detected by Near-Infrared Spectroscopy in Colon Carcinoma in Mice / F. Kawaguchi, A. T. Kawaguchi, C. Murayama [et al.] // Artificial Organs. – 2017. – № 41. – P. 327–335.
106. Preparation and evaluation of reverse-phase evaporation and multilamellar niosomes as ophthalmic carriers of acetazolamide / A. S. Guinedi, N. D. Mortada, S. Mansour, R. M. Hathout // International Journal of Pharmaceutics. – 2005. – V. 306, Iss. 1–2. – P. 71–82.
107. PEGylation of lipoplexes: The right balance between cytotoxicity and siRNA effectiveness / A. Lechanteura, T. Fursta, B. Evrard [et al.] // European Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2016. – V. 93. – P. 493–503.

108. Ultradeformable liposome loaded with zinc phthalocyanine and  $[Ru(NH.NHq)(tpy)NO]_3^+$  for photodynamic therapy by topical application / R. G. de Lima, A. C. Tedesco, R. S. da Silva, M. J. Lawrence // Photodiagnosis and Photodynamic Therapy. – 2017. – [Електронний ресурс] / Режим доступу до документа: <http://sci-hub.bz/10.1016/j.pdpdt.2017.05.013>.
109. Xing H. Recent Developments of Liposomes as Nanocarriers for Theranostic Applications / H. Xing, K. Hwang, Y. Lu // Theranostics. – 2016. – № 6 (9). – P. 1336–1352.

**Н. В. Добреля, Н. С. Гула, О. В. Богатирьова, О. С. Хромов**  
**Ліпосоми: не тільки «ліпо-»**

Ліпосоми являють собою замкнуті сфери, утворені одним або декількома бішарами ліпідів, у середині яких знаходиться простір, найчастіше заповнений водним розчином. Конвенціональні ліпосоми складаються з фосфоліпідів та холестерину. Для підвищення їхньої хімічної та фізичної стабільності, стандартизації розмірів та збільшення часу знаходження в крові модифікують склад та поверхню ліпосом. У представленій роботі проаналізовано дані літератури щодо модифікацій складу ліпосом та їхньої поверхні, а також можливості застосування різних типів нановезикул у фармакології.

Хімічно та фізично стабільні археосоми характеризуються наявністю ліпідів, які мають прості ефірні зв'язки, що були виявлені в клітинних мембранах архей, окремого домену живих організмів. Ніосоми – ліпосоми, побудовані з молекул неіоногенних поверхнево-активних речовин з можливим додаванням холестерину та індукцією заряду на поверхні, хімічно стабільніші за конвенціональні ліпосоми. Етасоми містять спирти (етиловий або ізопропіловий) та використовуються, у першу чергу, для трансдермальної доставки препаратів. Трансферсоми вирізняються підвищеною гнучкістю, що зумовлена наявністю ліпідних супрамолекулярних комплексів з фосфоліпідів та ПАВ та забезпечує неінвазивну доставку препарату в/через глибокі шари шкіри або слизові оболонки до системного кровообігу. Новосоми – ліпосоми, що мають 2–7 бішарів, які складаються з поліоксіетилену моноефіру жирних кислот, холестерину та вільних жирних кислот, що забезпечує підвищену стабільність та можливість включати різні, навіть взаємодіючі між собою, препарати в одну композицію. Віросоми – це комплекси, до складу яких входять ліпіди та фузогенні білки оболонки вірусу. Ліпосоми, які використовуються для перенесення генетичного матеріалу, отримали загальну назву геносоми або ліпоплекси. Створення криптосом або стелс-ліпосом також викликано необхідністю забезпечити високу стабільність доставки лікарських засобів до клітин-мішеней і захисту від фагоцитів і білків плазми за рахунок поллоксамерів. Внутрішня частина емульсії є жировою субстанцією, оточеною одним або кількома подвійними шарами фосфоліпідів. Везисоми – оліговезикулярні ліпосоми, що можуть забезпечити транспорт декількох лікарських засобів та послідовне або паралельне їхнє вивільнення. Фотосоми містять фотосенсибілізатори, що фототригерно активуються та запускають реакції між активними формами кисню та клітинними мішенями. Імуноліпосоми характеризуються наявністю моноклональних антитіл, які забезпечують специфічну взаємодію ліпосом з антигенпозитивними клітинами та вивільнення препарату.

Таким чином, завдяки численним модифікаціям, ліпосоми можуть виконувати роль окремого фармакологічного засобу або системи транспорту, забезпечуючи контроль фармакокінетики, задані фармакодинамічні властивості та зниження токсичності за підвищення біодоступності. Сукупність цих властивостей, характерних для ліпосом нових генерацій, дозволяє подолати обмеження традиційної терапії.

*Ключові слова: ліпосоми, ліпосомальні препарати*

**Н. В. Добреля, Н. С. Гула, Е. В. Богатырева, А. С. Хромов**  
**Липосомы: не только «липо-»**

Липосомы представляют собой замкнутые сферы, образованные одним или несколькими биослоями липидов, внутри которых находится заполненное водным раствором пространство. Конвенциональные липосомы состоят из фосфолипидов и холестерина. Для повышения их химической и физической стабильности, стандартизации размеров и увеличения времени нахождения в крови модифицируют состав и поверхность липосом. В работе проанализированы данные о современных достижениях в конструировании липосом, а также возможности применения различных типов нановезикул в фармакологии.

Химически и физически стабильные археосоми характеризуются наличием липидов, содержащих простые эфирные связи, которые были обнаружены в клеточных мембранах архей, отдельного домена живых организмов. Ниосоми – липосомы, состоящие из молекул неіоногенных поверхностно-активных веществ с возможным добавлением холестерина и индукцией заряда на поверхности, химически более стабильны, чем конвенциональные липосомы. Этасоми содержат спирты (этиловый или изопропиловый) и используются, в первую очередь, для трансдермальной доставки препаратов. Трансферсоми отличаются повышенной гибкостью, что обусловлено наличием липидных супрамолекулярных комплексов из фосфолипидов и ПАВ, и обеспечивают неинвазивную доставку препарата в/через глубокие слои кожи или слизистые оболочки в системный кровоток. Новосоми – липосомы, имеющие 2–7 бислоев, состоящих из полиоксиэтилена моноэфира жирных

---

---

кислот, холестерина и свободных жирных кислот, что обеспечивает повышенную стабильность и возможность включать разные, даже взаимодействующие между собой, препараты в одну композицию. Виросомы представляют собой комплексы, в состав которых входят липиды и фузогенные белки оболочки вируса. Липосомы, которые используются для переноса генетического материала, получили общее название геносомы или липоплексы. Создание криптосом, или стелс-липосом, также вызвано необходимостью обеспечить высокую стабильность доставки лекарственных средств к клеткам-мишеням и защиту от фагоцитов и белков плазмы за счет полоксамеров. Внутренняя часть эмульсом представляет собой жировую субстанцию, окруженную одним или несколькими двойными слоями фосфолипидов. Везисомы – олиговезикулярные липосомы, которые могут обеспечить транспорт нескольких лекарственных средств и последовательное или параллельное их высвобождение. Фотосомы содержат фотосенсибилизаторы, которые фототриггерно активируются и запускают реакции между активными формами кислорода и клеточными мишенями. Иммунолипосомы характеризуются наличием моноклональных антител, обеспечивающих специфическое взаимодействие липосом с антигенположительными клетками и высвобождение препарата.

Таким образом, благодаря многочисленным модификациям, липосомы могут выполнять функции самостоятельного фармакологического средства или системы транспорта, что обеспечивает контроль фармакокинетики, заданные фармакодинамические эффекты и снижение токсичности при повышении биодоступности. Совокупность этих свойств, присущих липосомам новых генераций, позволяет преодолеть ограничения традиционной терапии.

*Ключевые слова: липосомы, липосомальные препараты*

**N. V. Dobrelia, N. S. Hula, O. V. Bohatureva, O. S. Khromov**  
**Liposomes: is not only «lipo-»**

Liposomes are posed as closed vesicles, formed by single or multiple lipid bilayers that involve the space inside filled with water solution. Conventional liposomes are made up of phospholipids and cholesterol. With the aim to increase their chemical and physical stability, to standardize sizes and to prolong the time of presence in blood, their composition and surface are usually being modified. In the present review, the literature data about modification of liposome constitution and surface analyzed as well as the possibilities of application of different nanovesicles in pharmacology have been considered. Physically and chemically stable archeosomes are characterized by lipids with the single ether bonds, that were detected in the archaea cell membranes, the distinct domen of living organisms. Niosomes are the type of liposomes being chemically more stable compared to the conventional liposomes, and consisting of nonionic surfactants with possible application of cholesterol and charge induction on its surface. Ethosomes contain ethyl or isopropyl alcohols, and they are primary used as a transdermal drug delivery system. Transfersomes are distinguished by increased flexibility due to the presence of lipid supramolecular complexes with phospholipids and surfactants, and they provide a non-invasive delivery of the drug into/through deep layers of the skin or mucous membranes to systemic circulation. Novasomes are the type of liposomes with 2–7 bilayers and consist of polyoxyethylene monoether of fatty acids, cholesterol and free fatty acids that provides extra stability and a possibility of administering different drugs, which even can intercourse with each other in a single composition. Virosomes are complexes with lipids and fusogenic proteins of viral membrane in their structure. Liposomes used to transport the genetic material are named as genosomes or lipoplexes. Also, the need of ensuring a high degree of drugs delivery to the targeting cells and protection against phagocytes and plasma proteins evoked the creation of cryptosomes or stealth liposomes. The inside part of the emulsome is a fatty substance covered by one or more bilayers of phospholipids. Vesisomes are oligovesicular liposomes that can provide the transport of several drugs with gradual or parallel releasing. Photosomes contain photosensibilizers that can be activated phototriegerly and in this way initiate the reactions between reactive oxygen species and target cells. Immunoliposomes are characterized by presence of monoclonal antibodies that provide a specific interaction between liposomes and antigen-positive cells and drug releasing.

As a result, liposomes due to numerous modifications can function as a separate pharmacological agent or as a transport system and provide control of pharmacokinetics, specified pharmacological properties and decrease in toxicity under enlargement of bioavailability. Owing to all these characteristics, liposomes of new generations can afford to overcome the traditional therapy limitations.

*Key words: liposomes, liposomal drugs*

*Надійшла: 10 травня 2017 р.*

---

**Контактна особа:** Добреля Наталія Володимирівна, науковий співробітник,  
ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Е. Потьє, м. Київ, 03057.  
Тел.: + 38 0 44 456 02 88. Електронна пошта: ndobrelia@gmail.com

Д. М. Дудікова<sup>1</sup>, С. І. Войчук<sup>2</sup>, Н. О. Вринчану<sup>1</sup>

## **Особливості ультраструктури *Staphylococcus aureus* за дії 4-(1-адамантил) фенокси-3-(N-бензил, N-метил, N-циклогексил)- 2-пропанол хлориду**

<sup>1</sup>Державна установа «Інститут фармакології та токсикології  
Національної академії медичних наук України», м. Київ

<sup>2</sup>Інститут мікробіології та вірусології імені Д. К. Заболотного  
Національної академії наук України, м. Київ

*Ключові слова:* похідні адамантану,  
механізм дії, ультраструктура,  
*Staphylococcus aureus*

Антимікробні речовини, контактуючи з клітинами бактерій або грибів, здатні порушувати функції мікробної клітини, впливаючи на внутрішньоклітинні процеси або структурну організацію мембранного апарату. Механізми специфічної дії антимікробних препаратів обумовлюють бактерицидний або бактеріостатичний ефект. Так, дія препаратів з бактерицидним ефектом (пеніциліни, цефалоспорины, карбапенеми, монобактами та ін.) пов'язана з впливом на клітинну стінку або цитоплазматичну мембрану, бактеріостатичний ефект зареєстровано в лікарських засобів, які впливають на синтез білка та нуклеїнові кислоти (макроліди, тетрацикліни, лінкозаміди та ін.) [1].

Одним з методів виявлення порушень у мікробній клітині є електронна мікроскопія, яка дає змогу виявити мішені дії сполук та препаратів, а саме їхній вплив на структуру зовнішньої оболонки, апарат поділу, наявність мембранотропної активності тощо.

Препарати, які порушують цілісність клітинної мембрани, зокрема, орітаванцин та даптоміцин, викликають структурні зміни клітинної оболонки, порушують процеси поділу, знижують мембранний потенціал і сприяють збільшенню проникності мембрани мікроорганізмів [2].

Мембранотропну дію здатні проявляти й похідні адамантану. У досліджен-

нях [3] встановлено, що сполука 4-(адамантил-1)-(1-амінобутил)бензол порушує ультраструктуру бактерій та грибів, при її дії рееструється альтерація клітинної оболонки з пошкодженням процесів клітинного ділення, зростання поліморфізму та зменшення життєздатності клітинної популяції. У зовнішній мембрані бактерій спостерігається підвищення вмісту ліпополісахаридів зі зміненим моносахаридним і жирнокислотним складом.

У скринінгових дослідженнях нами була виділена адамантанвмісна сполука 4-(1-адамантил)фенокси-3-(N-бензил, N-метил, N-циклогексил)-2-пропанол хлорид (шифр ЮК-23) з виразними антистафілококовими властивостями. Сполука синтезована в Інституті органічної хімії НАН України кандидатом фармацевтичних наук Ю. В. Коротким. Для з'ясування механізму антибактеріальної активності, мішені дії сполуки було доцільно провести електронно-мікроскопічні дослідження.

*Мета дослідження* – встановити зміни ультраструктури *Staphylococcus aureus* за дії похідного алкоксиаміно-1-адамантанфенолу.

*Матеріали та методи.* Вплив похідного алкоксиаміно-1-адамантанфенолу на структурну організацію мікроорганізмів досліджували відносно грампозитивних бактерій *S. aureus* ATCC 25923. Мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК) визначали методом серійних макророзведень у рідкому поживному середовищі за загальноприйнятою методикою [4]. Щільність інокуляту складала 10<sup>6</sup> КУО/мл поживного середовища.

Для визначення змін ультраструктури бактерій за умови впливу похідного алкоксіаміно-1-адамтанфенолу використовували метод трансмісійної електронної мікроскопії. Тест-об'єктами в дослідженні були мікроорганізми, що знаходились у експоненціальній фазі росту. Бактеріальні клітини інкубували впродовж 1 год та 24 год у середовищі, що містило сполуку в концентрації 2,0 МІК.

Після закінчення терміну інкубації клітини відмивали 0,9 % розчином натрію хлориду та здійснювали фіксацію сумішшю 2,5 % глутарового альдегіду та 4,0 % розчину формальдегіду, додатково фіксували 1,0 % розчином тетроксиду осмію на фосфатному буфері (рН 7,4), зневоднювали в зростаючих концентраціях ацетону та полімеризували в смолі Ероне 812 [5]. Ультратонкі зрізи отримували, використовуючи ультрамікроскоп LKB-8800, їх контрастували розчинами уранілу ацетату та цитрату свинцю [6, 7].

Зрізи аналізували за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа JEM-1400 (Jeol, Японія) при напрузі 80 кВ.

**Результати та їх обговорення.** Отримані дані свідчать, що сполука ЮК-23 має виражену антибактеріальну активність відносно *S. aureus*, МІК становить 0,62 мг/мл.

Для вивчення впливу сполуки на ультраструктуру *S. aureus* був проведений аналіз змін морфології клітин, які піддавались дії ЮК-23 у бактерицидній

концентрації 2,0 МІК порівняно з інтактними клітинами (контроль).

Проведені електронно-мікроскопічні дослідження показали, що інтактні клітини *S. aureus* (контроль) мали типову ультраструктурну організацію: клітини оточені клітинною стінкою, однакові за розміром та округлої форми (рис. 1, А).

Спостерігали двошарову клітинну стінку з зовнішнім шаром з високою електронною щільністю та внутрішнім шаром – з низькою щільністю (рис. 1, Б). Позаклітинний екзополісахаридний шар – не розвинений, зовнішня поверхня клітин мала гладку топографію. Цитоплазматична мембрана в основному не мала інвагінацій та щільно прилягала до цитоплазми, а тому не виділялася в окрему структуру на ультратонких зрізах. Цитоплазма мала високу електронну щільність і відносну гомогенність. Дещо вищою була електронна щільність і нуклеоїду (порівняно з іншими компонентами цитоплазми), однак він не мав вираженого розташування та зливався з компонентами цитоплазми. Останнє може свідчити про високу білоксинтетичну активність у клітинах бактерій.

За дії сполуки ЮК-23 у бактерицидній концентрації на клітини *S. aureus* (рис. 2, А) вже через 1 год впливу реєстрували порушення структурної організації цитоплазматичної мембрани клітин і внутрішньоклітинних процесів, які посилювались зі збільшенням часу експозиції з сполукою. Клітинна стінка

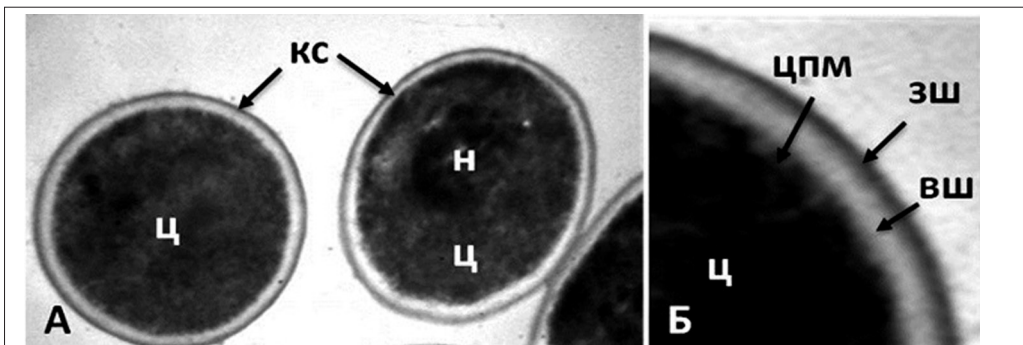


Рис. 1. Ультраструктура клітин *S. aureus* (інтактний контроль), поперечний зріз (А), структура клітинної оболонки (фрагмент) (Б). Електронна мікроскопія, збільшення  $\times 20\ 000$

Примітка. Тут і на рис. 2: КС – клітинна стінка, Ц – цитоплазма, Н – нуклеоїд, ЦПМ – цитоплазматична мембрана, ЗШ – зовнішній шар клітинної стінки, ВШ – внутрішній шар клітинної стінки.



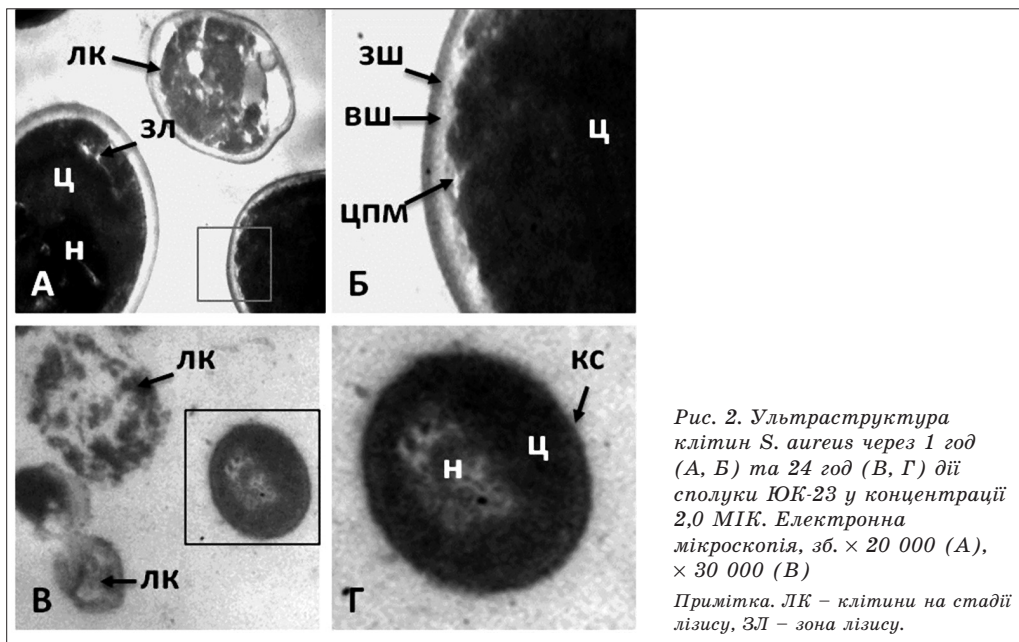


Рис. 2. Ультраструктура клітин *S. aureus* через 1 год (А, В) та 24 год (В, Г) дії сполуки ЮК-23 у концентрації 2,0 МІК. Електронна мікроскопія, зб.  $\times 20\ 000$  (А),  $\times 30\ 000$  (В)

Примітка. ЛК – клітини на стадії лізису, ЗЛ – зона лізису.

зберігала двошарову будову, що є характерною для інтактних клітин, натомість цитоплазматична мембрана локально відокремлювалась від компонентів цитоплазми, або спостерігалось утворення чисельних незначних інвагінацій (рис. 2, В). Цитоплазма набувала високої електронної щільності та містила неупорядковані просвітлені ділянки, які ймовірно є місцями ініціації лізису внутрішньоклітинного матеріалу. У зоні нуклеоїду відмічалось утворення електронно-щільного агломерату з чисельними просвітленими ділянками (рис. 2, А).

Ефект дії речовини посилювався з часом, і через 24 год експозиції зі сполукою ЮК-23 відмічали поліморфізм клітин та їхній лізис (рис. 2, В). У більшості клітин відмічали порушення морфології, відшарування клітинної стінки від цитоплазми, конденсацію вмісту цитоплазми з утворенням зон просвітлення, деформацію та деградацію клітинної стінки. Від окремих клітин залишався внутрішньоклітинний вміст, оточений залишками клітинної стінки, без характерної будови та розподілу на шари (рис. 2, Г).

Отримані дані дослідження свідчать, що під впливом сполуки ЮК-23 першочергово відбувається порушення організації цитоплазми та деградація генетичного апарату. Поява зон просвітлення в цитоплазмі клітин може свідчити про

вихід водорозчинних низькомолекулярних компонентів та збільшення гідратації клітини, а також втрату осмотичного тиску всередині клітини. Клітинна стінка при цьому очевидних змін не зазнає (можливо, через велику кількість шарів пептидоглікану в клітинах стафілококу), а тому, ймовірно, її компоненти не є мішенями дії для сполуки ЮК-23.

Зміни, що відмічаються в будові клітинних оболонок зі збільшенням часу експозиції (через 24 год), ймовірно, є наслідком дії ЮК-23 саме на рівні структур цитоплазми та генетичного апарату, можливо, через блокування біосинтетичних процесів, що підтримують цілісність клітинної стінки. Так, навколо нуклеоїду відмічені зони просвітлення, що може свідчити як про зниження біосинтетичної активності в клітинах бактерій, так і про дію сполуки безпосередньо на ДНК.

За характером змін у клітинах стафілококу механізм дії похідних адамантану відрізняється від такого аміноглікозидів, глікопептидів, пеніцилінів та фторхінолонів. Інгібування біосинтетичних процесів, зокрема, синтезу білка та нуклеїнових кислот, супроводжується незначним збільшенням клітин *S. aureus* у розмірах, потовщенням зовнішньої мембрани, конденсацією нуклеоїду та рибосом, появою шорухатості зовнішньої оболонки та мезосо-

мальних структур. У присутності інгібіторів синтезу ДНК (ципрофлоксацин) головною особливістю морфології клітин стафілококів є коагуляція ДНК [8].

Інкубація клітин стафілококу в присутності оксациліну та ванкоміцину – інгібіторів синтезу клітинної стінки супроводжується значним збільшенням клітин у розмірах, втратою ними округлої форми та відшаруваннями зовнішньої мембрани, а також появою мезосомальних структур [8].

Таким чином, механізм дії похідного алкоксіаміно-1-адамтанфенолу ЮК-23 відрізняється від такого інгібіторів синтезу компонентів клітинної

стінки, білка або ДНК. Ймовірно, антимікробний ефект сполуки зумовлений одночасною дією на цитоплазму та генетичний апарат бактеріальної клітини в різних точках прикладання.

### **Висновок**

Встановлено, що похідне алкоксіаміно-1-адамтанфенолу ЮК-23 призводить до порушення ультраструктури клітин золотистого стафілококу та генетичного апарату, що проявляється відшаруванням клітинної оболонки від цитоплазми, конденсацією цитоплазми з утворенням зон просвітлення, лізисом внутрішньоклітинного вмісту.

1. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / под ред. Л. С. Страчунского, Ю. Б. Белоусова, С.Н. Козлова. – Москва, 2002. – 375 с.
2. Belley A. Ultrastructural effects of oritavancin on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus* / A. Belley, R. Harris, T. Beveridge // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2009. – V.53, № 2. – P.800–804.
3. Вринчану Н. О. Антимікробні властивості нових похідних аміноадамтану та експериментальне обґрунтування доцільності їх медичного використання: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора мед. наук; спец. 14.03.05 «Фармакологія» / Вринчану Ніна Олексіївна; Інститут фармакології та токсикології НАМН України. – Київ, 2010. – 38 с.
4. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: методичні рекомендації / під ред. Ю. Л. Волянського, Ш. С. Гриценко, В. П. Широбокова [та ін.]. – Київ, 2004. – 38 с.
5. Bozzola J. J. Conventional specimen preparation techniques for transmission electron microscopy of cultured cells / J. J. Bozzola // *Electron microscopy: methods and protocols*: ed. John Kuo. – Totowa, NJ : Humana Press, 2007. – P. 1–18.
6. Ellis E. A. Poststaining grids for transmission electron microscopy / E. A. Ellis // *Electron microscopy: methods and protocols*: ed. John Kuo. – Totowa, NJ : Humana Press, 2007. – P. 97–106.
7. *Histopathology Kits: methods and applications*/ eds. F. Venerucci [et al.]. – Bologna, 1998. – 95 p.
8. Ultrastructural study on the effects of antibiotics on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 / Raj L. Santhana, H. L. Hing, Omar Baharudin [et al.]. // *Annals of microscopy*. – 2007. – V. 7. – P. 109–114.

### **Д. М. Дудікова, С. І. Войчук, Н. О. Вринчану** **Особливості ультраструктури *Staphylococcus aureus* за дії 4-(1-адамтил) фенокси-3-(N-бензил, N-метил, N-циклогексил)-2-пропанол хлориду**

Розповсюдження резистентності до антимікробних препаратів свідчить про нагальну потребу в нових антибіотиках. Одним з багатобіляючих хімічних класів речовин для їхньої розробки є похідні адамтану. У скринінгових дослідженнях була виділена сполука ЮК-23, яка проявляє виражені антистафілококові властивості.

**Мета дослідження** – встановити зміни ультраструктури *Staphylococcus aureus* за дії похідного алкоксіаміно-1-адамтанфенолу.

У всіх експериментах використовували культуру *S. aureus* ATCC 25923. Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) була визначена методом серійних макророзведень у поживному середовищі. Для вивчення впливу сполуки на ультраструктуру клітин, їх інкубували протягом 1 та 24 год у середовищі, що містило сполуку в концентрації 2,0 МІК. Отримані зразки аналізували методом трансмісійної електронної мікроскопії після контрастування ураніл ацетатом та цитратом свинцю.

Отримані дані свідчать, що сполука ЮК-23 проявляє виражену антибактеріальну активність відносно *S. aureus*, МІК становить 0,6 мкг/мл.

Інкубація *S. aureus* зі сполукою ЮК-23 у бактерицидній концентрації призводить до порушення морфології клітин (відшарування цитоплазматичної мембрани, поява зон просвітлення в цитоплазмі) вже через 1 год. При збільшенні часу інкубації до 24 год зміни поглиблювались: спостерігалось відшарування клітинної стінки та її деградація, конденсація вмісту цитоплазми з утворенням зон просвітлення, лізис клітин.

Виявлені зміни ультраструктури *S. aureus* вказують на можливий механізм дії сполуки ЮК-23, пов'язаний з її впливом на цитоплазму та деградацією генетичного апарату.

**Ключові слова:** похідні адамтану, механізм дії, ультраструктура, *Staphylococcus aureus*

---

**Д. М. Дудикова, С. И. Войчук, Н. А. Врынчану**  
**Особенности ультраструктуры *Staphylococcus aureus* при действии**  
**4-(1-адамантил) фенокси-3-(N-бензил, N-метил, N-циклогексил)-2-пропанол**  
**хлорида**

Распространенность устойчивости к антимикробным препаратам свидетельствует о насущной потребности в новых антибиотиках. Одними из многообещающих химических классов веществ для их разработки являются производные адамантана. В скрининговых исследованиях было выделено соединение ЮК-23, проявляющее выраженные антистафилококковые свойства.

*Цель исследования* – установить изменения ультраструктуры *Staphylococcus aureus* при действии производного алкоксиамино-1-адамантанфенола.

Во всех экспериментах использовали культуру *S. aureus* ATCC 25923. Минимальную подавляющую концентрацию (МПК) определяли методом серийных макроразведений в питательной среде. Для изучения влияния соединения на ультраструктуру клеток их инкубировали в течение 1 и 24 ч в среде, содержащей соединение в концентрации 2,0 МПК. Полученные образцы анализировали методом трансмиссионной электронной микроскопии после контрастирования уранил ацетатом и цитратом свинца.

Полученные данные свидетельствуют, что соединение ЮК-23 проявляет выраженную антибактериальную активность в отношении *S. aureus*, МПК составляет 0,6 мкг/мл.

Инкубация *S. aureus* с соединением ЮК-23 в бактерицидной концентрации приводит к нарушению морфологии клеток (отслоение цитоплазматической мембраны, появление зон просветления в цитоплазме) уже через 1 ч. При увеличении времени инкубации до 24 ч изменения усиливались: наблюдалось отслоение клеточной стенки и ее деградация, конденсация содержимого цитоплазмы с образованием зон просветления, лизис клеток.

Обнаруженные изменения ультраструктуры клеток *S. aureus* указывают на возможный механизм действия соединения ЮК-23, связанный с его влиянием на цитоплазму и деградацией генетического аппарата.

*Ключевые слова:* производные адамантана, механизм действия, ультраструктура, *Staphylococcus aureus*

**D. M. Dudikova, S. I. Voychuk, N. O. Vrynchanu**  
**Ultrastructural features of *Staphylococcus aureus* caused by 4-(1-adamantyl)phenoxy-3-(N-benzyl, N-methyl, N-cyclohexyl)-2-propanol chloride**

The spread of multidrug resistant strains created a critical need of the new effective antimicrobial agents. One of the promising chemical classes for its research and development are adamantane derivatives. After the screening studies compound UK-23 was selected as the potent anti-staphylococcal agent.

In the present study the purpose was to examine ultrastructural alterations of *Staphylococcus aureus* cells under the influence of alkoxyamino-1-adamantanephenol derivative.

*S. aureus* ATCC 25923 was used in all experiments. The minimum inhibitory concentration was determined by serial macrodilution test in broth. Bacterial cells were exposed to the 2,0 MIC of the UK-23 for 1 h and 24 h. Ultrastructure of intact and treated *S. aureus* cells was examined by transmission electron microscopy after contrasting by uranyl acetate and lead citrate.

The compound UK-23 possesses a distinct antibacterial activity against *S. aureus*, the minimum inhibitory concentration was 0,6 µg/ml.

We found that the bactericidal concentration of compound UK-23 caused defects in cell morphology (detachment of cytoplasmic membrane, enlightenment of cytoplasm) starting from 1 h of treatment. Increase of the incubation time to 24 h led to exacerbation of alterations: detachment and degradation of cell wall, condensation of cytoplasm with zone of enlightenment, cells lysis were registered.

The detected ultrastructural alterations of *S. aureus* suggest the possible mechanism of action of UK-23, due to its influence on the cytoplasm and degradation of genetic apparatus.

*Key words:* adamantane derivatives, mechanism of action, ultrastructure, *Staphylococcus aureus*

---

Надійшла: 12 квітня 2017 р.

**Контактна особа:** Дудикова Дар'я Маратівна, молодший науковий співробітник, відділ фармакології протимікробних засобів, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Е. Потьє, м. Київ, 03057. Тел.: +38 0 44 456 83 32.  
Електронна пошта: darmardud@gmail.com

Г. В. Зайченко<sup>1</sup>, М. О. Стахорська<sup>2</sup>, О. В. Файзуллін<sup>2</sup>

## Лейкоцитарна реакція в білих щурів за умов моделювання хронічної анальної тріщини та лікування ректальним кремом комбінованого складу

<sup>1</sup>Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ

<sup>2</sup>Національний фармацевтичний університет, м. Харків

*Ключові слова: хронічна анальна тріщина, ректальний крем, лейкоцитарна реакція*

Хронічна анальна тріщина зустрічається в 1–2 % дорослого населення розвинених країн, за деякими даними частота виникнення анальної тріщини складає 20–23 випадки на 1000 дорослого населення, і понад третини хворих припадає на людей працездатного віку. Питома вага пацієнтів з анальними тріщинами серед хворих колоректального профілю за даними різних авторів становить від 8,5 до 16,0 %, а за поширеністю серед колоректальних захворювань поступається лише геморою та коліту [1–5]. Спеціалісти визнають, що лікування гострих та хронічних анальних тріщин необхідно починати з призначення засобів «медикаментозної сфінктеротомії». Такий підхід є достатньо ефективним і значно зменшує частоту оперативних втручань [6–8]. Зазвичай препарати, що використовуються з цією метою містять у своєму складі нітрати, блокатори кальцієвих каналів або ботулотоксин [9–11]. Вітчизняна фармацевтична промисловість зовсім не випускає препаратів зазначеної спрямованості дії. Отже, розробка та впровадження в клінічну практику таких засобів може розглядатися як одна з актуальних проблем вітчизняної фармакології та фармації.

*Мета дослідження* – вивчення лікувальної дії ректального крему комбінованого складу (РККС) на моделі хронічної анальної тріщини в щурів та особливостей лейкоцитарної реакції в піддослідних тварин за умов модельної патології та на фоні лікування.

**Матеріали та методи.** Досліджуваний крем розроблений колективом співробітників НДІ монокристалів НАН України під керівництвом доктора фармацевтичних наук, професора М. О. Ляпунова. Він містить як активні фармацевтичні інгредієнти дилтіазем, лідокаїн і метилурацил. Препарат пропонується для лікування проктологічних захворювань, зокрема, анальної тріщини.

Дослідження проведено на 48 білих нелінійних щурах-самицях, що були розподілені на 4 експериментальні групи (по 12 тварин у кожній): інтактні тварини; група контрольної патології; тварини з хронічною анальною тріщиною, лікування яких здійснювали досліджуваним препаратом; тварини з хронічною анальною тріщиною, лікування яких здійснювали препаратом порівняння «Проктозан».

Хронічну анальну тріщину відтворювали за допомогою методики, що була запропонована Р. Ф. Адієвим та співавт. [12]. Сутність методики полягала в тому, що по задній стінці анального каналу в області переходу шкіри в анодерму в підслизову оболонку анального каналу вводиться 0,7 мл розчину, що складається з суміші: 2 частин скипидару і 1 частини 2 % розчину новокаїну. Утворений уздовж анального каналу інфільтрат прошивають шовком стібком завдовжки 10 мм і глибиною 2–3 мм до внутрішнього сфінктера. Кінці ниток щільно зав'язують для прорізання тканин. Додатково під шов на глибину 0,5–0,7 мм вводять 0,3–0,4 мл суміші розчину скипидару з новокаїном. Лікування починали через 24 год після відтворення анальної тріщини. Досліджуваний крем та препарат

порівняння вводили в анальний канал за допомогою інсулінового шприца – 0,3 мл один раз на одну добу протягом 14 днів.

Оцінку розвитку патології та ефективність лікування РККС проводили за показниками лейкоцитарної відповіді на 14 добу експерименту. З цією метою підраховували загальну кількість лейкоцитів у камері Горяєва та лейкоцитарну формулу в абсолютному (профіль Машковського) і відносному (лейкограма) вираженні [13]. З метою більш глибокого аналізу змін лейкоцитарного профілю крові піддослідних тварин були використані деякі розрахункові коефіцієнти: індекс зсуву лейкоцитів крові (ІЗЛК) та індекс Кребса (ІК) [14] обчислювалися за наступними формулами з урахуванням видових особливостей лейкоцитарної ланки імунітету піддослідних тварин:

$$\text{ІЗЛК} = \frac{\text{Е} + \text{Б} + \text{Н} (\text{С} + \text{П} + \text{Мц} + \text{Юн})}{\text{Лімф} + \text{Мон}};$$

$$\text{ІК} = \frac{\text{П} + \text{С}}{\text{Лімф}};$$

де Е – еозинофіли, Б – базофіли, Лімф – лімфоцити, Н – нейтрофіли, П – паличкоядерні, С – сегментоядерні, Мц – міелоцити, Юн – юні форми, Мон – моноцити.

Дослідження проведені відповідно до положень «Директиви Європейського союзу 2010/63/EU про захист тварин, які використовуються для наукових цілей» [15].

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою непараметричних методів статистики (критерій Манна-Уїтні) [16].

**Результати та їх обговорення.** На 14 добу експерименту в тварин з хронічною анальною тріщиною відзначався лейкоцитоз, вираженість якого суттєво відрізнялась у тварин різних експериментальних груп (таблиця, рис. 1). Так, у нелікованих тварин з хронічною анальною тріщиною вміст лейкоцитів в периферичній крові в 1,6 разу перевищував значення цього показника в групі тварин інтактного контролю. Лейкоцитарна реакція в щурів з групи контрольної патології характеризувалася наступни-

Таблиця

*Показники лейкоцитарної відповіді в щурів за умов хронічної анальної тріщини, впливу ректального крему комбінованого складу та препарату порівняння «Проктозан»*

Експериментальна група	Загальна кількість лейкоцитів, ( $\times 10^9/\text{л}$ )	Паличкоядерні нейтрофіли, ( $\times 10^9/\text{л}$ )	Сегментоядерні нейтрофіли, ( $\times 10^9/\text{л}$ )	Еозинофіли, ( $\times 10^9/\text{л}$ )	Моноцити, ( $\times 10^9/\text{л}$ )	Лімфоцити, ( $\times 10^9/\text{л}$ )	Міелоцити, ( $\times 10^9/\text{л}$ )
Інтактний контроль	17,67 ± 1,17	0,05 ± 0,03	2,00 ± 0,24	0,38 ± 0,06	0,22 ± 0,03	15,03 ± 1,01	0 ± 0
Контрольна патологія	28,96 ± 1,87*	0,20 ± 0,07*	6,62 ± 0,85*	0,47 ± 0,18	1,44 ± 0,16*	20,23 ± 1,41*	0 ± 0
Ректальний крем комбінованого складу	20,25 ± 2,28**	0,07 ± 0,05	3,35 ± 0,49**/**	0,37 ± 0,15	0,87 ± 0,16*	15,60 ± 1,76**	0 ± 0
Проктозан	25,60 ± 1,67*	0,11 ± 0,07*	4,62 ± 1,01	0,58 ± 0,23	0,93 ± 0,11*	19,36 ± 1,55*	0 ± 0

*Примітка. Тут і на рис. 2: \*відхилення достовірне відносно групи інтактного контролю, \*\*відхилення достовірне відносно групи контрольної патології.*



ми особливостями: рееструвався виражений нейтрофіліоз (абсолютна кількість нейтрофілів перевищувала показники інтактних тварин більше ніж у 3 рази). Крім того, спостерігали значне зростання кількості моноцитів як абсолютної, так і відносної, що, ймовірно, може бути свідченням хронізації запалення. Кількість еозинофілів практично не змінювалася. Лімфоцитарна ланка лейкоцитарної реакції характеризувалася помірним зростанням абсолютної кількості лімфоцитів, втім спостерігали помітне (на 18 %) зменшення відносної кількості лімфоцитів, що вочевидь пояснюється багаторазовим збільшенням кількості нейтрофілів.

Застосування досліджуваного крему протягом 14 днів супроводжувалося зниженням загальної кількості лейкоцитів приблизно на 30 % порівняно з нелікованими тваринами, при цьому відмінність щодо групи інтактного контролю не мала статистично достовірного характеру. У той самий час застосування препарату порівняння «Проктозан» не супроводжувалося статистично значущим відносно групи контрольної патології зменшенням кількості лейкоцитів. На фоні терапії, яка проводилася, відбувався також перерозподіл компонентів лейкоцитарної формули. Так, у разі застосування РККС кількість сегментоядерних нейтрофілів зменшувалася вдвічі. Суттєво знижувався показник абсолютної кількості моноцитів, та значень фізіологічної норми набував показник лімфоцитів. Застосування препарату «Прокто-

зан» практично не впливало на жодну ланку лейкоцитарної реакції.

Більш конкретно сутність зазначених змін можна тлумачити на підставі порівняння розрахункових лейкоцитарних індексів (рис. 2). Так, у тварин з групи контрольної патології відзначали підвищення ІЗЛК більше ніж у 2 рази порівняно з інтактним контролем. Його збільшення зумовлене значним нейтрофіліозом і свідчить про активний розвиток системного запального процесу. У разі застосування досліджуваного крему з дилтіаземом у тварин з хронічною анальною тріщиною показник ІЗЛК зменшувався відносно групи контрольної патології на 31 %, що відображає зниження активності запальної реакції на фоні терапії. У той самий час застосування препарату порівняння «Проктозан» не призводило до статистично значущого зменшення ІЗЛК. Необхідно зазначити, що ІЗЛК не завжди відповідає тяжкості ендогенної інтоксикації, тому завжди повинен розглядатися в комплексі з показниками ендогенної інтоксикації. З цієї метою розраховували індекс Кребса, який за даними багатьох дослідників об'єктивно відображає ступінь інтоксикації, хоча він і не отримав значного поширення в клінічній практиці, оскільки не враховує зміни всіх елементів лейкоцитарної формули [14]. Так, значення ІК у тварин групи контрольної патології зростало в 2,5 рази порівняно з інтактним контролем, що дозволяє оцінювати ступінь ендогенної інтоксикації як помірний. У разі застосування РККС також спостерігали зменшення показника ІК

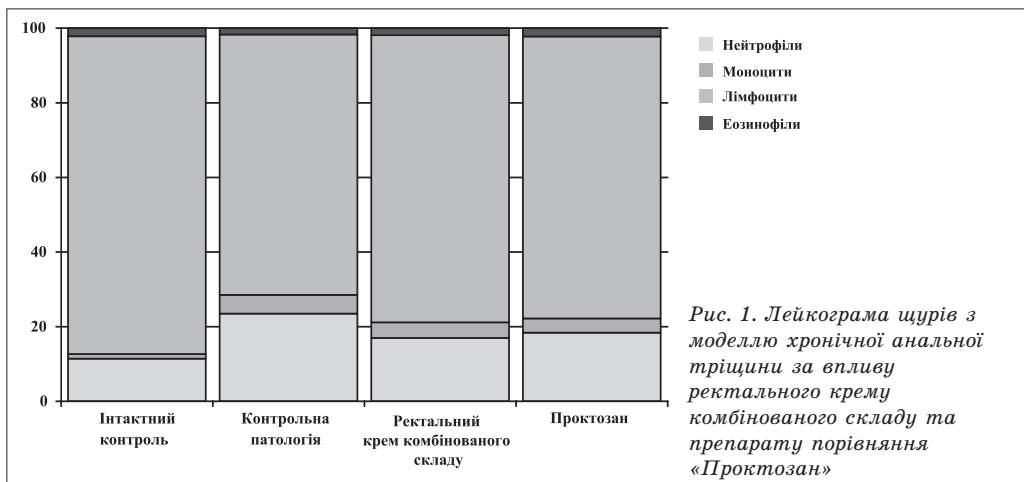
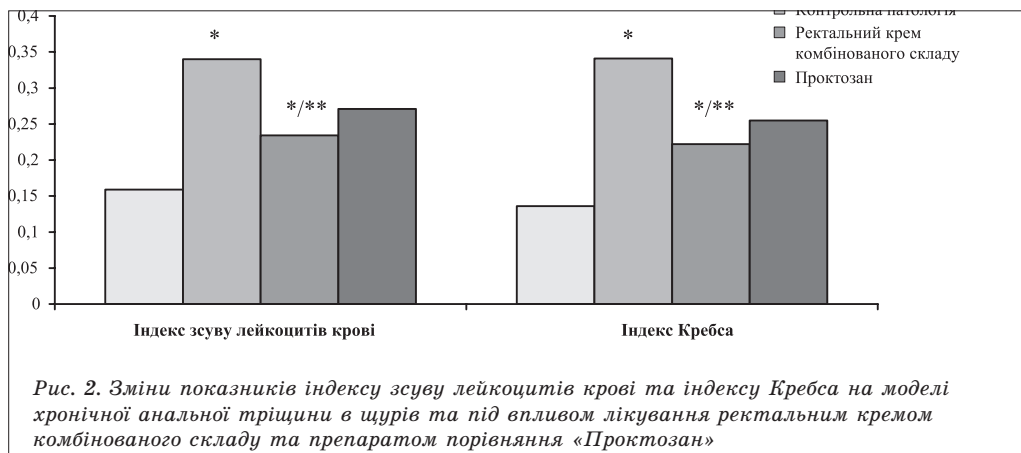


Рис. 1. Лейкограма щурів з моделлю хронічної анальної тріщини за впливу ректального крему комбінованого складу та препарату порівняння «Проктозан»



на 35 % порівняно з групою контрольної патології, а застосування мазі «Проктозан» не призводило до статистично значущого зменшення ІК. Односпрямована динаміка змін показників ІЗЛК та ІК дозволяє зробити висновки щодо зменшення проявів системного запального процесу в тварин з хронічною анальною тріщиною та підтвердити ефективність терапії зазначеної патології РККС.

## Висновки

1. Аналіз показників лейкоцитарної відповіді свідчить, що на фоні хронічної анальної тріщини в піддослідних тварин розвивається помірний лейкоцитоз, обумовлений підвищен-

ням абсолютної кількості всіх типів клітин, і, у першу чергу, нейтрофілів – це віддзеркалюється зростанням індексу зсуву лейкоцитів крові. Рівень ендогенної інтоксикації в піддослідних тварин на фоні хронічної анальної тріщини також можна охарактеризувати як помірний, про що свідчить зростання індексу Кребса.

2. Лікування хронічної анальної тріщини РККС супроводжується регресією лейкоцитозу, зменшенням ознак запалення та проявів ендогенної інтоксикації. За впливом на перебіг хронічної анальної тріщини в щурів, зокрема на показники лейкоцитарної реакції, РККС переважав препарат порівняння «Проктозан».

1. Воробьев Г. И. Основы колопроктологии / Г. И. Воробьев. – Ростов-на-Дону : Феникс, 2001. – 414 с.
2. Крылов, Н. Н. Хроническая анальная трещина / Н. Н. Крылов // Вестник хирургической гастроэнтерологии. – 2008. – № 1. – С. 5–11.
3. Ривкин В. Л. Руководство по колопроктологии / В. Л. Ривкин, А. С. Бронштейн, С. Н. Файн. – Москва : Изд-во «Медпрактика», 2001. – 300 с.
4. Семионкин Е. И. Колопроктология / Е. И. Семионкин. – Москва : ИД Медпрактика-М, 2004. – 224 с.
5. Clinical Practice Guideline for the Management of Anal Fissures / D. B. Stewart Sr, W. Gaertner, S. Glasgow [et al.] // Dis. Colon Rectum. – 2017. – V. 60, № 1. – P. 7–14.
6. Are we following an algorithm for managing chronic anal fissure? A completed audit cycle / N. Farakas, K. Solanki, A. E. Frampton [et al.] // Ann Med Surg (Lond). – 2015. – V. 5, № 25. – P. 38–44.
7. Conservative and surgical treatment of chronic anal fissure: prospective longer term results / P. Sileri, V. M. Stolfi, L. Franceschilli [et al.] // J. Gastrointest Surg. – 2010. – V. 5, № 14. – P. 773–780.
8. Long-term prospective randomised clinical and manometric comparison between surgical and chemical sphincterotomy for treatment of chronic anal fissure / H. M. Abd Elhady, I. H. Othman, M. A. Hablus [et al.] // S Afr J. Surg. – 2009. – V. 4, № 47. – P. 112–114.
9. Partial lateral internal sphincterotomy versus combined botulinum toxin A injection and topical diltiazem in the treatment of chronic anal fissure: a randomized clinical trial / H. Gandomkar, A. Zeinodini, R. Heidari, H. A. Amoli // Dis Colon Rectum. – 2015. – V. 2, № 58. – P. 228–234.
10. Non surgical therapy for anal fissure / R. L. Nelson, K. Thomas, J. Morgan, A. Jones // Cochrane Database Syst Rev. – 2012. – CD003431.
11. Schlichtemeier S. Anal fissure / S. Schlichtemeier, A. Engel // Aust Prescr. – 2016. – V. 1, № 39. – P. 14–17.
12. Экспериментальная модель хронической анальной трещины / Р. Ф. Адиев, Д. С. Куклин, Х. И. Латыпов [et al.] // Весник молодых ученых республики Башкортостан. – 2012. – № 5. – С. 5–8.

13. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник; под ред. В. В. Меньшикова. – Москва, 1987. – С. 310–311.
14. Сперанский И. И. Общий анализ крови — все ли его возможности исчерпаны? Интегральные индексы интоксикации как критерии оценки тяжести течения эндогенной интоксикации, ее осложнений и эффективности проводимого лечения / И. И. Сперанский, Г. Е. Самойленко, М. В. Лобачева // Острые и неотложные состояния в практике врача. – 2009. – Т. 19, № 6 – С. 37–45.
15. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. // Official Journal of the European Union. – 2010. – L276. – P. 33–79.
16. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – [3-е изд.]. – Москва : МедиаСфера, 2006. – 312 с.

**Г. В. Зайченко, М. О. Стахорська, О. В. Файзуллин**  
**Лейкоцитарна реакція в білих щурів за умов моделювання хронічної анальної тріщини та лікування ректальним кремом комбінованого складу**

На моделі хронічної анальної тріщини в щурів було проведено порівняльне вивчення впливу ректального крему комбінованого складу, розробки НДІ монокристалів НАН України, та препарату «Проктозан» на показники лейкоцитарної відповіді.

Встановлено, що на фоні хронічної анальної тріщини в піддослідних тварин розвивається помірний лейкоцитоз, обумовлений підвищенням абсолютної кількості всіх типів клітин, і, у першу чергу, нейтрофілів. Рівень ендогенної інтоксикації в піддослідних тварин на фоні хронічної анальної тріщини також можна охарактеризувати як помірний. Застосування ректального крему комбінованого складу на фоні хронічної анальної тріщини супроводжується регресією лейкографічних критеріїв запалення та проявів ендогенної інтоксикації. Встановлено також, що за впливом на виразність запальної реакції та ендогенної інтоксикації досліджуваний крем виявляв очевидну перевагу перед препаратом порівняння «Проктозан».

*Ключові слова: хронічна анальна тріщина, ректальний крем, лейкоцитарна реакція*

**А. В. Зайченко, М. А. Стахорская, А. В. Файзуллин**  
**Лейкоцитарная реакция у белых крыс в условиях моделирования хронической анальной трещины и лечения ректальным кремом комбинированного состава**

На модели хронической анальной трещины у крыс было проведено сравнительное изучение влияния ректального крема комбинированного состава разработки НИИ монокристаллов НАН Украины, и препарата «Проктозан» на показатели лейкоцитарного ответа.

Установлено, что на фоне хронической анальной трещины у подопытных животных развивается умеренный лейкоцитоз, обусловленный повышением абсолютного количества всех типов клеток, и в первую очередь, нейтрофилов. Уровень эндогенной интоксикации у подопытных животных на фоне хронической анальной трещины также можно охарактеризовать как умеренный. Применение ректального крема комбинированного состава на фоне хронической анальной трещины сопровождается регрессией лейкографических критериев воспаления и проявлений эндогенной интоксикации. Установлено также, что по влиянию на выраженность воспалительной реакции и эндогенной интоксикации исследуемый крем имеет очевидное преимущество перед препаратом сравнения «Проктозан».

*Ключевые слова: хроническая анальная трещина, ректальный крем, лейкоцитарная реакция*

**G. V. Zaychenko, M. O. Stakhorskaya, O. V. Faizullin**  
**Leukocytic reaction in rats under chronic anal fissure and treatment by combined rectal cream**

Comparative studying of effect of combined rectal cream and «Proktozan» on indicators of the leukocytic response under chronic anal fissure in rats was carried out. It was established that chronic anal fissure followed to moderate leukocytosis in experimental animals. The leukocytosis caused by increasing of absolute counts of all cell-types and first of all neutrophils. The level of endogenous intoxication in experimental animals can also be characterized as moderate. Use of combined rectal cream under chronic anal fissure followed by regression of inflammation and endogenous intoxication signs. It also was established that combined rectal cream has advantages over «Proktozan» effect by indicators of the leukocytic response and endogenous intoxication under chronic anal fissure in rats.

*Key words: chronic anal fissure, rectal cream, leukocytic reaction*

Надійшла: 12 травня 2017 р.

**Контактна особа:** Зайченко Ганна Володимирівна, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, буд. 34, просп. Перемоги, м. Київ. Тел.: +38 0 99 124 32 20.

Е. В. Залыгина, Е. А. Подплетняя

## Исследование противоязвенной активности густого экстракта из незрелых плодов ореха грецкого на модели индометацин-индуцированной язвы желудка у крыс

Государственное учреждение «Днепропетровская медицинская академия  
Министерства здравоохранения Украины», г. Днепр

*Ключевые слова: орех грецкий, густой экстракт, противоязвенная активность, язвенная болезнь, фитопрепараты*

Лекарственные растения издавна широко применяли в терапии многих заболеваний, и сегодня трудно переоценить значение препаратов растительного происхождения для медицинской практики [1–3]. Особую значимость эти препараты могут приобретать в области гастроэнтерологии ввиду того, что используемые в клинической практике синтетические противоязвенные препараты часто приводят к развитию различного рода побочных эффектов, и поэтому они имеют большой перечень противопоказаний [3–5]. Орех грецкий с глубокой древности использовался в качестве лечебных снадобий при многих заболеваниях. Его используют в качестве лечебных средств во многих странах мира – на востоке в качестве общеукрепляющего средства для восстановления организма после тяжелых длительных заболеваний, в китайской медицине – при мочекаменной болезни, в Англии – при диабете и атеросклерозе, в Таджикистане – при заболеваниях желудка, в Грузии – для полосканий при заболеваниях горла [6–9].

Эти свойства обусловлены наличием биологически активных веществ (БАВ): гидролизированных танинов мономеров и димеров, производных элаговой кислоты, катехинов, производных декарбоксилированных кислот, нуклеиновых кислот, аминокислот [6–8].

На основании данных литературы можно предполагать, что субстанции из растительного сырья, обладая малой ток-

сичностью и физиологически активными свойствами, могут быть весьма полезными для коррекции тех звеньев патогенеза, которые характерны для гастропатий различного генеза [4, 5, 10].

Отсутствие данных литературы и каких-либо экспериментальных сведений о гастропротекторных свойствах ореха грецкого послужило основанием для проведения настоящего исследования.

*Цель исследования* – изучение гастропротекторного действия экстракта густого водно-спиртового из незрелых плодов ореха грецкого на модели индометацин-индуцированной язвы желудка у крыс.

**Материалы и методы.** Объект исследования – водно-спиртовой (экстрагент спирт этиловый 30 %) экстракт из незрелых плодов ореха грецкого (ЭГВС), который был получен совместно с учеными НФаУ (под руководством профессора В. А. Георгиянц) и стандартизирован по содержанию юглона методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [11–12].

Препаратом сравнения был выбран Альтан (таблетки 10 мг, ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», Украина), потому что по данным литературы (И. В. Карбушева, 2002 г.; М. Д. Машковский, 2008 г.; В. Н. Коваленко, 2010 г.) он проявляет противоязвенную активность и с успехом применяется при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки в клинике и эксперименте, а также является аналогичным по происхождению (растительный препарат). Это комплексный растительный лекарственный препарат на основе соплодий ольхи клейкой и ольхи серой,

в состав которого входят производные элаготанинов (элаговая и галловая кислоты, этилгаллат, альнитанины), гидролизованные танины (элаговая и галловая кислоты), которые обеспечивают препарату противомикробное действие; флавоноиды (кверцетин, рутин, катехин, лейкоантоцианы) обладают репаративными свойствами за счет стимуляции синтеза белка и улучшения местного кровоснабжения, противовоспалительный эффект обеспечивается за счет антиоксидантных свойств и угнетения активности ферментов в цикле арахидоновой кислоты. Препарат оказывает гастропротекторное и противоязвенное действие.

Фармакологическое исследование противоязвенной активности ЭГВС проводили на модели индометацин-индуцированной язвы желудка, воспроизводимой у крыс в соответствии с методическими рекомендациями ГФЦ МЗ Украины [12–14]. Исследование на лабораторных животных проведено в соответствии с законодательством Украины и положениями Европейской конвенции (Страсбург, 1986 г.). Все животные были разделены на 4 группы по 6 животных в каждой: 1 группа – интактный контроль; 2 группа – модельная патология; 3 группа – крысы с модельной патологией, которым вводили ЭГВС (25 мг/кг); 4 группа – крысы, которые получали референс-препарат Альтан (1 мг/кг).

Общеизвестно, что традиционные нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) реализуют свое терапевтическое действие посредством антициклооксигеназного механизма, блокируя биосинтез простагландинов (P<sub>g</sub>), которые являются цитопротекторами для слизистой оболочки желудка (СОЖ). Последнее способствует проявлению ulcerогенного действия, которое выражается в дистрофических изменениях эпителия, нарушении микроциркуляции в поверхностных отделах слизистой оболочки и клеточном обновлении эпителия. В связи с вышеизложенным, многие представители этой фармакологической группы и, в частности, индометацин, широко используется как ulcerогенный агент

для моделирования экспериментальных язв, которые являются аналогом осложнений, возникающих у людей, принимающих НПВС [15–18].

Индометациновое эрозивно-геморрагическое поражение желудка вызывали у белых нелинейных крыс одноразовым интрагастральным введением индометацина в дозе 20 мг/кг после 24 ч пищевой депривации [19]. Исследуемый ЭГВС в дозе 25 мг/кг вводили в лечебно-профилактическом режиме внутрижелудочно ежедневно однократно, начиная за 3 дня до моделирования патологии и заканчивая в день воспроизведения язвы (последнее введение через 1 ч после введения индометацина) [12]. Экстракт и его условно-терапевтическая доза были выбраны по результатам предварительного скрининга [20]. Препарат сравнения Альтан применяли в дозе 1 мг/кг и вводили в аналогичном режиме.

Через 24 ч животных выводили из эксперимента путем эвтаназии с соблюдением требований биоэтики, извлекали желудки и проводили их макроскопическое изучение. Оценку интенсивности язвенного поражения и противоязвенной активности (ПЯА) исследуемых экстрактов проводили по показателям интенсивности образования язвенных дефектов в слизистой оболочке желудка (СОЖ): проценту животных с язвами в группе, средней степени тяжести язвы (ССТЯ), язвенному индексу (ЯИ) и интегральному показателю терапевтического эффекта препаратов – противоязвенной активности (ПЯА, %).

Степень тяжести язвы отражает степень поражения слизистой оболочки желудка экспериментальных животных в зависимости от площади язвы (степени дистрофических нарушений желудка), оценивается в баллах: 0 – отсутствие видимых повреждений; 1 – наличие отека или кровоизлияний, 1–3 – небольшие язвы; 2 – несколько (более 3) небольших язв или 1 язва значительных размеров; 3 – язва внушительных размеров (диаметр до 4 мм); 4 – несколько больших язв; 5 – прободная язва [12].

Животных выводили из эксперимента в утренние часы под тиопенталовым наркозом (40 мг/кг).



ПЯА исследуемых экстрактов определяли как отношение ЯИ в контрольной группе к ЯИ в экспериментальной группе. Биохимические исследования плазмы крови проводили с использованием стандартных тест наборов НПП «Филисит-Диагностика» (Украина) согласно с общепринятыми методиками [21]. Среди биохимических маркеров нами был выбран показатель состояния поджелудочной железы – активность общей  $\alpha$ -амилазы, показатели интенсивности цитолиза (активность ферментов АлАТ, АсАТ), показатели состояния репаративных процессов (уровень общего белка), показатель ускорения распада белка при желудочно-кишечном кровотечении (мочевина) и др., которые позволяют оценить функциональное состояние органов ЖКТ под влиянием как индометацина, так и растительных препаратов.

Результаты исследования обрабатывали с применением статистического пакета программы «STATISTICA® for Windows 7.0» (StatSoft Inc.). Учитывая соответствие распределения большинства количественных данных нормальному закону (по критерию Колмогорова-Смирнова – 100 %, Шапиро-Уилки – 62,5 %), оценку достоверности различий средних проводили по t-критерию Стьюдента с поправкой Бонферони (Bonferroni test) при множественных сравнениях; относительных показателей – по двустороннему точному критерию Фишера (Fisher exact).

**Результаты и их обсуждение.** Установлено, что у животных интактной группы патологических изменений в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) и СОЖ не обнаружено (табл. 1).

После воспроизведения модельной патологии установлено ухудшение общего состояния животных (они были насторожены, менее подвижны, с подавленным пищевым рефлексом по сравнению с крысами интактной группы) и развитие воспалительно-деструктивных поражений СОЖ средней степени тяжести язв ( $4,00 \pm 0,26$ ) балла, что обусловило величину язвенного индекса – 4,00. Кроме этого, у всех крыс отмечался сильный отек, гиперемия, нарушение складчатости, участки некроза, часто глубокие и массивные кровоизлияния в СОЖ и вздутие желудка (табл. 1).

Применение исследуемого ЭГВС в дозе 25 мг/кг приводило к угнетению течения язвенного процесса, а также достоверно снижало ССТЯ в 4,8 раз по сравнению с группой модельной патологии. Наблюдалось улучшение общего состояния животных, которые внешне не отличались от животных группы интактного контроля. ПЯА исследуемого ЭГВС в дозе 25 мг/кг при этом равнялась 86,1 %.

Препарат сравнения также проявлял положительный эффект, который отражает ПЯА 75,7 %, рассчитанная на основании ЯИ (0,97) и ССТЯ. Следует

Таблица 1

*Показатели противоязвенного действия экстракта густого водно-спиртового из незрелых плодов ореха грецкого и Альтана при лечебно-профилактическом режиме введения на модели острой индометациновой язвы желудка у крыс*

Экспериментальная группа, n = 6	Количество животных с язвами в группе, %	Средняя степень тяжести язв, балл, $M \pm m$	Язвенный индекс	Противоязвенная активность, %
Интактный контроль	–	–	–	–
Модельная патология	100	$4,0 \pm 0,26$	4,0	–
ЭГВС, 25 мг/кг	66,7	$0,83 \pm 0,31^*$	33,0	86,10
Альтан, 1 мг/кг	83,33	$1,17 \pm 0,31^*$	0,97	75,70

*Примечание.* \*Различия статистически достоверные по сравнению с группой контрольной патологии на уровне значимости ( $p < 0,05$  по t-критерию Стьюдента с поправкой Бонферони (Bonferroni test) при множественных сравнениях; относительных показателей – по двустороннему точному критерию Фишера (Fisher exact).

обратить внимание на то, что ССТЯ в группе крыс, леченных Альтаном, была достоверно снижена по сравнению с группой модельной патологии и составила ( $1,17 \pm 0,31$ ) балла. Количество животных с язвами в группе составило 83,33 %. Одновременно необходимо отметить, что внешне общее состояние крыс аналогично группе интактных животных и животных, которым вводили ЭГВС в дозе 25 мг/кг.

Вышеизложенное позволяет сделать вывод, что ЭГВС в дозе 25 мг/кг не уступает по ПЯА препарату сравнения Альтану при поражении желудка индометацином и проявляет гастропротек-

торное и противоязвенное действие за счет входящих в его состав гидролизированных танинов, производных нафтохинонов и элаговой кислоты.

Таким образом, лечебно-профилактическое введение белым крысам ЭГВС в дозе 25 мг/кг на фоне острой индометациновой язвы желудка приводит к выраженному терапевтическому эффекту: снижает выраженность дистрофических и некротических процессов в СОЖ, а также препятствует развитию воспалительных процессов в стенке желудка. Следует отметить, что фармакотерапевтическое действие ЭГВС в дозе 25 мг/кг

Таблица 2

*Биохимические показатели в сыворотке крови крыс при острой индометациновой язве желудка и лечебно-профилактическом введении экстракта густого водно-спиртового из незрелых плодов ореха грецкого,  $M \pm m$*

Биохимический показатель	Группа животных, n = 6			
	Интактный контроль	Модельная патология	Экстракт густого водно-спиртового из незрелых плодов ореха грецкого, 25 мг/кг	Альтан, 1 мг/кг
Общий белок, г/л	$76,66 \pm 0,97$	$55,45 \pm 1,11^*$	$69,07 \pm 0,70^{**/**}$	$64,37 \pm 0,85^{**}$
АсАТ, ммоль/л · ч	$0,48 \pm 0,01$	$1,09 \pm 0,04^*$	$0,64 \pm 0,02^{**/**}$	$0,90 \pm 0,04^{**}$
АлАТ, ммоль/л · ч	$0,57 \pm 0,02$	$0,99 \pm 0,01^*$	$0,75 \pm 0,02^{**/**}$	$0,82 \pm 0,02^{**}$
Общая α-амилаза, ед/л	$507,75 \pm 3,71$	$631,78 \pm 23,40^*$	$427,39 \pm 14,39^{**/**}$	$536,51 \pm 44,87^{**}$
Креатинин, мкмоль/л	$60,26 \pm 1,24$	$70,19 \pm 1,30^*$	$61,63 \pm 1,81^{**}$	$64,48 \pm 0,82^{**}$
Билирубин, ммоль/л	$8,46 \pm 0,40$	$23,14 \pm 0,58^*$	$12,55 \pm 0,72^{**/**}$	$22,28 \pm 0,56$
Мочевина, ммоль/л	$6,93 \pm 0,11$	$12,84 \pm 0,85^*$	$6,45 \pm 0,33^{**}$	$6,39 \pm 0,31^{**}$
Глюкоза, ммоль/л	$5,85 \pm 0,30$	$4,50 \pm 0,17^*$	$5,06 \pm 0,29$	$5,41 \pm 0,26^{**}$
Щелочная фосфатаза, ед/л	$205,88 \pm 6,53$	$403,46 \pm 5,11^*$	$289,99 \pm 2,21^{**/**}$	$368,21 \pm 6,33^{**}$
ГГТ, ед/л	$8,82 \pm 0,75$	$14,93 \pm 0,26^*$	$9,89 \pm 0,60^{**/**}$	$12,31 \pm 0,32^{**}$

*Примечание. \*Различия статистически достоверные по сравнению с группой интактного контроля,  $p < 0,05$  (по критерию t-Стьюдента), \*\*различия статистически достоверные по сравнению с группой контрольной патологии,  $p < 0,05$  (по критерию t-Стьюдента), \*\*\*различия статистически достоверные по сравнению с группой, получавшей Альтан,  $p < 0,05$  (по критерию t-Стьюдента).*

достоверно превосходит действие препарата сравнения – Альтана.

Полученные результаты макроскопического изучения ЭГВС в дозе 25 мг/кг были в данной серии опытов подтверждены биохимическими данными, исследованными в сыворотке крови крыс. Среди биохимических маркеров нами был выбран показатель состояния поджелудочной железы – активность общей  $\alpha$ -амилазы, показатели интенсивности цитолиза (активность ферментов АлАТ, АсАТ), показатели состояния репаративных процессов (уровень общего белка), показатель ускорения распада белка при желудочно-кишечном кровотечении (мочевина) и др. (табл. 2).

Из данных таблицы 2 видно, что формирование модельной патологии сопровождалось биохимическими изменениями в сыворотке крови: уровень  $\alpha$ -амилазы по сравнению с интактными животными увеличился на 24,43 %, что можно объяснить изменениями функционального состояния поджелудочной железы под токсическим воздействием индометацина. В то же время активность АлАТ увеличилась на 74,41 %, а АсАТ – на 128,57 %, что свидетельствует об интенсивном цитолизе. Содержание креатинина увеличилось на 16,48 %, мочевины – на 85,21 %, гамма-глутамилтранспептидазы – на 69,34 %, а содержание общего белка уменьшилось на 27,67 %, что может указывать на желудочное кровотечение и деструкцию тканей. Содержание билирубина увеличилось на 173,45 %, а содержание глюкозы уменьшилось на 23,05 %, что свидетельствует о нарушениях углеводного и пигментного обмена. Активность щелочной фосфатазы увеличилась на 95,96 %, что указывает на деструктивные процессы в печени, являясь маркером вторичного цитолиза [22–26].

Таким образом, в результате эксперимента установлено, что моделирование индометациновой язвы у крыс сопровождается изменениями биохимических показателей в сыворотке крови, свидетельствующих о развитии патологического процесса, нарушениях репаративных процессов и активации цитолиза.

Применение ЭГВС в дозе 25 мг/кг оказывало выраженное нормализующее действие на состояние биохимических показателей сыворотки крови крыс по сравнению с группой модельной патологии: уровень общего белка повысился на 24,56 %, глюкозы – на 12,48 %, а активность  $\alpha$ -амилазы уменьшилась на 32,35 %. Уровень креатинина уменьшился на 12,19 %, мочевины – на 49,77 %, щелочной фосфатазы – на 28,12 %, гамма-глутамилтранспептидазы – на 33,77 %, а билирубина – на 45,75 %, что свидетельствует о положительном влиянии ЭГВС в дозе 25 мг/кг и нормализации биохимических процессов на фоне моделированного патологического состояния. Активность АлАТ уменьшилась на 24,28 %, а активность АсАТ – на 41,16 % по сравнению с группой модельной патологии, на основании чего можно говорить о наличии мембраностабилизирующей и антиоксидантной активности ЭГВС в дозе 25 мг/кг [22–26].

Введение препарата сравнения – Альтана вызвало достоверные изменения в сторону улучшения биохимических показателей сыворотки крови крыс по сравнению с группой модельной патологии: содержание общего белка увеличилось на 16,30 %. Показатели активности АлАТ и АсАТ как маркеров, отражающих наличие мембраностабилизирующего действия референс-препарата, снизились на 17,37 и 17,68 % соответственно. Уровень общей  $\alpha$ -амилазы снизился на 15,08 %, а глюкозы в данном случае увеличился на 20,14 %. В то же время уровень таких показателей, как креатинин, мочевина, щелочная фосфатаза и гамма-глутамилтранспептидазы уменьшился на 10,98, 50,21, 8,73 и 17,53 % соответственно [22–26].

Анализируя полученные результаты, можно сделать вывод, что введение индометацина привело к развитию патологии – язвенного поражения желудка, о чем свидетельствуют данные макроскопического исследования СОЖ и биохимические показатели в сыворотке крови крыс.

Лечебно-профилактическое применение ЭГВС дозе 25 мг/кг при данной патологии оказывало выраженное про-

тивноязвенное действие, при этом фармакологический эффект изучаемого препарата не уступал активности референс-препарата, о чем свидетельствуют показатели макроскопического и биохимического исследования.

На основании полученных результатов можно предположить, что ЭГВС будет весьма полезным для коррекции деструкций слизистой оболочки желудка.

## Выводы

Проведенными исследованиями установлено, что ЭГВС при лечебно-профи-

лактическом введении в дозе 25 мг/кг проявляет гастропротекторные свойства на модели НПВС-индуцированной язвы желудка у крыс. Применение исследуемого ЭГВС приводило к угнетению течения язвенного процесса, а также достоверному снижению ССТЯ в 4,8 раза по сравнению с группой модельной патологии. ПЯА исследуемого ЭГВС в дозе 25 мг/кг составила 86,1 %, а препарата сравнения – 75,7 % соответственно.

1. Шигабутдинова Ф. Г. Роль фитотерапии в гастроэнтерологии / Ф. Г. Шигабутдинова // Альтернативная медицина. – 2004. – № 3. – С. 38–40.
2. Солодовниченко Н. М. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати / Н. М. Солодовниченко, М. С. Журавльов, В. М. Ковальов. – Харків : Вид-во НФаУ: «Золоті сторінки», 2001. – 408 с.
3. Куркин В. А. Фитотерапия гастрита и язвенной болезни / В. А. Куркин // Российские аптеки. – 2006. – № 6. – С. 12–14.
4. Ковальов В. М. Фармакогнозія з основами біохімії рослин / В. М. Ковальов, О. І. Павлій, Т. І. Ісакова. – Харків : «Прапор», вид. НФаУ, 2000. – 703 с.
5. Никонов Г. К. Основы современной фитотерапии / Г. К. Никонов, Б. М. Мануйлов. – Москва : Медицина, 2005. – 520 с.
6. Tree Nuts. (Walnut polyphenols: structures and functions) ; Ed. by Fereidoon Shahidi. – Boca Raton/London/ New York: CRC Press Taylor & Francis Grup, 2009. – 307 p.
7. Крупич Р. В. Дослідження вагових показників плодів горіхоплідних культур / Р. В. Крупич // Вісник Львівського національного аграрного університету. Сер : Агроінженерні дослідження. – 2013. – № 17. – С. 161–165.
8. Поперечний А. М. Цінність горіхової сировини та передумови до процесів її переробки / А. М. Поперечний, В. Г. Корнійчук // Обладнання та технології харчових виробництв: Збірник наукових праць. – Київ, 2009. – Вип. 20. – 5 с.
9. Научные основы здорового питания / В. А. Тутельян, А. И. Вялков, А. Н. Разумов [и др.]. – Москва ; ИД «Панорама», 2010. – 816 с.
10. Машковский М. Д. Лекарственные средства; 15-е изд., перераб. и доп./ М. Д. Машковский. – Москва : РИА Новая волна, 2008. – 1206 с.
11. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology: 3-d Ed. / Ed. by James Swarbrick. – New York /London : Informa Healthcare, 2007. – 4128 p.
12. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек.; за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – Київ : ВД «Авіцена», 2001. – 528 с.
13. Подходы к оценке эквивалентности воспроизведенных лекарственных средств в современной фармацевтической практике / К. С. Давыдова, И. Е. Шохин, Г. В. Раменская, В. Г. Кукес // Вісник фармації. – 2010. – № 3 (63),. – С. 66–68.
14. Levenstein S. The very model of a modern etiology : a biopsychosocial view of peptic ulcer / S. Levenstein // Psychosom. Med.– 2000. – V. 62, № 2. – P. 176–185.
15. Варванина Г. Г. Влияние НПВП на уровень простагландинов в эксперименте / Г. Г. Варванина, Е. В. Ткаченко, О. О. Грушецкая // Гастроэнтерология. – 2007. – № 1–2. – С. 16–19.
16. Варванина Г. Г. Изменение синтеза простагландинов под влиянием нестероидных противовоспалительных препаратов / Г. Г. Варванина, Е. В. Ткаченко, О. О. Грушецкая // Материалы VI съезда научного общества гастроэнтерологов России. – Москва, 2006. – С. 5–6.
17. Ивашкин В. Т. Эрозивно-язвенные поражения желудка и двенадцатиперстной кишки, обусловленные НПВС / В. Т. Ивашкин А. П. Шептулин // Врач. – 2001. – № 3. – С. 22–23.
18. Каратеев А. Е. Распространенность, структура и факторы риска развития гастропатий, индуцированных НПВП / А. Е. Каратеев, В. А. Насонова // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2000. – Т. 10, № 4. – С. 34–39.
19. Пентюк Н. О. Вплив недостатності вітамінів А і Є та додаткового введення ретинолу, токоферолу, селену та дибунолу на ультрогенну дію ортофену, напроксену та індометацину / Н. О. Пентюк, О. І. Остапчук, М. А. Станіславчук // Ліки. – 1998. – № 4. – С. 12–15.
20. Залигіна Є. В. Скринінгове дослідження противиразкової активності густих екстрактів незрілих плодів горіха волоського / Є. В. Залигіна, О. А. Подплетня // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2016. – № 6. – С. 47–52.

21. Энциклопедия клинических и лабораторных тестов ; под ред. Н. У. Тица [перевод с англ. под ред. В. В. Меньшикова]. – Москва : Лабинформ, 1997. – 948 с.
22. Андрушкевич В. В. Биохимические показатели крови, их референтные значения, причины изменения в сыворотке крови / В. В. Андрушкевич. – Новосибирск, 2006.
23. Клиническая биохимия; под ред. В. А. Ткачука. – 2-е изд., испр и доп. – Москва : «ГЭОТАР-Мед», 2004 р. – 512 с.
24. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – Москва : МЕДПресс-информ, 2004. – 920 с.
25. Painter P. C. Reference information for the clinical laboratory / P. C. Painter, J. Y. Cope, J. L. Smith // In. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz textbook of clinical chemistry. – Philadelphia : WB Saunders company, 1999. – 1803 p.
26. Маршалл В. Дж. Клиническая биохимия; пер. з англ. / В. Дж. Маршалл. – Москва–Санкт-Петербург : «Издательство БИНОМ» – «Невский диалект», 2000. – 368 с.

**Е. В. Залыгина, Е. А. Подплетня**

### **Исследование противоязвенной активности густого экстракта из незрелых плодов ореха грецкого на модели индометацин-индуцированной язвы желудка у крыс**

Из данных литературы известно, что в состав плодов ореха грецкого входят танины, производные элаговой кислоты, катехины, производные декарбокислированных кислот, нуклеиновые кислоты, аминокислоты, которые независимо друг от друга оказывают антиоксидантный, гипогликемический, антипролиферативный, противомикробный, противовоспалительный и много других полезных эффектов в организме человека. Однако отсутствуют экспериментальные данные относительно влияния экстракта густого водно-спиртового из незрелых плодов ореха грецкого (ЭГВС) на язвы желудка крыс, вызванные введением индометацина.

*Цель исследования* – изучение гастропротекторного действия ЭГВС на модели индометацин-индуцированной язвы желудка у крыс.

Фармакологическое исследование противоязвенной активности ЭГВС проводили на модели индометацин-индуцированной язвы желудка, воспроизводимой у крыс. Биохимические исследования сыворотки крови проводили с использованием стандартных тест наборов НПП «Филисит-Диагностика» (Украина) согласно общепринятым методикам. Результаты исследования обрабатывали с применением статистического пакета программы «STATISTICA® for Windows 7.0» (StatSoft Inc.).

По результатам изучения гастропротекторного действия ЭГВС в дозе 25 мг/кг установлено наличие язв желудка в данной группе животных, достоверно меньших по размеру по сравнению с группой модельной патологии ( $p < 0,05$ ). В группе животных, леченных ЭГВС в дозе 25 мг/кг, показатель противоязвенной активности составил 86,1 %. Применение исследуемого экстракта оказывало выраженное нормализующее действие на биохимические показатели сыворотки крови крыс по сравнению с группой модельной патологии.

Введение в лечебно-профилактическом режиме исследуемого ЭГВС в дозе 25 мг/кг обеспечивает противоязвенную активность на модели острой язвы желудка у крыс, вызванной введением индометацина. Кроме этого, активность исследуемого ЭГВС в дозе 25 мг/кг не уступает активности препарата сравнения – Альтана.

*Ключевые слова:* орех грецкий, густой экстракт, противоязвенная активность, язвенная болезнь, фитопрепараты

**Є. В. Залігіна, О. А. Подплетня**

### **Дослідження противиразкової активності густого екстракту з незрілих плодів горіха волоського на моделі індометацин-індукованої виразки шлунка в щурів**

З даних літератури відомо, що до складу плодів горіха волоського входять таніни, похідні елагової кислоти, катехіни, похідні декарбокислизованих кислот, нуклеїнові кислоти, амінокислоти, які незалежно один від одного виявляють антиоксидантний, гіпоглікемічний, антипроліферативний, протимікробний, протизапальний і багато інших корисних ефектів в організмі людини. Однак відсутні експериментальні дані щодо впливу екстракту густого водно-спиртового з незрілих плодів горіха волоського (ЕГВС) на виразки шлунка в щурів, викликані введенням індометацину.

*Мета дослідження* – вивчення гастропротекторної дії ЕГВС на моделі індометацин-індукованої виразки шлунка в щурів.

Фармакологічне дослідження противиразкової активності ЕГВС проводили на моделі індометацин-індукованої виразки шлунка. Біохімічні дослідження сироватки крові проводили з використанням стандартних тест наборів НВП «Філісіт-Діагностика» (Україна) відповідно до загальноприйнятих методик. Результати дослідження обробляли із застосуванням статистичного пакета програми «STATISTICA® for Windows 7.0» (StatSoft Inc.).

За результатами вивчення гастропротекторної дії ЕГВС у дозі 25 мг/кг встановлено наявність виразок шлунка в даній групі тварин, достовірно менших за розміром порівняно з групою модельної



---

---

патології ( $p < 0,05$ ). У групі тварин, яких лікували ЕГВС у дозі 25 мг/кг, показник противиразкової активності склав 86,1 %. Застосування досліджуваного екстракту має виражений нормалізуючий вплив на біохімічні показники сироватки крові щурів порівняно з групою модельної патології.

Уведення в лікувально-профілактичному режимі досліджуваного ЕГВС у дозі 25 мг/кг забезпечує противиразковий ефект на моделі гострої виразки шлунка в щурів, викликаній індометацином. Крім цього, активність досліджуваного ЕГВС у дозі 25 мг/кг не поступається препарату порівняння – Альтану.

*Ключові слова: горіх волоський, густий екстракт, противиразкова активність, виразкова хвороба, фітопрепарати*

**I. V. Zalygina, E. A. Podpletnya**

### **Investigation of antiulcer activity of the thick extract of immature walnut fruits under the model of indometacin-induced gastric ulcer of rats**

From the literature, it is known that the walnut composition includes tannins, derivatives of ellagic acid, catechins, derivatives of decarboxylated acids, nucleic acids, amino acids that independently of one another have antioxidant, hypoglycemic, antiproliferative, antimicrobial, anti-inflammatory and many other beneficial effects in the human body. However, there is no experimental data on the effect of the thick water-alcohol extract from immature walnut fruit (ETWA) at gastric ulcer of rats caused by the introduction of indometacin.

*The aim of the work* was to study the gastroprotective effect of ETWA under the model of indometacin-induced gastric ulcer of rats.

Pharmacological study of antiulcer activity of ETWA was performed under the model of indometacin-induced gastric ulcer, reproducible in rats. Biochemical studies of blood plasma were carried out using standard test kits of NPP «Phyllis-Diagnosis» (Ukraine) according to generally accepted methods. The results of the study were processed using a statistical package of the program «STATISTICA® for Windows 7.0» (StatSoft Inc.).

Based on the results of the study of the gastroprotective effect of ETWA at a dose of 25 mg/kg stomach ulcers in this group of animals were found to be significantly smaller in size than in the group of model pathology ( $p < 0,05$ ) and the indicator of antiulcer activity was 86,1 %. The administration of the extract had a pronounced normalizing effect on the biochemical parameters of rats blood serum in comparison with the group of model pathology.

Administration in the treatment-and-prophylactic regimen of the studied ETWA at a dose of 25 mg/kg provides antiulcer activity under the model of acute gastric ulcer caused by indometacin administration. In addition, the activity of the studied ETWA at a dose of 25 mg/kg is not inferior then activity of the reference preparation – Altan.

*Key words: walnut, thick extract, antiulcer activity, peptic ulcer, phytopreparations*

*Надійшла: 12 квітня 2017 р.*

---

**Контактна особа:** Залигіна Євгенія Володимирівна, викладач, здобувач, кафедра загальної та клінічної фармації, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», буд. 9, вул. Володимира Вернадського, м. Дніпро, 49044. Тел.: + 38 0 56 713 52 57.  
Електронна пошта: avis.rara@hotmail.com

О. Ю. Ісаєнко<sup>1</sup>, О. В. Книш<sup>1</sup>, Є. М. Бабич<sup>1</sup>, С. В. Зачепило<sup>2</sup>,  
О. М. Савінова<sup>1</sup>, О. А. Набойченко<sup>1</sup>

## Протимікробна активність продуктів метаболізму *Saccharomyces boulardii* відносно тест-культур стафілококів і коринебактерій

<sup>1</sup>Державна установа «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова  
Національної академії медичних наук України», м. Харків

<sup>2</sup>Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна  
академія», м. Полтава

**Ключові слова:** продукти метаболізму, *Saccharomyces boulardii*, протимікробна активність, стафілококи, коринебактерії

Дослідження останніх років доводять, що основні ефекти пробіотичних препаратів досягаються саме завдяки продуктам життєдіяльності мікроорганізмів – екзопродуктам. Метаболітні пробіотики розглядають як окремий клас пробіотичних препаратів з ефективністю, збіваючою з дією пробіотиків, до складу яких входять продуценти [1, 2]. Беручи до уваги ряд недоліків клітинної пробіотикотерапії та обнадійливі результати застосування деяких зарубіжних метаболітних пробіотиків [1, 3, 4], видаються перспективними подальші дослідження, спрямовані на розробку нових вітчизняних засобів боротьби з дисбіозами та інфекційними захворюваннями на основі екзопродуктів пробіотиків.

Сахароміцети не є класичними пробіотиками, так як не відносяться до представників нормальної мікрофлори здорової людини та не колонізують кишечник. Але здатність позитивно впливати на ріст ендогенної кишкової флори та функції шлунково-кишкового тракту стали підставою для віднесення цих мікроорганізмів до пробіотиків. Гриби сахароміцети мають пряму антагоністичну дію відносно багатьох видів патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів, здатних викликати кишкові інфекції. Вони також мають безумовну перевагу перед бактеріальними пробіотиками – характеризуються природною стійкістю до антибіотиків і не здатні передавати генетичні фактори резистентності бактеріям. На

особливу увагу заслуговують дані щодо ефективності застосування сахароміцетів при лікуванні антибіотик-асоційованих та вірусних діарей. Крім того, доведено їхню антиоксидантну дію відносно ентеротоксинів та цитотоксинів [5–7]. Відсутність інформації про антагоністичні властивості сахароміцетів і продуктів їхнього метаболізму щодо патогенних коринебактерій й умовно-патогенних представників мікрофлори верхніх дихальних шляхів свідчить про доцільність проведення досліджень у цьому напрямі з одночасним визначенням оптимальних способів і умов одержання продуктів метаболізму з високою пробіотичною активністю.

**Мета дослідження** – оцінити перспективність застосування продуктів метаболізму *Saccharomyces boulardii* для розробки протистафілококових і протидифтерійних засобів.

**Матеріали та методи.** Як продуценти метаболітів були використані гриби *Saccharomyces boulardii* з пробіотичного препарату BULARDI®, Schonen, Швейцарія. У роботі досліджені тест-штами культур: циркулюючий штам *Staphylococcus epidermidis* № 558, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Corynebacterium xerosis* № 41, *Corynebacterium diphtheriae gravis tox+* № 11.

**Отримання метаболітів.** З добової культури сахароміцетів готували суспензії клітин різної оптичної густини: 1; 5; 10; 15 одиниць за шкалою Мак-Фарланда та здійснювали інокуляцію в 1 % цукровий бульйон у співвідношенні 1:9, досягаючи різної вихідної концентрації клітин. Отримані суспензії інкубували протягом 24, 48 та 72 год за

температури 37 °С, вимірюючи оптичну густину бульйонних культур через кожні 24 год. Після інкубації бульйонні культури центрифугували при 3000 об/хв впродовж 60 хв. Надосадову культуральну рідину фільтрували, використовуючи стерильні мембранні фільтри з діаметром пор 0,2 мкм (Владіпор, Росія).

Дослідження протимікробної активності метаболітів у рідкому середовищі проводили наступним чином: у ряд пробірок вносили фільтрати, отримані після 24-, 48-, 72-год культивування сахароміцетів різних вихідних концентрацій (А, В, С, D), та фільтрат культуральної рідини з найнижчою вихідною концентрацією посівного матеріалу, розведений цукровим бульйоном: А1 (1:19); А2 (1:9); А3 (1:1). Додавали бактеріальну суспензію тест-штамів з оптичною густиною 1,0 за шкалою МакФарланда. Співвідношення об'ємів культуральної рідини та суспензії тест-штаму складало 9:1. Контрольні проби містили 1 % цукровий бульйон і відповідну тест-культуру. Дослідні та контрольні проби витримували при температурі 37 °С протягом 2, 24, 48 год. З метою визначення характеру антимікробної дії метаболітів – бактеріостатичної чи бактеріцидної, з проб, в яких після експозиції були відсутні візуальні ознаки росту тест-штаму в рідкому середовищі (прозоре середовище), здійснювали висів на відповідне тверде поживне середовище – кров'яний або жовтково-сольовий агар.

Усі дослідні проби проводили в чотирьох повторях. Визначали середні значення отриманих показників (М) та їхні стандартні відхилення ( $\pm m$ ). Достовірність

різниці між отриманими показниками визначали за допомогою критерію Стюдента. Статистичну обробку результатів експериментів здійснювали з використанням програмного пакета Microsoft Excel 2010.

**Результати та їх обговорення.** Приріст біомаси продуцента метаболітів спостерігали протягом усього терміну дослідження, про що свідчить постійне збільшення оптичної густини бульйонних культур сахароміцетів. Але швидкість збільшення є найвищою протягом першої доби культивування й поступово знижується впродовж наступних двох діб. Причому, чим нижчою є вихідна концентрація клітин у зразку, тим швидше збільшується його оптична густина. Через 72 год культивування показники оптичних густин усіх чотирьох зразків є близькими й відповідають концентраціям клітин у межах одного порядку (табл. 1).

Експозиція тест-штамів у фільтратах 24-год бульйонних культур сахароміцетів протягом 2 год не пригнічує ріст стафілококів та *Corynebacterium diphtheriae*, але виявляє бактерицидний ефект фільтратів С і D відносно *Corynebacterium xerosis* (табл. 2). Через 24 год експозиції пригнічується ріст обох видів стафілококів: *Staphylococcus epidermidis* – у фільтратах В, С та D та *Staphylococcus aureus* – у фільтратах С та D. Бактерицидна дія відносно коринебактерій спостерігається через 24 год експозиції в усіх фільтратах, крім розведених зразків. Через 48 год витримки виявляється бактерицидний вплив нерозведених фільтратів на коринебактерії, бактеріостатичний ефект фільтратів В,

Таблиця 1

*Показники оптичної густини бульйонних культур Saccharomyces boulardii з різною вихідною концентрацією продуцента метаболітів за різної тривалості культивування, М  $\pm$  m (n = 4)*

№ п/п	Зразок бульйонних культур <i>Saccharomyces boulardii</i>	Показник оптичної густини за шкалою МакФарланда (одиниці мутності) у різні терміни культивування			
		вихідні	через 24 год	через 48 год	через 72 год
1	А	0,52 $\pm$ 0,70	5,0 $\pm$ 0,9*	7,0 $\pm$ 0,45*	8,75 $\pm$ 0,80*
2	В	1,05 $\pm$ 0,15	6,30 $\pm$ 0,90*	8,20 $\pm$ 0,50*	8,90 $\pm$ 0,50*
3	С	1,95 $\pm$ 0,35	7,75 $\pm$ 0,80*	8,40 $\pm$ 0,75*	9,35 $\pm$ 0,85*
4	Д	3,10 $\pm$ 0,65	8,40 $\pm$ 0,60*	8,85 $\pm$ 0,55*	9,90 $\pm$ 0,84*

Примітка. \*Статистично достовірні відмінності ( $p < 0,05$ ) відносно вихідного значення.

**Життєздатність тест-культур стафілококів та коринебактерій за впливу фільтратів 24-год бульйонних культур грибів *Saccharomyces boulardii***

№ п/п	Тест-культура	Час експозиції, год	Фільтрат бульйонних культур <i>Saccharomyces boulardii</i>							Цукровий бульйон
			A1	A2	A3	A	B	C	D	
1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	+	+	+	+	+	+	+	+
		24	+	+	+	+	±	±	±	+
		48	+	+	+	+	±	±	±	+
2	<i>Staphylococcus aureus</i>	2	+	+	+	+	+	+	+	+
		24	+	+	+	+	+	±	±	+
		48	+	+	+	+	+	±	±	+
3	<i>Corynebacterium xerosis</i>	2	+	+	+	+	+	-	-	+
		24	+	+	+	-	-	-	-	+
		48	+	+	+	-	-	-	-	+
4	<i>Corynebacterium diphtheriae gravis tox+</i>	2	+	+	+	+	+	+	+	+
		24	+	+	+	-	-	-	-	+
		48	+	+	+	-	-	-	-	+

Примітка. Тут і в табл. 3-4: + наявний ріст культури в рідкому й на твердому поживних середовищах, ± бактеріостатичний ефект, - бактерицидний ефект.

C, D – на *Staphylococcus epidermidis*, C та D – на *Staphylococcus aureus*.

2-год експозиція у фільтратах 48-год бульйонних культур сахароміцетів не пригнічує ріст стафілококів та *Corynebacterium diphtheriae*, але фільтрати C та D мають бактерицидний вплив на *Corynebacterium xerosis* (табл. 3). Після 24- та 48-год експозиції спостерігається пригнічення росту *Staphylococcus epidermidis* в усіх нерозведених фільтратах, а *Staphylococcus aureus* – у фільтратах B, C та D. Усі нерозведені фільтрати 48-год бульйонних культур сахароміцетів після 24- та 48-год витримки виявляють бактерицидну, а розведений 1:1 фільтрат А – бактеріостатичну дію відносно коринебактерій.

Витримка протягом 2 год у фільтратах 72-год бульйонних культур грибів *Saccharomyces boulardii* не призводить до пригнічення росту тест-культур стафілококів та *Corynebacterium diphtheriae* (табл. 4). У той самий час фільтрати C та D проявляють бактерицидну дію на *Corynebacterium xerosis*

після 2-год витримки. 24- та 48-год експозиція має результатом бактеріостатичний ефект відносно *Staphylococcus epidermidis* нерозведених фільтратів, відносно *Staphylococcus aureus* – фільтратів B, C та D. Бактерицидний ефект нерозведених фільтратів відносно коринебактерій спостерігається після 24- та 48-год витримки. Розведений 1:1 фільтрат А пригнічує ріст коринебактерій протягом 24- та 48-год експозиції.

#### Висновки

Таким чином, нами досліджено протимікробну активність продуктів метаболізму *Saccharomyces boulardii*, накопичених у культуральній рідині в період інтенсивного приросту біомаси продуцента. Отримані дані свідчать про те, що продукти метаболізму бульйонної культури сахароміцетів мають виражені протимікробні властивості відносно коринебактерій та стафілококів. Коринебактерії виявилися більш чутливими до метаболітів *Saccharomyces boulardii*,

Таблиця 3

*Життєздатність тест-культур стафілококів та коринебактерій за впливу фільтратів 48-год бульйонних культур грибів *Saccharomyces boulardii**

№ п/п	Тест-культура	Час експозиції, год	Фільтрат бульйонних культур <i>Saccharomyces boulardii</i>							Цукровий бульйон
			A1	A2	A3	A	B	C	D	
1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	+	+	+	+	+	+	+	+
		24	+	+	+	±	±	±	±	+
		48	+	+	+	±	±	±	±	+
2	<i>Staphylococcus aureus</i>	2	+	+	+	+	+	+	+	+
		24	+	+	+	+	±	±	±	+
		48	+	+	+	+	±	±	±	+
3	<i>Corynebacterium xerosis</i>	2	+	+	+	+	+	-	-	+
		24	+	+	±	-	-	-	-	+
		48	+	+	±	-	-	-	-	+
4	<i>Corynebacterium diphtheriae gravis tox+</i>	2	+	+	+	+	+	+	+	+
		24	+	+	±	-	-	-	-	+
		48	+	+	±	-	-	-	-	+

Таблиця 4

*Життєздатність тест-культур стафілококів та коринебактерій за впливу фільтратів 72-год бульйонних культур грибів *Saccharomyces boulardii**

№ п/п	Тест-культура	Час експозиції, год	Фільтрат бульйонних культур <i>Saccharomyces boulardii</i>							Цукровий бульйон
			A1	A2	A3	A	B	C	D	
1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	+	+	+	+	+	+	+	+
		24	+	+	+	±	±	±	±	+
		48	+	+	+	±	±	±	±	+
2	<i>Staphylococcus aureus</i>	2	+	+	+	+	+	+	+	+
		24	+	+	+	+	±	±	±	+
		48	+	+	+	+	±	±	±	+
3	<i>Corynebacterium xerosis</i>	2	+	+	+	+	+	-	-	+
		24	+	+	±	-	-	-	-	+
		48	+	+	±	-	-	-	-	+
4	<i>Corynebacterium diphtheriae gravis tox+</i>	2	+	+	+	+	+	+	+	+
		24	+	+	±	-	-	-	-	+
		48	+	+	±	-	-	-	-	+

ніж стафілококи. Результати досліджень вказують на залежність протимікробної активності фільтратів від посівної дози грибів і часу експозиції тест-штаму в зразках фільтратів, що містять метаболіти. 48-год фільтрати бульйонних культур *Saccharomyces*

*boulardii* показали більш високу протимікробну активність відносно досліджуваних тест-штамів, ніж 24-год фільтрати. У той самий час нами не виявлено різниці між протимікробною активністю 48- та 72-год бульйонних культур пробіотика.



1. Плоскирева А. А. Место метаболитных пробиотиков в практике клинициста / А. А. Плоскирева, А. В. Горелов // РМЖ. – 2014. – № 3. – С. 232–236.
2. Молохова Е. И. Разработки отечественных метаболитных пробиотиков и их стандартизация / Е. И. Молохова, Ю. В. Сорокина // Сибирский медицинский журнал (г. Томск). – 2011. – Т. 26, № 1-1. – С. 29–33.
3. Несчислаев В. А. Исследование специфической активности комплексного метаболитного пробиотика / В. А. Несчислаев, Т. В. Крылова, Л. П. Чистохина // Биопрепараты. Профилактика. Диагностика. Лечение. – 2013. – № 2(46). – С. 32–34.
4. Пробиотики: вектор развития [Электронный ресурс] / И. Ю. Чичерин, И. П. Погорельский, И. В. Дармов [и др.] // Инновационный сборник научных статей «Кишечная микрофлора: взгляд изнутри». – 2013. – Режим доступа до ресурсу: <http://gastroportal.ru/files/mikroflora.pdf>.
5. Пробиотики и пребиотики [Электронный ресурс] // Всемирная Гастроэнтерологическая Организация. Практические рекомендации. – 2008. – Режим доступа до ресурсу: <http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-russian-2008.pdf>.
6. Щербенков И. М. Острая ротавирусная инфекция у детей [Электронный ресурс] / И. М. Щербенков // Участковый педиатр. Приложение к журналу Consilium Medicum. – 2014. – № 1. – С. 17. Режим доступа: [http://con-med.ru/magazines/pediatrist/pediatrist-01-2014/ostraya\\_rotavirusnaya\\_infektsiya\\_u\\_detey/](http://con-med.ru/magazines/pediatrist/pediatrist-01-2014/ostraya_rotavirusnaya_infektsiya_u_detey/)
7. Effectiveness and safety of *Saccharomyces boulardii* for acute infectious diarrhea / E. C. Dinleyici [et al.] // Expert Opin Biol Ther. – 2012. – V. 12, № 4. – P. 395–410.

**О. Ю. Исаенко, О. В. Книш, Е. М. Бабич, С. В. Зачепило, О. М. Савинова, О. А. Набойченко**

### **Протимікробна активність продуктів метаболізму *Saccharomyces boulardii* відносно тест-культур стафілококів та коринебактерій**

Основні ефекти пробіотичних препаратів досягаються завдяки продуктам життєдіяльності мікроорганізмів – екзометаболітам. Розробка нових вітчизняних засобів боротьби з дисбіозами та інфекційними захворюваннями на основі екзометаболітів пробіотиків сьогодні є актуальною.

*Мета дослідження* – оцінити перспективність застосування продуктів метаболізму *Saccharomyces boulardii* при розробці протистафілококових та протидифтерійних засобів.

У дослідженні вивчено протимікробну дію фільтратів бульйонних культур сахароміцетів на тест-культури: циркулюючий штам *Staphylococcus epidermidis* № 558, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Corynebacterium xerosis* № 41, *Corynebacterium diphtheriae gravis tox+* № 11.

Продукти метаболізму бульйонної культури сахароміцетів показали виражені протимікробні властивості відносно коринебактерій та стафілококів. Коринебактерії виявилися більш чутливими до метаболітів *Saccharomyces boulardii*, ніж стафілококи. Протимікробна активність фільтратів залежить від посівної дози грибів і часу експозиції тест-штаму в зразках фільтратів, що містять метаболіти. Важливим чинником, що впливає на вираженість протимікробної дії фільтратів, є тривалість культивування продуцента.

Отримані дані свідчать про перспективність розробки протидифтерійних та протистафілококових засобів на основі екзометаболітів пробіотичного штаму *Saccharomyces boulardii*.

*Ключові слова*: продукти метаболізму, *Saccharomyces boulardii*, протимікробна активність, стафілококи, коринебактерії

**А. Ю. Исаенко, А. В. Книш, Е. М. Бабич, С. В. Зачепило, А. М. Савинова, О. А. Набойченко**

### **Противомикробная активность продуктов метаболизма *Saccharomyces boulardii* по отношению к тест-культурам стафилококков и коринебактерий**

Основные эффекты пробиотических препаратов достигаются благодаря продуктам жизнедеятельности микроорганизмов – экзометаболитам. Разработка новых отечественных средств борьбы с дисбиозами и инфекционными заболеваниями на основе экзометаболитов пробиотиков на сегодняшний день является актуальной.

*Цель исследования* – оценить перспективность применения продуктов метаболизма *Saccharomyces boulardii* при разработке противостафилококковых и противодифтерийных средств.

В работе изучено противомикробное действие фильтратов бульонных культур сахароміцетов на тест-культуры: циркулирующий штамм *Staphylococcus epidermidis* № 558, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Corynebacterium xerosis* № 41, *Corynebacterium diphtheriae gravis tox+* № 11.

Продукты метаболизма бульонной культуры сахароміцетов показали выраженные противомикробные свойства по отношению к коринебактериям и стафилококкам. Коринебактерии оказались более чувствительными к метаболитам *Saccharomyces boulardii*, чем стафилококи. Противомикробная активность фильтратов зависит от посевной дозы грибов и времени экспозиции тест-штамма в образцах фильтратов, содержащих метаболиты. Важным фактором, влияющим на выраженность противомикробного действия фильтратов, является продолжительность культивирования продуцента.

---

---

Полученные данные свидетельствуют о перспективности разработки противодифтерийных и противостафилококковых средств на основе экзометаболических продуктов пробиотического штамма *Saccharomyces boulardii*.

*Ключевые слова:* продукты метаболизма, *Saccharomyces boulardii*, противомикробная активность, стафилококки, коринебактерии

**O. Yu. Isayenko, O. V. Knysh, E. M. Babych, S. V. Zachepylo, O. M. Savinova,  
O. A. Naboychenko**

**Antimicrobial activity of metabolites of *Saccharomyces boulardii* against test cultures of *Staphylococci* and *Corynebacteria***

Main effects of probiotics are achieved due to the products of microorganism's vital activity – exometabolites. The development of new domestic remedies against dysbiosis and infectious diseases on the basis of exometabolites of probiotics is relevant for today.

The aim of the study is to evaluate the prospects of usage of metabolic products of *Saccharomyces boulardii* for the development of anti-staphylococcal and anti-diphtheria agents.

Antimicrobial activity of filtrates of *Saccharomycetes* broth cultures on test cultures: the circulating strain of *Staphylococcus epidermidis* № 558, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Corynebacterium xerosis* № 41, *Corynebacterium diphtheriae gravis tox+* №11 was studied.

Metabolic products of the broth culture of *Saccharomyces boulardii* showed pronounced antimicrobial properties against *Corynebacteria* and *Staphylococci*. *Corynebacteria* appeared more sensitive to *Saccharomyces boulardii* metabolites than *Staphylococci*. Antimicrobial activity of the filtrates depends on the seed dose of fungi and the exposure time of the test strain in the samples of filtrates containing metabolites. Cultivation period of the producer is important factor that influencing on the intensity of antimicrobial activity of filtrates.

The data obtained indicate the prospects of development of anti-diphtheria and anti-staphylococcal agents on the basis of the exometabolites of the *Saccharomyces boulardii* probiotic strain.

*Key words:* metabolic products, *Saccharomyces boulardii*, antimicrobial activity, *Staphylococcus*, *Corynebacteria*

---

Надійшла: 19 травня 2017 р.

**Контактна особа:** Ісаєнко О. Ю., ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України», буд. 14/16, вул. Пушкінська, м. Харків, 61057. Тел.: + 38 0 57 731 31 51.

О. М. Калапко, С. Ю. Штриголь, С. І. Мерзлікін

## Порівняльне дослідження ефективності N,N'-(етан-1,2-диіл)біс(хінолін-2-карбоксаміду), діакамфу гідрохлориду та метформіну на моделі інсулінорезистентності

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

*Ключові слова:* діабет, експериментальні моделі, метаболічний синдром, N,N'-(етан-1,2-диіл)біс(хінолін-2-карбоксамід), метформін, діакамфу гідрохлорид

Всесвітня організація охорони здоров'я характеризує метаболічний синдром (МС) як пандемію XXI століття. Наявність МС у 3–6 разів підвищує ризик розвитку серцево-судинних ускладнень і є економічним тягарем системи охорони здоров'я в Україні та світі [1]. МС – це симптомокомплекс взаємопов'язаних патологій, зокрема, артеріальної гіпертензії, цукрового діабету (ЦД) 2 типу, дисліпідемії, ожиріння, в окремих випадках ще й гіперурикемії. До 2025 року число хворих на МС у світі досягне 300 млн [2]. До основних факторів розвитку МС належать інсулінорезистентність (ІР) та гіперінсулінемія. За умов ІР знижується утилізація глюкози периферичними тканинами, виникає гіперглікемія. Постійна стимуляція  $\beta$ -клітин сприяє розвитку їхньої секреторної дисфункції з прогресуючим порушенням секреції інсуліну. Поступово формується порушення толерантності до глюкози і як наслідок – ЦД 2 типу [3]. Адекватне лікування має велике клінічне значення, оскільки дозволяє досягти зменшення виразності проявів МС та запобігти розгорнутій клініці ЦД 2 типу. Досить висока поширеність МС (25–40 % у популяції дорослих) і необхідність в основному медикаментозної корекції його складових зумовлюють необхідність раціоналізації фармакотерапії.

На шляху пошуку нових антидіабетичних засобів привертає увагу N,N'-(етан-1,2-диіл)біс(хінолін-2-карбоксамід) (N,N'-ЕБХК). Ця сполука, що відома протипухлинними властивостями за рахунок активації каспаз-3 [4] та індукції апоптозу, чинить гіпоглікемічний ефект на моделі алоксанового ЦД за різних шляхів введення, виявляючи властивості агоніста імідазолінових рецепторів типів І1 і І2, що нетипово для відомих протидіабетичних препаратів [5, 6]. N,N'-ЕБХК має досить низьку токсичність при внутрішньошлунковому (в/ш) введенні (IV клас токсичності,  $LD_{50} = 633,45$  мг/кг) і велику широту терапевтичної дії. Ефективні дози N,N'-ЕБХК на моделі алоксанового ЦД складають 7,92–31,67 мг/кг з нелінійною залежністю «доза-ефект»,  $ED_{50} = 11,64$  мг/кг, терапевтичний індекс – 54,42 [6]. При внутрішньоочеревинному (в/о) введенні N,N'-ЕБХК у дозі 1,5 мг/кг знижує глікемію на моделі алоксанового ЦД у щурів, перевищуючи ефект метформіну в дозі 100 мг/кг, а  $LD_{50} = 10,005$  мг/кг (III клас токсичності – помірно токсичні речовини) [6]. Відсутність цукрознижувальної дії N,N'-ЕБХК на фоні нормоглікемії (при в/ш введенні вона виявляється лише у високій дозі 15 мг/кг) вигідно відрізняє цю сполуку від похідних сульфонілсечовини. При в/ш введенні N,N'-ЕБХК у дозі 11,64 мг/кг на моделі алоксанового ЦД (гостра стадія – 3 доба, період максимального руйнування  $\beta$ -клітин [7]) нормалізує вплив на вуглеводневий та білковий обмін. Гістологічно доведено його здатність посилювати регенерацію інкреторного апарату підшлункової залози за рахунок мітозу інсуліноцитів, знижувати апоптоз  $\beta$ -клітин і гепатоцитів, зменшувати морфологічні ознаки дистрофічних змін судинної стінки. N,N'-ЕБХК

сприяє відновленню антиоксидантного захисту та кислотно-лужної рівноваги, нормалізує вміст інсуліну та прозапального маркера TNF- $\alpha$  [8]. Отже, політропний механізм дії, антиоксидантні та імунотропні властивості N,N'-ЕБХК зумовлюють перспективи подальшого вивчення, зокрема, впливу на складові МС – ІР, глюкозотолерантність та дисліпідемію. Схожі з N,N'-ЕБХК властивості виявляють діакамфу гідрохлорид (ДГ) та метформін [8].

*Мета дослідження* – визначити вплив N,N'-ЕБХК на ІР, толерантність до глюкози, показники ліпідного обміну порівняно з ДГ і метформіном, а також можливу роль I<sub>1</sub>- та I<sub>2</sub>-рецепторів у механізмі дії N,N'-ЕБХК на моделі ІР.

**Матеріали та методи.** Дослідження проводили на 47 білих статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою 290–320 г. Тварин утримували в стандартних умовах віварію ЦНДЛ НФаУ згідно з правилами GLP та Національними «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах» (Україна, 2001 р.), що відповідають положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.) [9] та IV Національного конгресу з біоетики (Київ, 2010 р.). Евтаназію проводили під наркозом (тіопентал натрію в/о, 80 мг/кг), антикоагулянт – гепарин *in vitro*. Шляхом вільного доступу тварин до 30 % розчину сахарози замість питної води протягом одного місяця [10] відтворювали ІР. Ця модель, як і тривале навантаження глюкозою [11], відтворює головні ланки патогенезу предіабету.

N,N'-ЕБХК синтезовано на кафедрі органічної хімії Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна кандидатом хімічних наук Б. В. Папоновим. Для порівняння використано метформін («Sigma», США) та ДГ, який отримано на кафедрі лікарської та аналітичної токсикології НФаУ доктором фармацевтичних наук, професором С. І. Мерзлікіним. Антигіперглікемічна дія діакамфу та його водорозчинної солі ДГ зумовлена стимуляцією панкреатичних  $\beta$ -клітин, I<sub>2</sub>-імідазолінових

рецепторів, зменшенням ІР, потужною антиоксидантною активністю. Він ефективний на різних моделях ЦД та має цінні церебропротекторні та ноотропні властивості, у механізмі яких бере участь стимуляція I<sub>1</sub>-імідазолінових рецепторів [12–15]. Метформін широко застосовується за ЦД 2 типу. Він сприяє поглинанню та утилізації глюкози м'язовою тканиною, усуває ІР, пригнічує глюконеогенез [16]. Метформін ефективний також на алоксановій моделі, що за особливостями патогенезу наближається до ЦД 1 типу, а за останніми даними в механізмі його дії бере участь стимуляція I<sub>2</sub>-імідазолінових рецепторів [15, 16]. Отже, доцільно було порівняти N,N'-ЕБХК з ДГ та метформіном.

Для визначення рецепторного механізму дії N,N'-ЕБХК використано ефароксан («Sigma», США) – блокатор I<sub>1</sub>-імідазолінових рецепторів (5 мг/кг в/о), та 2-(4,5-дигідроімідазол-2-іл)хіноліну гідрохлорид (1,5 мг/кг в/о) – блокатор I<sub>2</sub>-рецепторів, синтезований на кафедрі органічної хімії Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна кандидатом хімічних наук Б. В. Папоновим.

Щурів розділили на 7 груп: 1 група – інтактний контроль (ІК) (n = 5); 2 – контрольна патологія (КП): модель ІР без лікування (n = 5); 3 – тварини з ІР, яким вводили N,N'-ЕБХК у ЕД<sub>50</sub> 11,64 мг/кг в/ш (n = 7); 4 – тварини з ІР, яким вводили ДГ у дозі 25 мг/кг в/о; 5 – тварини з ІР, яким вводили метформін у дозі 100 мг/кг в/о; 6 – тварини з ІР, яким в/о вводили ефароксан та в/ш – N,N'-ЕБХК; 7 – тварини з ІР, яким в/о вводили 2-(4,5-дигідроімідазол-2-іл)хіноліну гідрохлорид та в/ш – N,N'-ЕБХК.

Після 5-денного введення N,N'-ЕБХК, ДГ та метформіну оцінювали стан вуглеводного обміну за допомогою короткого інсулінового тесту та орального тесту толерантності до глюкози (ОТТГ) [17]. Чутливість до інсуліну («Ново Нордск», Данія) визначали за зниженням базальної глікемії через 30 хв після в/о введення гормону тваринам натще (1 ОД/кг). Для виконання ОТТГ розчин глюкози (3 г/кг маси тіла)

вводили крізь зонд в/ш. Проби крові для визначення глюкози відбирали з кінчика хвоста до та через 30, 60, 120 хв після глюкозного навантаження. Визначали зміни глікемії (абсолютні та у відсотках) та площу під глікемічними кривими (ммоль/л·хв) за допомогою комп'ютерної програми «Mathlab».

Для з'ясування ролі імідазолінових рецепторів у цукрознижувальній дії N,N'-ЕБХК, ДГ та метформіну препарати вводили через 20 хв після блокаторів I<sub>1</sub>- та I<sub>2</sub>-рецепторів [5], визначаючи вміст глюкози в плазмі капілярної крові глюкозооксидазним методом із використанням стандартних наборів «Filicet» (Україна) до та через 90 хв. Тварини ІК та КП отримували еквівалентну кількість води для ін'єкцій.

Оскільки за умов ІР виникає дисліпідемія з підвищенням концентрації холестерину ліпопротеїдів дуже низької щільності та тригліцеридів (ТГ), зниженням холестерину ліпопротеїдів високої щільності (ХС-ЛПВЩ) [3] визначали стан ліпідного обміну за основними маркерами – вмістом загального холестерину (ЗХС), ТГ та ХС-ЛПВЩ за допомогою стандартних наборів «Filicet» (Україна). Індекс атерогенності (ІА) розраховували за формулою А. Н. Клімова [18].

Отримані дані обробляли статистично з використанням програми «Statistica 6.0». Статистичну значущість внутрішньогрупових відмінностей (було стало) оцінювали за парним критерієм Т Вілкоксона, міжгрупових – за методом множинних порівнянь з використанням однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA), а також порівнянь окремих груп з розрахунком t-критерію Стьюдента у випадку нормального розподілу та U-критерію Манна-Уїтні за відсутності останнього. Відмінності вважали статистично достовірними в разі  $p < 0,05$  [19].

**Результати та їх обговорення.** Базальна глікемія в щурів з моделлю ІР при окремих вимірюваннях не відрізнялась або мала тенденцію до підвищення порівняно з ІК (табл. 1–3), що відповідає даним [10, 11]. У тварин групи ІК через 30 хв після введення інсуліну рівень глюкози крові знизився на 38,70 %, що достовірно відрізняється від показника групи КП ( $p < 0,05$ ), де зниження становило 10,99 %. Це вказує на розвиток ІР (табл. 1).

У щурів, які отримували N,N'-ЕБХК та обидва референс-препарати, спостерігали вірогідне проти КП посилення гіпоглікемічної реакції ( $p < 0,05$ ), що говорить про зменшення ІР. За впли-

Таблиця 1

**Гіпоглікемічна дія інсуліну на моделі інсулінорезистентності під впливом N,N'-(етан-1,2-диіл)біс(хінолін-2-карбоксаміду), діакамфу гідрохлориду та метформіну**

Група тварин, доза	n	Глюкоза крові, ммоль/л		Різниця, %
		вихідні дані	через 30 хв	
Інтактний контроль	5	3,38 ± 0,16	2,05 ± 0,18 <sup>^</sup>	- 38,70 ± 6,86
Контрольна патологія (інсуліно-резистентність)	5	3,47 ± 0,11	3,08 ± 0,09 <sup>^*</sup>	- 10,99 ± 3,52 <sup>*</sup>
Інсулінорезистентність + N,N'-(етан-1,2-диіл)біс(хінолін-2-карбоксамід), 11,64 мг/кг	7	3,55 ± 0,13	1,95 ± 0,17 <sup>^#</sup>	- 42,98 ± 5,06 <sup>#</sup>
Інсулінорезистентність + діакамфу гідрохлорид, 25 мг/кг	5	3,92 ± 0,07	2,49 ± 0,18 <sup>^#§</sup>	- 36,46 ± 4,13 <sup>#</sup>
Інсулінорезистентність + метформін, 100 мг/кг	5	3,94 ± 0,05	2,39 ± 0,14 <sup>^#</sup>	- 39,26 ± 3,91 <sup>#</sup>

Примітка. n – кількість тварин у групі; статистично значуща відмінність ( $p < 0,05$ ): <sup>^</sup>з показником базальної проби; <sup>\*</sup>з показником групи ІК; <sup>#</sup>з показником групи КП; <sup>§</sup>з показником групи ІР + N,N'-ЕБХК 11,64 мг/кг.



вом на абсолютний вміст глюкози N,N'-ЕВХК статистично значуще перевершував препарат порівняння ДГ (відповідно  $(1,95 \pm 0,17)$  ммоль/л та  $(2,49 \pm 0,18)$  ммоль/л,  $p < 0,05$ ).

Як свідчать результати ОТТГ, у тварин групи КП вірогідно ( $p < 0,05$ ) збільшувалися вміст глюкози в крові та площа під глікемічною кривою (табл. 2).

N,N'-ЕВХК та референс-препарати знижували вміст глюкози в крові в кожний термін спостереження порівняно як з КП, так і з ІК. При цьому метформін достовірно ( $p < 0,05$ ) зменшував площу під глікемічною кривою відносно показника КП, а N,N'-ЕВХК та ДГ наближались до нього за ефективністю. Дія N,N'-ЕВХК та метформіну розвивалась дещо повільніше ніж ефект ДГ, який стримував приріст глікемії на 60 хв. Під впливом N,N'-ЕВХК та метформіну в цей період він дещо збільшувався.

Блокатори  $I_1$ - (ефароксан) та  $I_2$ -імідазолінових рецепторів (2-(4,5-дигідромідазол-2-іл)хіноліну гідрохлорид)

усувають гіпоглікемічну дію N,N'-ЕВХК (табл. 3), що вказує на участь стимуляції цих рецепторів у механізмі дії досліджуваної сполуки.

У групі КП має місце атерогенний зсув ліпідного обміну (табл. 4): підвищується рівень ЗХС та ТГ, зменшується ХС-ЛПВЩ порівняно з ІК, у 5 разів зростає ІА. Накопичення ТГ у крові підтверджує розвиток ІР. На тлі N,N'-ЕВХК ліпідний обмін нормалізується: достовірно знижується вміст ТГ, зростає ХС-ЛПВЩ до рівня ІК, а ЗХС – навіть нижче ІК. Аналогічно діють ДГ і метформін, знижуючи ЗХС до рівня ІК. Привертає увагу тенденційне зменшення ІА відносно ІК на тлі N,N'-ЕВХК, ДГ та метформіну.

Отже, усі три досліджені сполуки зменшують ІР на використаній моделі, коли формування ІР пов'язане з пригніченням експресії білка, що входить до складу інсулінового рецептора (IRS-1) у скелетних м'язах [11]. Слід вважати N,N'-ЕВХК перспективною сполукою

Таблиця 2

*Показники орального тесту толерантності до глюкози за умов моделювання інсулінорезистентності та впливу N,N'-(етан-1,2-диїл)біс(хінолін-2-карбоксаміду), діакамфу гідрохлориду та метформіну*

Вихідне значення	Глюкоза крові, ммоль/л						Площа під глікемічною кривою, ммоль/л•хв
	30 хв		60 хв		120 хв		
	абсолютне значення	приріст, %	абсолютне значення	приріст, %	абсолютне значення	приріст, %	
3,8 ± 0,3	Інтактний контроль, n = 5						
	5,7 ± 0,2 <sup>^</sup>	+ 56,5 ± 14,8	4,7 ± 0,2 <sup>^</sup> §	+ 36,2 ± 12,0	3,98 ± 0,54	+ 22,6 ± 24,1	556,1 ± 19,5
3,6 ± 0,4	Інсулінорезистентність, n = 5						
	5,9 ± 0,2 <sup>^</sup>	+ 76,4 ± 22,6	5,9 ± 0,4 <sup>^*</sup>	+ 70,2 ± 13,2 <sup>*</sup>	4,5 ± 0,4 <sup>§†</sup>	+ 38,4 ± 31,7	630,2 ± 24,2 <sup>*</sup>
3,7 ± 0,2	Інсулінорезистентність + N,N'-(етан-1,2-диїл)біс(хінолін-2-карбоксамід), 11,64 мг/кг, n = 7						
	4,8 ± 0,3 <sup>^**</sup>	+ 29,7 ± 6,8 <sup>#</sup>	5,4 ± 0,2 <sup>^*</sup>	+ 43,4 ± 5,1	4,2 ± 0,3 <sup>§†</sup>	+ 13,9 ± 7,8 <sup>†</sup>	569,4 ± 23,4
4,1 ± 0,3	Інсулінорезистентність + діакамфу гідрохлорид, 25 мг/кг, n = 5						
	5,0 ± 0,2 <sup>^**</sup>	+ 24,4 ± 9,1 <sup>**</sup>	5,3 ± 0,2 <sup>^*</sup>	+ 21,5 ± 8,6 <sup>#§</sup>	4,1 ± 0,2 <sup>§†</sup>	+ 0,9 ± 5,9 <sup>§†</sup>	572,2 ± 13,7
3,9 ± 0,2	Інсулінорезистентність + метформін, 100 мг/кг, n = 5						
	4,9 ± 0,1 <sup>^</sup>	+ 30,4 ± 5,9 <sup>#</sup>	5,3 ± 0,4 <sup>^</sup>	+ 41,7 ± 17,8	3,6 ± 0,3 <sup>§†</sup>	- 4,4 ± 9,8 <sup>§†</sup>	540,9 ± 32,9 <sup>#</sup>

Примітка. n – кількість тварин у групі; статистично значуща відмінність ( $p < 0,05$ ): <sup>^</sup> з показником базальної проби; <sup>\*</sup> з показником ІК; <sup>#</sup> з показником КП; <sup>§</sup> з показником групи ІР + N,N'-ЕВХК; <sup>†</sup> з показником всередині групи на 30 хв; <sup>£</sup> з показником всередині групи на 60 хв.

**Цукрознижувальна дія N,N'-(етан-1,2-диїл)біс(хінолін-2-карбоксаміду)  
на моделі інсулінорезистентності під впливом блокаторів I<sub>1</sub>- та  
I<sub>2</sub>-імідазолінових рецепторів**

Група тварин	n	Глюкоза крові, ммоль/л		Різниця, %
		вихідні дані	через 90 хв	
Інтактний контроль	5	3,30 ± 0,17	3,33 ± 0,10	+ 1,57 ± 3,91
Контрольна патологія (інсуліно-резистентність)	5	4,10 ± 0,40	3,96 ± 0,38	- 3,22 ± 1,19
Інсулінорезистентність + N,N'-(етан-1,2-диїл)біс(хінолін-2-карбоксамід), 11,64 мг/кг	5	4,28 ± 0,46	3,05 ± 0,19 <sup>^</sup>	- 26,32 ± 7,00 <sup>**</sup>
Інсулінорезистентність + 2-(4,5-дигідро-імідазол-2-іл)хіноліну гідрохлорид, 1,5 мг/кг + N,N'-(етан-1,2-диїл)біс(хінолін-2-карбоксамід), 11,64 мг/кг	5	3,44 ± 0,11	3,56 ± 0,40	+ 3,42 ± 10,91 <sup>§</sup>
Інсулінорезистентність + ефароксан, 5 мг/кг + N,N'-(етан-1,2-диїл)біс(хінолін-2-карбоксамід), 11,64 мг/кг	5	3,61 ± 0,13	3,46 ± 0,19	- 3,43 ± 7,25 <sup>§</sup>

Примітка. n – кількість тварин у групі; стистично значущі відмінності (p < 0,05): <sup>^</sup>з показником базальної проби; \*з показником групи ІК; <sup>#</sup>з показником групи КІІ; <sup>§</sup>з показником групи ІР + N,N'-ЕВХК, 11,64 мг/кг.

Таблиця 4

**Показники ліпідного обміну щурів за умов експериментальної  
інсулінорезистентності та впливу N,N'-(етан-1,2-диїл)біс(хінолін-2-  
карбоксаміду), діакамфу гідрохлориду та метформіну**

Група тварин	n	Загальний холестерин	Холестерин ліпопротеїдів високої щільності	Індекс атерогенності	Тригліцериди
Інтактний контроль	5	1,23 ± 0,09	1,28 ± 0,14	0,31 ± 0,17	0,49 ± 0,02
Контрольна патологія (інсулінорезистентність)	5	1,92 ± 0,43*	0,85 ± 0,04*	1,56 ± 0,68*	1,04 ± 0,17*
N,N'-(етан-1,2-диїл) біс(хінолін-2-карбоксамід), 11,64 мг/кг	7	1,01 ± 0,04 <sup>**</sup>	1,27 ± 0,09 <sup>#</sup>	0,20 ± 0,04 <sup>#</sup>	0,52 ± 0,05 <sup>#</sup>
Діакамфу гідрохлорид, 25 мг/кг	5	1,02 ± 0,02 <sup>#</sup>	1,26 ± 0,03 <sup>#</sup>	0,20 ± 0,02 <sup>#</sup>	0,57 ± 0,03 <sup>**</sup>
Метформін, 100 мг/кг	5	1,07 ± 0,02 <sup>#</sup>	1,15 ± 0,09 <sup>#</sup>	0,18 ± 0,03 <sup>#</sup>	0,52 ± 0,02 <sup>#</sup>

Примітка. Статистично значущі відмінності (p < 0,05): \*з показником групи ІК; <sup>#</sup>з показником групи КІІ (p < 0,05).

для створення нового протидіабетичного препарату з оригінальним механізмом дії для лікування ЦД як 1, так і 2 типу. За ІР, як і за абсолютної інсулінової недостатності на алоксановій моделі ЦД [8], N,N'-ЕВХК стимулює I<sub>1</sub>- та I<sub>2</sub>-імідазолінові рецептори, що відрізняє цю сполуку від відомих протидіабетичних препаратів. Не виключе-

на роль доведених на алоксановій моделі ЦД [8] антиоксидантних властивостей N,N'-ЕВХК в ефективності за умов ІР, оскільки тривале надлишкове споживання вуглеводів викликає гіперпродукцію супероксид-аніона та активацію НАДФН-оксидази [11]. Здатність N,N'-ЕВХК усувати порушення ліпідного обміну підвищує фармакотерапевтичну

цінність цієї сполуки та додатково обґрунтовує доцільність її використання за МС. Отримані результати відповідають даним щодо ефективності ДГ за умов МС, індукованого фруктозою [14]. Щодо метформіну, його ефективність на індукованій сахарозою моделі ІР є очікуваною, оскільки механізм дії цього препарату пов'язаний саме з усуненням ІР. N,N'-ЕБХК та ДГ не поступаються метформіну за ефективністю, причому в нижчих дозах.

## Висновки

1. За умов експериментальної ІР, що її викликано в щурів споживанням 30 % розчину сахарози замість питної води протягом 1 міс, спостерігаються порушення обміну вуглеводів (погіршення толерантності до глюкози, зростання ІР), а також виразний атерогенний зсув ліпідного обміну.

2. Курсове введення N,N'-(етан-1,2-диіл)біс(хінолін-2-карбоксаміду) у дозі 11,64 мг/кг у шлунок протягом 5 днів щурам з індукованою сахарозою ІР усуває порушення обміну глюкози та ліпідів, що є основою для подальших поглиблених досліджень на інших моделях ІР. За виразністю метаболічних ефектів досліджувана сполука не поступається метформіну (100 мг/кг) та діакамфу гідрохлориду (25 мг/кг) при внутрішньоочеревинному введенні.

3. I<sub>1</sub>- та I<sub>2</sub>-імідазолінові рецептори беруть участь у механізмі цукрознижувальної дії N,N'-(етан-1,2-диіл)біс(хінолін-2-карбоксаміду) на моделі ІР, про що свідчить зниження зазначеного ефекту цієї сполуки на тлі відповідних блокаторів – ефароксану та 2-(4,5-дигідроімідазол-2-іл)хіноліну гідрохлориду.

1. Дедов И. И. Значение результатов полногеномных исследований для первичной профилактики сахарного диабета 2 типа и его осложнений. Персонализированный подход / И. И. Дедов, О. М. Смирнова, И. В. Кононенко // Сахарный диабет. – 2014. – № 2. – С. 10–19.
2. Kozak B. M. International Diabetes Federation (IDF) highlights growing global impact of diabetes in 5<sup>th</sup> edition of the Diabetes Atlas / B. M. Kozak, M. Y. Tjota, K. L. Close // J. Diabetes – 2012. – V. 4. – P. 8–17.
3. Metabolic syndrome as a predictor of type 2 diabetes, and its clinical interpretations and usefulness / J. A. Shin, J. H. Lee, S. Y. Lim [et al.] // Diabetes Investig. – 2013. – № 4 (4). – P. 334–343.
4. Echeverria M. Synthesis and biological evaluation of heteroaryl diamines as cytotoxic agents, apoptosis inducers and caspase-3 activators / M. Echeverria, B. Mendivil, L. Cordeueta // Arch. Pharm. Chem. Life Sci. – 2006. – V. 339. – P. 182–192.
5. Investigation of the role of I1- and I2-imidazoline receptors in the mechanism of hypoglycemic action of N,N'-(ethane-1,2-diyil)bis(quinoline-2-carboxamide) / O. N. Kalapko, S. Yu. Shtrygol', B. V. Paponov, S. V. L'vov // News of Pharmacy. – 2014. – № 3 – V. 79 – P. 74–77.
6. Гостра токсичність та гіпоглікемічна активність N,N'-(етан-1,2-диіл)біс(хінолін-2-карбоксаміду) / О. М. Калапко, С. Ю. Штрыголь, Б. В. Папонов, С. В. Львов // Клінічна фармація. – 2014. – Т. 18, № 12. – С. 41–45.
7. Алеева Г. Н. Клеточные механизмы развития гипергликемии и ее фармакологическая коррекция при аллоксановом диабете : автореф. дисс. на соискание учен. степени канд. мед. наук / Г. Н. Алеева. – Казань, 2002. – 20 с.
8. Сравнительный анализ эффективности N,N'-(этан-1,2-диил)бис(хинолин-2-карбоксамида), диакамфа гидрохлорида и метформина в остром периоде аллоксанового сахарного диабета у крыс / Е. Н. Калапко, С. Ю. Штрыголь, Т. В. Горбач [и др.] // Вестник фармации. – 2016. – № 3 (73). – С. 67–77.
9. Council of Europe. 1986. «European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes». In Strasbourg: Council of Europe, Obtainable London: HMSO.
10. Effects of N-acetylcysteine on sucrose-rich diet-induced hyperglycaemia, dyslipidemia and oxidative stress in rats / Y. S. Diniz, K. K. Rocha, G. A. Souza [et al.] // Europ. J. pharmacol. – 2006. – V. 14. – P. 151–157.
11. Comparative effects of N-acetyl-l-cysteine and ramipril on arterial hypertension, insulin resistance, and oxidative stress in chronically glucose-fed rats / El Adil Midaoui, A. I. Mahmoud, L. Huogen [et al.] // Canadian J. of Physiology and Pharmacology. – 2008. – V. 86 (11). – P.752–760.
12. Шатілова О. А. Експериментальне вивчення церебропротекторних та психотропних властивостей діакамфу: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фарм. наук / О. А. Шатілова. – Харків, 2010. – 20 с.

13. Шведський В. В. Корекція діакамфу гідрохлоридом порушень мозкового кровообігу на тлі цукрового діабету (експериментальне дослідження) : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук / В. В. Шведський. – Харків, 2012. – 20 с.
14. Сучасні аспекти пероральної фармакотерапії цукрового діабету 2 типу. Досягнення НФаУ: монографія / В. П. Черних, Л. М. Малоштан, Н. І. Горбенко [та ін.]. – Харків : БУРУН і К, 2010. – 208 с.
15. Роль імідазолінових рецепторів  $I_1$  та  $I_2$  типів у реалізації механізму цукрознижувальної дії діакамфу гідрохлориду та метформіну / О. М. Калапко, С. Ю. Штрыголь, С. І. Мерзликін [та ін.] // Український біофармацевтичний журнал. – 2014. – № 3, Т. 32. – С. 41–44.
16. Novel mechanism for plasma glucose-lowering action of metformin in streptozotocin-induced diabetic rats / J. T. Cheng, C. C. Huang, I. M. Liu [et al.] // Diabetes. – 2006. – V. 55. – P. 819–825.
17. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рекоменд. ; за ред. чл.- кор. НАМН України О. В. Стефанова. – Київ : ВД «Авіценна», 2001. – 400 с.
18. Штрыголь С. Ю. Модуляція фармакологічних ефектів при різних сольових режимах / С. Ю. Штрыголь. – Харків : Авіста ВЛТ, 2007. – С. 212.
19. Халафян А. А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных. 3-е изд. / А. А. Халафян. – Москва : ООО «Бином-Пресс», 2007. – 512 с.

**О. М. Калапко, С. Ю. Штрыголь, С. І. Мерзликін**

### **Порівняльне дослідження ефективності N,N'-(етан-1,2-дііл)біс(хінолін-2-карбоксаміду), діакамфу гідрохлориду та метформіну на моделі інсулінорезистентності**

*Мета дослідження* – визначити вплив N,N'-(етан-1,2-дііл)біс(хінолін-2-карбоксаміду) (N,N'-ЕБХК) на інсулінорезистентність (ІР), толерантність до глюкози, показники ліпідного обміну порівняно з діакамфу гідрохлоридом (ДГ) та метформіном, а також можливу роль  $I_1$ - і  $I_2$ -імідазолінових рецепторів у механізмі дії N,N'-ЕБХК на моделі ІР.

Моделювали ІР шляхом утримання щурів на 30 % розчині сахарози замість питної води протягом 1 міс. N,N'-ЕБХК вводили в ЕД<sub>50</sub> за цукрознижувальним ефектом – 11,64 мг/кг внутрішньошлунково (в/ш). Як референс-препарати використано ДГ у дозі 25 мг/кг внутрішньоочеревино (в/о) та метформін (100 мг/кг в/о). Стан вуглеводного обміну оцінювали за коротким інсуліновим тестом та оральним тестом толерантності до глюкози (ОТТГ), ліпідного – за вмістом загального холестерину, тригліцеридів, холестерину ліпопротеїдів високої щільності в крові та індексом атерогенності. Для визначення можливого впливу N,N'-ЕБХК на імідазолінові рецептори різних типів як ланки механізму дії використано ефароксан – блокатор  $I_1$ -рецепторів (5 мг/кг в/о) та 2-(4,5-дигідроімідазол-2-іл)хінолін гідрохлорид – блокатор  $I_2$ -рецепторів (1,5 мг/кг в/о).

У тварин групи контрольної патології зниження рівня глюкози крові через 30 хв після введення інсуліну було в 3 рази менше, ніж в інтактних щурів, що доводить розвиток ІР. Під впливом N,N'-ЕБХК, ДГ та метформіну цей показник не відрізнявся від інтактного контролю. За результатами ОТТГ у групі контрольної патології глікемія та площа під глікемічною кривою значуще зростали. На тлі N,N'-ЕБХК та обох препаратів порівняння ці показники нормалізувалися. Модельна патологія призвела до атерогенної дисліпідемії, яку N,N'-ЕБХК, ДГ та метформін усували. Блокатори імідазолінових рецепторів  $I_1$  та  $I_2$  усунули гіпоглікемічний ефект N,N'-ЕБХК, що говорить про участь їх стимуляції в механізмі цукрознижувальної дії та відрізняє цю сполуку від відомих протидіабетичних засобів.

Результати експериментально обґрунтовують доцільність розробки оригінального протидіабетичного препарату на основі N,N'-ЕБХК.

*Ключові слова:* діабет, експериментальні моделі, метаболічний синдром, N,N'-(етан-1,2-дііл)біс(хінолін-2-карбоксамід), метформін, діакамфу гідрохлорид

**Е. Н. Калапко, С. Ю. Штрыголь, С. І. Мерзликін**

### **Сравнительное исследование эффективности N,N'-(этан-1,2-диил) бис(хинолин-2-карбоксамид), диакамфа гидрохлорида и метформина на модели инсулинорезистентности**

*Цель исследования* – определить влияние N,N'-(этан-1,2-диил)бис(хинолин-2-карбоксамид) (N,N'-ЭБХК) на инсулинорезистентность (ИР), толерантность к глюкозе, показатели липидного обмена в сравнении с диакамфа гидрохлоридом (ДГ) и метформинном, а также возможную роль  $I_1$ - и  $I_2$ -имидазолиновых рецепторов в механизме действия N,N'-ЭБХК на модели ИР.

Моделировали ИР путем содержания крыс на 30 % растворе сахарозы вместо питьевой воды в течение 1 мес. N,N'-ЭБХК вводили в ЕД<sub>50</sub> по сахароснижающему эффекту – 11,64 мг/кг внутрижелудочно (в/ж). Как референс-препараты использованы ДГ в дозе 25 мг/кг внутрибрюшинно (в/б) и метформин в дозе (100 мг/кг в/б). Состояние углеводного обмена оценивали по короткому инсулиновому тесту и оральному тесту толерантности к глюкозе (ОТТГ), липидного – по содержанию общего холестерина, триглицеридов, холестерина липопротеидов высокой плотности и индексу атерогенности.

---

Для определения возможного воздействия N,N'-ЭБХК на имидазолиновые рецепторы разных типов как звена механизма действия использовали эфароксан – блокатор I<sub>1</sub>-рецепторов (5 мг/кг в/б) и 2-(4,5-дигидроимидазол-2-ил)хинолина гидрохлорид – блокатор I<sub>2</sub>-рецепторов (1,5 мг/кг в/б).

У животных группы контрольной патологии снижение уровня глюкозы крови через 30 мин после введения инсулина было в 3 раза меньше, чем у контрольных крыс, что доказывает развитие ИР. Под влиянием N,N'-ЭБХК, ДГ и метформина этот показатель не отличался от интактного контроля. По результатам ОТТГ в группе контрольной патологии гликемия и площадь под гликемической кривой значительно увеличивались. На фоне N,N'-ЭБХК и обоих препаратов сравнения эти показатели нормализовались. Модельная патология привела к атерогенной дислипидемии, которую N,N'-ЭБХК, ДГ и метформин устраняли. Блокаторы имидазолиновых рецепторов I<sub>1</sub> и I<sub>2</sub> устранили гипогликемический эффект N,N'-ЭБХК, что говорит об участии их стимуляции в механизме сахароснижающего действия и отличает это вещество от известных противодиабетических средств.

Результаты экспериментально обосновывают целесообразность разработки оригинального противодиабетического препарата на основе N,N'-ЭБХК.

*Ключевые слова:* диабет, экспериментальные модели, метаболический синдром, N,N'-(этан-1,2-диил)бис(хинолин-2-карбоксамида), метформин, диакамфа гидрохлорид

**O. M. Kalapko, S. Yu. Shtryhol', S. I. Merzlikin**

### **A comparative study of the effectiveness of N,N'-(ethane-1,2-dyyil)bis(quinoline-2-carboxamide), diacamph hydrochloride and metformin under insulin resistance model**

*The aim* of this investigation is to determine experimentally the effect of N,N'-(ethane-1,2-dyyil) bis(quinoline-2-carboxamide) (N,N'-EBQC) in comparison with diacamph hydrochloride (DG) and metformin on insulin resistance (IR), the tolerance to glucose, the lipid metabolism and determine the presence of the receptor mechanism of N,N'-EBQC on IR model.

The modelling of IR was conducted on the rats by giving 30 % sucrose solution during one month instead of drinking water. N,N'-EBQC was used at a dose of 11,64 mg/kg intragastric (i/g). DG 25 mg/kg intraperitoneally (i/p) and metformin 100 mg/kg (i/p) were used as the reference drugs. The characteristics of the hydrocarbon metabolism were evaluated by using a short test insulin and oral glucose tolerance test (OGTT). The state of the lipid metabolism was evaluated by the content of total cholesterol, triglycerides, HDL cholesterol and atherogenic index. To determine the mechanism of hypoglycemic action it was used efaroxan – the blocker of I<sub>1</sub>-imidazoline receptor 5 mg/kg (i/p) and (2-(4,5-dyhidroimidazol-2-yl)quinoline hydrochloride) – the blocker of I<sub>2</sub>-imidazoline receptor in a dose of 1,5 mg/kg (i/p).

In 30 min after the administration of insulin in the group of animals treated with N,N'-EBQC the reduction of glucose level was three times less than in the intacted rats, that proves the development of IR.

Under the influence of N,N'-EBQC, DG and metformin this indicator didn't differ from the intact control. According to the results of OGTT in the group of the control pathology the hypoglycemic activity was growing greatly. The blockers of I<sub>1</sub>- and I<sub>2</sub>-imidazoline receptors prevented hypoglycemic activity of N,N'-EBQC, indicating their participation in the mechanism of hypoglycemic action of experimental compound and it differs this substance from other famous antidiabetic remedies.

The analysis of the data shows the ability of N,N'-EBQC to reduce the development of IR and the glucose tolerance, removes dyslipidemia as the major predictors of the formation of type 2 diabetes. Also it was proved the participation of the I<sub>1</sub>- and I<sub>2</sub>-stimulation in the mechanism of glucose control level.

The results of this investigation proves the expediency of development of the original antidiabetic remedy on the basis of N, N'- EBQC.

*Key words:* diabetes, experimental models, metabolic syndrome, N,N'-(ethane-1,2-dyyil) bis(quinoline-2-carboxamide), metformin, diacamph hydrochloride

---

Надійшла: 24 квітня 2017 р.

**Контактна особа:** Калапко Олена Миколаївна, магістр фармації, аспірант, кафедра фармакології, буд. 53, вул. Пушкінська, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, 61002.  
Тел.: + 38 0 57 706 35 81.



О. Ю. Кошова, С. А. Гращенкова, С. Ю. Штриголь, В. С. Щербініна,  
І. В. Трутаєв, Т. К. Юдкевич, О. П. Єрьомін

## Дослідження впливу капсул «Равісол®» на розвиток гіперліпідемії в щурів, викликаній Твіном-80

Центральна науково-дослідна лабораторія  
Національного фармацевтичного університету, м. Харків

*Ключові слова:* серцево-судинні захворювання, гіперліпідемія, атеросклероз, Равісол®, капсули

Серцево-судинні захворювання (ССЗ) є головною причиною підвищення рівня смертності в індустріально розвинутих країнах, у тому числі й в Україні. Однією з основних причин ССЗ є атеросклероз, головним чинником розвитку якого є гіперліпідемія [1, 2]. Незважаючи на широкий асортимент гіполіпідемічних засобів, багато з них, нормалізуючи ліпідний обмін, викликають тяжкі побічні реакції, що зумовлює доцільність пошуку нових активних та малотоксичних препаратів, які здатні попереджувати розвиток порушень ліпідного обміну.

Для профілактики та лікування початкових стадій атеросклерозу дедалі більшу увагу лікарів і пацієнтів привертає можливість використання фітопрепаратів, які є малотоксичними та чинять комплексний вплив на патогенетичні ланки захворювання [3].

Протиатеросклеротична та гіполіпідемічна дія лікарських рослин забезпечується вмістом широкого спектра біологічно активних речовин (БАР): флавоноїдів, фосфоліпідів, стероїдних сапонінів, вітамінів, мікроелементів, амінокислот, гормоноподібних речовин, ферментів та ін. [4–6]. Антиокиснювальна активність флавоноїдів визначає доцільність їхнього застосування для усунення «оксидативного стресу», що виникає внаслідок порушення рівноваги між продукцією вільних радикалів і станом антиоксидантного захисту. Встановлена залежність між метаболізмом поліненасичених жирних

кислот і фосфоліпідів, що забезпечують структуру і злагодженість обмінних процесів у клітинних мембранах [7]. Протиатеросклеротична дія стероїдних сапонінів спричинена їхньою здатністю зменшувати концентрацію ХС. Значення вітамінів загальновідоме й незаперечне.

До рослин з гіполіпідемічною активністю відносять арніку гірську, діоскорею ніпонську, суницю лісову, каштан кінський, кропиву дводомну, кукурудзу звичайну, ламінарію сахаристу, цибулю ріпчасту, моркву посівну, синюху голубу, часник посівний, омелу білу [8]. Досвід народної медицини та клінічні дослідження доводять, що найбільшу комплаєнтність пацієнти виказують до фітозасобів у вигляді настоек, таблеток і капсул.

На фармацевтичному ринку України присутні переважно імпортовані рослинні засоби з гіполіпідемічною активністю (капсули «Атероклефіт», таблетки «Поліспонін», капсули «Ревайтл», таблетки «Трибестан») [9]. Через високу вартість зазначені засоби не мають широкого застосування. Це обґрунтовує актуальність створення гіполіпідемічних фітозасобів вітчизняного виробництва. Одним з комплексних засобів гіполіпідемічної дії на основі лікарської рослинної сировини є спиртова настойка «Равісол®» (1:10) виробництва ПАТ «Хіміко-фармацевтичний завод Червона зірка» (Україна). До складу настойки «Равісол®» входять пагони і листя омели білої, трава хвоща польового, плоди софори японської, насіння каштана кінського, плоди глоду, квіти конюшини, трава барвінку малого [10]. У клінічних дослідженнях доведено виразну терапевтичну ефективність настойки «Равісол®» у хворих

на серцево-судинні захворювання та атеросклероз. Проте ця лікарська форма містить спирт, що обмежує її застосування в пацієнтів. Тому, зважаючи на вищенаведене, було розроблено два зразки ЛЗ з аналогічним складом діючих сполук у вигляді капсул: «Равісол<sup>®</sup>-1» з вмістом екстракту густого вищенаведених рослин та «Равісол<sup>®</sup>-2» з вмістом суміші подрібнених нативних рослин.

**Мета дослідження** – вивчення гіполіпідемічної активності двох зразків капсул «Равісол<sup>®</sup>»: «Равісол<sup>®</sup>-1» з вмістом густого екстракту та «Равісол<sup>®</sup>-2» з вмістом подрібненої суміші лікарської рослинної сировини.

**Матеріали та методи.** Дослідження проведено з дотриманням правил «Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.). У досліді було використано 69 щурів-самців, масою 180–200 г.

Визначення найефективнішої дози двох тест-зразків (капсули «Равісол<sup>®</sup>-1» з вмістом густого екстракту та капсули «Равісол<sup>®</sup>-2» з вмістом подрібненої суміші лікарської рослинної сировини) проводили на моделі гіперліпідемії, викликаній Твіном-80 [11].

Тварин розподілили на 8 груп: 1 група – інтактний контроль; 2 – контрольна патологія (КП, твін-80 у дозі 200 мг/100 г маси тіла внутрішньоочередивно); 3–5 групи – тварини, яким внутрішньошлунково вводили капсули «Равісол<sup>®</sup>-1» у дозах 120, 180 та 240 мг/кг; 6–8 групи – тварини, яким вводили капсули «Равісол<sup>®</sup>-2» у дозах 100, 200 і 300 мг/кг. Тест-зразки (ТЗ) вводили профілактично протягом 2 тижнів до ін'єкції Твіну-80. Евтаназію тварин проводили через 8 год після ведення Твіну-80 під інгаляційним наркозом.

Для оцінки гіполіпідемічної дії досліджуваних ТЗ у сироватці крові визначали вміст загального холестерину (ХС), ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ) та тригліцеридів (ТГ) за допомогою діагностичних наборів фірми СпайнЛаб, Україна.

Отримані дані виражали через середнє значення та його стандартну помил-

ку. Порівняння вибірок проводили за допомогою методу Крускала-Уолліса й тесту Манна-Уїтні. Відмінності між групами вважали статистично значущими при  $p < 0,05$ . Для статистичної обробки даних використовували пакет програм «Statistica 6.0» [13].

**Результати та їх обговорення.** Відповідно до отриманих даних введення Твіну-80 викликало збільшення в крові щурів з групи КП вмісту ХС на 13 % та ТГ – на 33 % (таблиця). Наведені зміни були статистично значущими відносно інтактних тварин. Отримані результати узгоджуються з даними літератури, згідно з якими внутрішньоочередивне введення поверхнево-активної речовини призводить до швидкого збільшення рівня ліпідів у крові, особливо ТГ, і зниження рівня ЛПВЩ [11]. Слід зазначити, що в даному досліді вміст ЛПВЩ залишався на рівні показників групи ІК (таблиця). Вважають, що введення Твіну-80 збільшує синтез холестерину або уповільнює його деградацію. Механізм дії поверхнево-активних речовин полягає в здатності утворювати в плазмі міцели з ліпопротеїдами, що викликає відносний дефіцит ліпідів внаслідок порушення обміну ліпідів між кров'ю та тканинами. Останнє, за механізмом зворотного зв'язку, стимулює синтез ліпідів у печінці та мобілізацію триацилгліцеридів з жирових депо [11, 12].

Профілактичне введення капсул «Равісол<sup>®</sup>-1» протягом 2 тижнів у діапазоні доз 120-240 мг/кг пригнічувало розвиток гіперліпідемії. Найвиразнішу гіполіпідемічну активність ТЗ чинить у дозах 180 і 240 мг/кг. Рівень ХС у крові тварин, які отримували капсули «Равісол<sup>®</sup>-1», був статистично значуще меншим, ніж у групі контрольної патології, а вміст ТГ – відносно як КП, так і ІК (таблиця). Виразність гіполіпідемічної дії капсул «Равісол<sup>®</sup>-1» у дозі 120 мг/кг статистично значуще поступалася такій у дозі 180 мг/кг за всіма досліджуваними показниками, а в дозі 240 мг/кг – тільки за вмістом тригліцеридів (таблиця). Слід зазначити, що в групах тварин, яким профілактично вводили капсули «Равісол<sup>®</sup>-1» у всіх досліджуваних дозах, рівень ЛПВЩ

Показники гіполіпідемічної дії капсул «Равісол<sup>®</sup>-1» та «Равісол<sup>®</sup>-2» за гіперхолестеринемії в щурів, що викликана Твіном-80,  $M \pm m$

Група тварин		n	Показник		
			холестерин, ммоль/л	ліпопротеїди високої щільності, ммоль/л	тригліцериди, ммоль/л
Інтактний контроль		12	2,10 ± 0,10	0,82 ± 0,17	0,78 ± 0,03
Контрольна патологія		13	2,37 ± 0,06*	0,87 ± 0,16	1,04 ± 0,07*
Капсули «Равісол <sup>®</sup> -1»	120 мг/кг	6	2,22 ± 0,17	0,34 ± 0,02 <sup>*/**/#</sup>	0,83 ± 0,05 <sup>**/#</sup>
	180 мг/кг	7	1,88 ± 0,08**	0,22 ± 0,02 <sup>*/**/∅</sup>	0,64 ± 0,03 <sup>**/∅</sup>
	240 мг/кг	6	1,99 ± 0,15**	0,19 ± 0,03 <sup>*/**</sup>	0,51 ± 0,08 <sup>*/**</sup>
Капсули «Равісол <sup>®</sup> -2»	100 мг/кг	9	2,25 ± 0,19	1,54 ± 0,06 <sup>*/**</sup>	0,88 ± 0,01 <sup>*/**</sup>
	200 мг/кг	8	2,46 ± 0,24	1,54 ± 0,02 <sup>*/**</sup>	0,86 ± 0,03 <sup>**</sup>
	300 мг/кг	8	2,26 ± 0,20	1,60 ± 0,10 <sup>*/**</sup>	0,93 ± 0,04

Примітка. \* $p < 0,05$  порівняно з групою інтактного контролю, \*\* $p < 0,05$  порівняно з групою КП, # $p < 0,05$  порівняно з групою «Равісол-1», 180 мг/кг, ∅ $p < 0,05$  порівняно з групою «Равісол-2», 100 мг/кг, n – кількість тварин у групі.

був достовірно нижчим, ніж у групах КП та ІК (таблиця). Аналізуючи отримані дані можна припустити, що зниження рівня ЛПВЩ пов'язано зі зниженням рівнем як загального ХС, так і ТГ внаслідок зниження потреби організму в цьому ліпопротеїді. Отже, капсули «Равісол<sup>®</sup>-1» з умістом екстракту густого виявляють виразну дозозалежну гіполіпідемічну дію – з підвищенням дози ТЗ ефект збільшується.

Профілактичне введення щурам капсул «Равісол<sup>®</sup>-2» у діапазоні доз 100–300 мг/кг також призводило до пригнічення розвитку гіперліпідемії, викликаній Твіном-80 (таблиця). Проте динаміка досліджуваних показників дещо відрізнялася від динаміки гіполіпідемічної дії ТЗ «Равісол<sup>®</sup>-1». Так, у разі застосування капсул «Равісол<sup>®</sup>-2» зниження рівня ТГ відбувалося на тлі підвищення вмісту ЛПВЩ (таблиця), у той час як уміст загального ХС залишався незмінним. Усі наведені зміни були статистично значущими як щодо групи КП, так і до інтактного контролю (таблиця). Найбільшу ефективність капсули «Равісол<sup>®</sup>-2» чинили в дозах 100 і 200 мг/кг.

Статистичний аналіз отриманих даних показав, що за виразністю гіпохолестеринемічної та гіпотригліцериде-

мічної дії капсули «Равісол<sup>®</sup>-1» з густим екстрактом у дозі 180 мг/кг переважають капсули «Равісол<sup>®</sup>-2» з умістом подрібнених трав у дозі 100 мг/кг, але поступаються за здатністю підвищувати рівень антиатерогенних ліпопротеїдів. З іншого боку, ймовірно припустити, що ліпідний обмін щурів цих груп знаходиться в динамічній рівновазі: низьким рівням ХС та ТГ відповідає низький рівень ЛПВЩ.

Ймовірно, гіполіпідемічна дія досліджуваних тест-зразків обумовлена наявністю комплексу біологічно активних речовин: поліфенолів, флавоноїдів, вітамінів, мікроелементів тощо, які чинять антиоксидантну, мембраностабілізуючу, протизапальну дію [11].

Виразна гіполіпідемічна дія досліджуваних тест-зразків обумовлює перспективність їхнього подальшого фармакологічного дослідження з метою створення засобу для використання в комплексній фармакотерапії та фармакопрофілактиці атеросклерозу.

### Висновок

Таким чином, капсули «Равісол<sup>®</sup>» як з умістом екстракту густого, так й умістом подрібнених лікарських рослин попереджують розвиток порушень

ліпідного обміну за умови дисліпопротеїнемії, викликані Твіном-80. Густий екстракт суміші лікарських рослин сприяє зниженню як холестерину, так і тригліцеридів. За виразністю гіпотригліцеридемічної дії капсули «Равісол®-1» (густий екстракт) пере-

важають тест-зразок з умістом суміші лікарських рослин. Капсули з умістом суміші лікарських рослин знижують уміст тригліцеридів та підвищують уміст ЛПВЩ, що є важливим для попередження прогресування атеросклерозу.

1. Литовский И. А. Атеросклероз и гипертоническая болезнь: вопросы патогенеза, диагностики и лечения / И. А. Литовский. – Санкт-Петербург : СпецЛит, 2013. – 304 с.
2. Мітченко О. І. Дисліпідемії: діагностика, профілактика та лікування. Методичні рекомендації Асоціації кардіологів України / О. І. Мітченко, М. І. Лутай. – Київ, 2011. – 48 с.
3. Аксьонова І. І. Перспективи застосування лікарських засобів рослинного походження у комплексній терапії атеросклерозу / І. І. Аксьонова, І. М. Білай // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2013. – № 2 (12). – С. 74–76.
4. Olive leaf extract as a hypoglycemic agent in both human diabetic subjects and in rats / J. Wainstein, T. Ganz, M. Boaz [et al.] // Journal of Medicinal Food. – 2012. – V. 15, № 7. – P. 605–610.
5. Tabassum N. Role of natural herbs in the treatment of hypertension, / N. Tabassum and F. Ahmad // Pharmacognosy Reviews. – 2011. – V. 5, № 9. – P. 30–40.
6. Атеросклероз: лікувально-профілактичні можливості фітозасобів / І. А. Зупанець, А. Таттис, С. К. Шебеко [et al.] // Клінічна фармація. – 2016. – Т. 20, № 3. – С. 18 – 22.
7. Тараховский Ю. С. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / Ю. С. Тараховский. – Пушино : Synchronbook, 2013. – 310 с.
8. Klevanova V. S. The hypolipidemic activity of poterium sanguisorba L. / V. S. Klevanova, S. D. Trzhet-synskiy, N. S. Fursa // News of pharmacy. – 2015 – Т. 2, № 82. – С. 73–76.
9. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России: справ. ОVPEE-АстраФармСервис. – Москва : АсираФармВестник, 2008. – 1696 с.
10. Пат. 44193 України на корисну модель, МПК (2009) А 61 К 36/00, А 61 Р 35/00 Фармацевтична лікувально-профілактична композиція на основі рослинної сировини / Трутаєв І. В., Трутаєв С. І., Тихонов О. І.; заявник та патентовласник Трутаєв Ігор Вікторович. – № u 200903174; опубл. 25.09.09, Бюл. № 18.
11. Методические рекомендации по изучению гиполлипидемического и антисклеротического действия лекарственных средств / В. Е. Рыженков, В. Г. Макаров, О. В. Ремезова, М. Н. Макарова // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – Москва : Гриф и К, 2012. – С. 445–452.
12. Kellner A. Sustained hyperlipemia induced in rabbits by means of intravenously injected surface-active agents / A. Kellner, J. W. Correll, A. T. Ladd // Journal of Experimental Medicine. – 1951. – Т. 93, №. 4. – P. 373–383.
13. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета программ Statistica / О. Ю. Реброва. – Москва : МедиаСфера, 2006. – 312 с.

**О. Ю. Кошова, С. А. Гращенкова, С. Ю. Штриголь, В. С. Щербініна,  
І. В. Трутаєв, Т. К. Юдкевич, О. П. Єрьомін**  
**Дослідження впливу капсул «Равісол®» на розвиток гіперліпідемії в щурів,  
викликаній Твіном-80**

Широка розповсюдженість серцево-судинних захворювань, пов'язаних з розвитком атеросклерозу, стимулює пошук нових підходів до лікування та створення нових безпечних та ефективних лікарських засобів.

*Мета дослідження* – вивчення гіполіпідемічної активності двох зразків капсул «Равісол®»: «Равісол®-1» з умістом густого екстракту та «Равісол®-2» з умістом подрібненої суміші лікарської рослинної сировини.

У дослідженні була використана модель гіперліпідемії, яка викликана внутрішньоочеревинним введенням твіну-80 у дозі 200 мг/100 г маси тіла. Для оцінки виразності гіполіпідемічної дії досліджуваних тест-зразків у сироватці крові визначали вміст загального холестерину (ХС), ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ) та тригліцеридів (ТГ) за допомогою діагностичних наборів фірми СпайнЛаб, Україна. Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою пакета програм «Statistica 6».

У роботі наведені результати дослідження впливу нового рослинного лікарського засобу капсул «Равісол®» на розвиток гіперхолестеринемії в щурів. Показано виразну ефективність досліджуваного зразка. Обґрунтовано оптимальний склад та визначено ефективну дозу препарату «Равісол®» за внутрішньошлункового введення лабораторним тваринам. Визначено, що капсули «Равісол®-1» з умістом густого екстракту переважно впливають на рівень ТГ та ЛПВЩ, а капсули «Равісол®-2» з умістом подрібнених лікарських рослин знижують гіперхолестеринемію. Отримані дані обґрунтовують перспективність подальших фармакологічних досліджень.

*Ключові слова:* серцево-судинні захворювання, гіперліпідемія, атеросклероз, Равісол®, капсули

---

**О. Ю. Кошева, С. А. Гращенко, С. Ю. Штриголь, В. С. Щербинина,  
И. В. Трутаев, Т. К. Юдкевич, О. П. Еремин**

### **Исследование влияния капсул «Рависол®» на развитие гиперлипидемии у крыс, вызванной Твином-80**

Широкая распространенность сердечно-сосудистых заболеваний, связанных с развитием атеросклероза, стимулирует поиск новых подходов к лечению и создание новых безопасных и эффективных лекарственных средств.

*Цель исследования* – изучение гиполлипидемической активности двух образцов капсул «Рависол®»: «Рависол®-1» с содержанием густого экстракта и «Рависол®-2» с содержанием измельченной смеси лекарственного растительного сырья.

В исследовании была использована модель гиперлипидемии, вызванной внутрибрюшинным введением твина-80 в дозе 200 мг/100 г массы тела. Для оценки выраженности гиполлипидемического действия исследуемых тест-образцов в сыворотке крови определяли содержание общего холестерина (ХС), липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) и триглицеридов (ТГ) с помощью диагностических наборов фирмы СпайнЛаб, Украина.

В работе приведены результаты исследования влияния нового растительного лекарственного средства капсул «Рависол®» на развитие гиперхолестеринемии у крыс. Показана выразительная эффективность исследуемого образца. Обоснован оптимальный состав и определена эффективная доза препарата «Рависол®» при внутрижелудочном введении лабораторным животным. Определено, что капсулы «Рависол®-1» с содержанием густого экстракта преимущественно влияют на уровень ТГ и ЛПВП, а капсулы «Рависол®-2» с содержанием измельченных лекарственных растений снижают гиперхолестеринемия. Полученные данные обосновывают перспективность дальнейших фармакологических исследований.

*Ключевые слова:* сердечно-сосудистые заболевания, гиперлипидемия, атеросклероз, Рависол®, капсулы

**O. Yu. Koshova, S. A. Grashchenkova, S. U. Shtrygol, V. S. Shcherbinina,  
I. V. Trutaev, T. K. Udkevich**

### **The influence of «Ravisol®» capsules on the hyperlipidemia development in rats caused by Tween-80**

The wide prevalence of cardiovascular diseases related with the development of atherosclerosis stimulates to search new approaches to treat and develop new safe and effective medicines.

*The aim of study* – to research lipid lowering activity of two samples of «Ravisol®» capsules: «Ravisol®-1» with a thick extract and «Ravisol®-2» with crushed mixture of medicinal plant material.

The hyperlipidemia model caused by intraperitoneal injection of Tween 80 at a dose of 200 mg/100 g of body weight was used in the research. To assess the hypolipidemic effect of the test samples in the blood serum, the content of general cholesterol (CHOL), cholesterol HDL and triglycerides (TG) were determined using the SpinLab diagnostic kit, Ukraine.

The work contains the results as to the influence of new phytomedicine «Ravisol®» capsules on the development of hypercholesterolemia in rats caused by intragastrical introduction of Tween-80. Pronounced effectiveness of the test specimen is shown. The effective doses of «Ravisol®» at intragastrical administration to laboratory animals are fixed. It is determined that the «Ravisol®-1» capsules with a thick extract mainly influence on the level of TG and cholesterol HDL, and the «Ravisol-2» capsules with crushed medicinal plants reduce the hypercholesterolemia. The data obtained substantiate the prospects of further pharmacological studies.

*Key words:* cardiovascular diseases, hypercholesterolemia, triglycerides, atherosclerosis, Ravisol®, capsules

---

Надійшла: 24 квітня 2017 р.

**Контактна особа:** Кошова Олена Юріївна, кандидат фармацевтичних наук, Центральна науково-дослідна лабораторія, Національний фармацевтичний університет, буд. 12, вул. Куликівська, м. Харків. Тел.: + 38 0 95 34 77 615. Електронна пошта: elenko926734@gmail.com



А. Ю. Маркина, О. Я. Мищенко

## Скрининговые исследования новых производных 2-оксоиндолина

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

*Ключевые слова:* производные 2-оксоиндолина, диуретическая активность, скрининг

Среди производных 2-оксоиндолина исследовано и внедрено в практическую медицину целый ряд лекарственных средств с разными видами активности [1–4]. Также сегодня большое количество субстанций, производных индола, находятся на этапе доклинического исследования. Среди исследуемых видов активности – ноотропная, анксиолитическая, антигипоксическая, противовоспалительная, анаболическая, церебропротекторная и др. [5–10].

На фармакологическую активность производных 2-оксоиндолина оказывают влияние радикалы, поэтому синтез биологически активных веществ проводится по всему миру крупнейшими фармацевтическими компаниями и исследовательскими институтами во многих направлениях – ввод функциональных групп, химические превращения функциональных производных, окисление, восстановление и др. [11–13].

Номенклатура производных индола с диуретическим действием достаточно ограничена, однако результаты проведенного компьютерного прогноза свидетельствуют о потенциальной диуретической активности данных производных, в частности 2-оксоиндолина. В связи с этим, производные 2-оксоиндолина являются перспективными для создания на их основе высокоэффективных и малотоксичных препаратов с диуретическим действием.

*Цель исследования* – изучение диуретического действия 12 новых производных 2-оксоиндолина и установление взаимосвязи между структурой молекулы и величиной фармакологической активности.

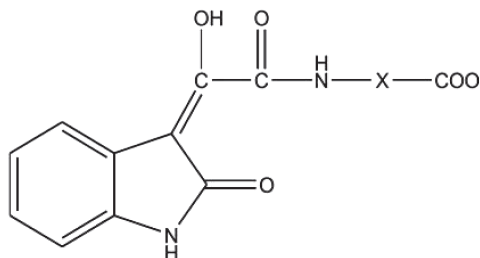
**Материалы и методы.** Объектом фармакологического изучения были производные 2-оксоиндолина (эфир N-[(2-оксоиндолинилиден-3)-2-оксиацетил]-аминокислот) (таблица), которые синтезировали на кафедре аналитической химии Национального фармацевтического университета под руководством профессора С. В. Колесника.

Диуретическую активность изучали на белых нелинейных крысах-самцах массой  $(180,0 \pm 20,0)$  г по методу Е. Б. Берхина [14]. Подопытные животные находились в виварии центральной научно-исследовательской лаборатории Национального фармацевтического университета при постоянной температуре и влажности воздуха со свободным доступом к воде и пище. С животными обращались в соответствии с международными принципами Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей (Страсбург, 1986 г.).

Исследуемые производные 2-оксоиндолина вводили однократно внутрижелудочно в виде тонкодисперсной водной суспензии, стабилизированной твином-80 на фоне водной нагрузки (25 мл/кг). Препаратами сравнения были фуросемид (ЗАО НПЦ «Борщаговский ХФЗ», Украина) в дозе 5 мг/кг и гидрохлортиазид (ЗАО НПЦ «Борщаговский ХФЗ», Украина) в дозе 25 мг/кг. Диуретическую активность оценивали по интенсивности мочеиспускания – количеству мочи, собранной за 4 ч в пересчете на 100 г массы тела по сравнению с животными интактного контроля, количество мочи у которых принимали за 100 %. Все полученные результаты обрабатывали статистически, достоверной считали разницу показателей при  $p < 0,05$  [15].

**Результаты и их обсуждение.** В результате проведенных скрининговых

**Характеристика эфиров N-[2-оксоиндолиниден-3]-2-оксиацетил]-аминокислот общей формулы**



№ п/п	Шифр соединения	X	R	Брутто-формула
1	6.1	CH(CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> )	CH <sub>3</sub>	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
2	6.2	CH(CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> )	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
3	6.3	CH(CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> )	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
4	7.1	CH(CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> )	CH <sub>3</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
5	7.2	CH(CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> )	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
6	7.3	CH(CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> )	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
7	8.1	CH(COOH)CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
8	8.2	CH(COOH)CH <sub>2</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>7</sub>
9	8.3	CH(COOH)CH <sub>2</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>7</sub>
10	9.1	CH(COOH)CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>7</sub>
11	9.2	CH(COOH)CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>7</sub>
12	9.3	CH(COOH)CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> N <sub>2</sub> O <sub>7</sub>

исследований на наличие диуретического действия установлено, что из 12 новых соединений 5 проявляют диуретическую активность (рисунок). Установлено, что увеличение выделительной функции почек на 105–198 % вызывают производные 2-оксоиндолина, содержащие в своих молекулах остаток одноосновной моноаминокислоты валина (соединения под шифром 6.1–6.3) (рисунок). Удлинение цепи аминокислоты на одно метиленовое звено (остаток лейцина), наоборот, приводит к резкому снижению или отсутствию мочегонного эффекта соединений 7.1–7.3. Длина алифатической цепи эфирной группировки также влияет на величину диуретического эффекта производных 2-оксоиндолина. По выраженности диуретической активности эфиры можно распо-

ложить в такой последовательности: пропиловые (соединения 6.3; 7.3) > метиловые (соединения 6.1; 7.1) > этиловые (соединения 6.2; 7.2).

Вещества, структурными фрагментами которых являются остатки двухосновных моноаминокислот (соединения под шифром 8.1–9.3) по выраженности диуретической активности занимают промежуточное место между соединениями, содержащими валин (соединения 6.1; 6.2; 6.3) и лейцин (соединения 7.1; 7.2; 7.3). При этом эфиры аспарагиновой кислоты (соединения под шифром 8.1–8.3), которые содержат на одну метиленовую группу меньше, оказались более активными, чем эфиры глутаминовой кислоты (соединения под шифром 9.1–9.3.).

Анализ результатов эксперимента показал, что наиболее выраженное



диуретическое действие проявляет соединение под шифром 6.3 – пропиловый эфир N-[(2-оксоиндолинилиден-3)-2-оксиацетил]-валина, применение которого увеличивает диурез у крыс в 2 раза относительно группы интактного контроля. Также следует отметить, что по величине эффекта новое соединение превосходило препарат сравнения гидрохлортиазид в 1,2 раза и уступало наиболее мощному диуретику фуросемиду.

Таким образом, по результатам скринингового исследования диуретической активности обнаружено соединение-лидер – пропиловый эфир N-[(2-оксоиндолинилиден-3)-2-оксиацетил]-валина (соединение под шифром 6.3),

диуретическая активность которого равна 198 %.

#### Выводы

1. Производные 2-оксоиндолина являются перспективным классом соединений, которые проявляют диуретическую активность, величина которой зависит от количества метиленовых групп.
2. По результатам исследования диуретической активности обнаружено соединение-лидер – пропиловый эфир N-[(2-оксоиндолинилиден-3)-2-оксиацетил]-валина (соединение под шифром 6.3), диуретическая активность которого превосходит препарат сравнения гидрохлортиазид в 1,2 раза и уступает наиболее мощному диуретику фуросемиду.

1. Synthesis and biological evaluation of diversely substituted indolin-2-ones / F. Bouchikhi, E. Rossignol, M. Sancelme [et al.] // Eur. J. Med. Chem. – 2010. – V. 43, № 11. – P. 2316–2322.
2. Jost W. H. Ropinirol, a non-ergoline dopamine agonist / W. H. Jost, D. T. Angersbach // CNS Drug Reviews. – 2005. – V. 11, № 3. – P. 253–272.
3. Компендиум-2013 – Лекарственные препараты / под ред. В. Н. Коваленко, А. П. Викторова. – Киев : Морион, 2013. – 2270 с.
4. Успехи в химии и химической технологии: сб. науч. тр. Том XXX, У78 № 1 (170). – Москва : РХТУ им. Д. И. Менделеева, 2016. – 100 с.
5. Колісник С. В. Синтез, фізико-хімічні властивості і біологічна активність N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксиацетил]-амінокислот та їх похідних / С. В. Колісник, В. В. Болотов // Вісник фармації. – 2010. – № 3 (63). – С. 30–34.
6. Колісник С. В. Синтез, властивості і біологічна активність N-[2-оксоіндолініліден-3)-2-оксиацетил]-омега-амінокислот та їх похідних / С. В. Колісник, В. В. Болотов, О. В. Ляшенко // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2009. – Т. 5, № 4 (28). – С. 55–59.
7. Цубанова Н. А. Изучение гепатопротекторного действия спироциклического производного оксиндола в условиях острого тетрахлорметанового гепатита / Н. А. Цубанова // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – № 3 (28). – С. 61–65.

8. New routes to oxindole derivatives / M. Porcs-Makkay, B. Volk, R. Kapiller-Dezsöfi [et al.] // Monatshefte für Chemie. – 2004. – V. 135, № 6. – P. 697–711.
9. Пат. 90357 Україна, МПК (2009) А61К31/33 А61К31/404 С07D209/04 С07D209/34 А61Р25/28. Застосування похідних 2-оксоіндолін-3-гіюксілової кислоти як засобів ноотропної дії / Болотов В. В., Колісник С. В., Штриголь С. Ю., Стахіарний О. О.; заявник і патентовласник Національний фармацевтичний університет. – № а 2008 07081; заявл. 21.05.2008; опубл. 26.04.2010, Бюл. № 8.
10. Пат. 91166 Україна, МПК (2010) А61К 31/404 А61К31/405 С07D209/34 А61Р25/28 А61Р25/22. Застосування етилового естеру N – [(2- оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінооцтової кислоти як ноотропного та анксиолітичного засобу / Болотов В. В., Колісник С. В., Штриголь С. Ю., Шатілов О. В.; заявник і патентовласник Національний фармацевтичний університет. – № а 2009 08644; заявл. 17.08.2009; опубл. 25.06.2010, Бюл. № 12.
11. Shimazawa R. Design and synthesis of N-alkyl oxindolylidene acetic acids as a new class of potent Cdc25A inhibitors / R. Shimazawa, M. Kuriyama, R. Shirai // Bioorg. Med. Chem. Lett. – 2008. – V. 18, № 11. – P. 3350–3353.
12. Пат. 4658037 США, МКИ С 07 D 209/34. НКИ 548/486. Intermediates for 1,3-disubstituted 2-oxindoles as analgesic and antiinflammatory agents / Kadin Saul B. (США). – №9/1985; заявл. 20.09.83; опубл. 30.12.85.
13. Пат. 4686224 США, МКИ С 07 D 209/42. НКИ 514/275. Oxindole antiinflammatory agents / Lawrence Melvin S.(США). – № 5/1985; 5.05.83; опубл. 6.08.85.
14. Берхин Е. Б. Методы изучения влияния новых химических соединений на функцию почек / Е. Б. Берхин // Хим. фармац. журнал. – 1977. – Т. 11, № 5. – С. 3–11.
15. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXEL / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – Киев : МОРИОН, 2000. – 320 с.

**А. Ю. Маркина, О. Я. Мищенко**

### **Скрининговые исследования новых производных 2-оксоиндолина**

Среди производных 2-оксоиндолина исследованы и внедрены в практическую медицину ряд лекарственных средств с разными видами активности. Большая часть субстанций данной химической группы находится в стадии доклинических исследований. На данный момент номенклатура производных оксидола с диуретическим действием достаточно ограничена.

*Цель исследования* – изучение диуретического действия 12 новых производных 2-оксоиндолина и установление взаимосвязи между структурой молекулы и фармакологической активностью веществ.

Исследование диуретического действия проведено на белых нелинейных крысах с использованием модели Е. Б. Берхина. В качестве препаратов сравнения использованы диуретики фуросемид и гидрохлортиазид.

В результате эксперимента установлено, что из 12 новых соединений 5 проявляют диуретическую активность. Анализ результатов показал, что наиболее выраженное диуретическое действие проявляет соединение под шифром 6.3 – пропиловый эфир N-[(2-оксоиндолиниліден-3)-2-оксіацетил]-валина, применение которого увеличивает диурез у крыс на 198 % относительно группы интактного контроля, что в 1,2 раза выше активности гидрохлортиазида. Установлена зависимость диуретической активности новых производных 2-оксоиндолина от наличия в их молекуле различных функциональных групп – наибольшей диуретической активностью обладают соединения, содержащие в своей структуре остаток одноосновной моноаминокислоты валина.

*Ключевые слова:* производные 2-оксоиндолина, диуретическая активность, скрининг

**А. Ю. Маркина, О. Я. Мищенко**

### **Скринингові дослідження нових похідних 2-оксоіндоліну**

Серед похідних 2-оксоіндоліну досліджено та впроваджено в медичну практику низку лікарських засобів з різними видами активності. Більша частина субстанцій даної хімічної групи знаходиться на стадії доклінічних досліджень. Натепер номенклатура похідних оксидолу з діуретичною дією досить обмежена.

*Мета дослідження* – вивчення діуретичної дії 12 нових похідних 2-оксоіндоліну та встановлення зв'язку між структурою молекули та фармакологічною активністю речовин.

Дослідження діуретичної дії проведені на білих нелінійних щурах з використанням моделі Е. Б. Берхіна. Як препарати порівняння використано діуретики фуросемід та гідрохлортиазид.

У результаті експерименту встановлено, що з 12 нових сполук 5 виявляють діуретичну активність. Аналіз результатів показав, що найвираженішу діуретичну дію виявляє сполука під шифром 6.3 – пропиловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну, застосування якого збільшує диурез у щурів на 198 % відносно групи інтактного контролю, що в 1,2 разу перевищує активність гідрохлортиазиду. Встановлено залежність діуретичної активності нових похідних 2-оксоіндоліну від наявності в їхній молекулі різних функціональних груп – найбільшу діуретичну активність мають сполуки, що містять у своїй структурі залишок одноосновної моноамінокислоти валіну.

*Ключові слова:* похідні 2-оксоіндоліну, діуретична активність, скринінг

---

---

**A. Yu. Markina, O. Ya. Mishchenko**

### **Screening research of new derivatives of 2-oxoindoline**

Among the derivatives of 2-oxoindoline, a number of drugs with different types of activity have been studied and introduced into practical medicine. Most of the substances of this chemical group are in the preclinical research stage. At the moment, the nomenclature of derivatives of oxindole with a diuretic effect is rather limited.

*The aim of the study* was to investigate the diuretic action of 12 new derivatives of 2-oxoindoline and to establish the relationship between the structure of the molecule and the pharmacological activity of the substance.

The study of diuretic action was carried out on white nonlinear rats using the model n.a. E. B Berkhin. Diuretics furosemide and hydrochlorothiazide were used as reference drugs.

As a result of the experiment, it was found that 5 compounds from the 12 showed diuretic activity. The analysis of the results showed that the most pronounced diuretic effect was shown by compound (code 6.3) – propyl ester of N-[(2-oxoindolinidene-3)-2-hydroxyacetyl]-valine, its administration increases diuresis in rats by 198 % compared to the intact control group, which 1,2 times higher than the activity of hydrochlorothiazide.

The dependence of the diuretic activity of the new 2-oxoindoline derivatives on the presence of various functional groups in their molecule was found. The compounds with valine in their structure possess the greatest diuretic activity.

*Key words:* 2-oxoindoline derivatives, diuretic activity, screening

---

*Надійшла: 25 травня 2017 р.*

**Контактна особа:** Маркіна А. Ю., клінічний провізор, кафедра клінічної фармакології Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації, Національний фармацевтичний університет, буд. 17, вул. Захисників України, м. Харків. Тел.: + 38 0 57 732 89 53.  
Електронна пошта: clinpharmacol\_ipksph@nuph.edu.ua



С. І. Трутаєв, С. Ю. Штриголь, С. А. Гращенко, І. О. Лебединець

## Аналгетична дія субстанції зирилону на моделі болю з переважно центральним механізмом ноцицепції та її модуляція адренотропними препаратами

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

**Ключові слова:** зирилон  
(2,4-дихлорбензойної кислоти калієва  
сіль), аналгетична дія, механізми  
ноцицепції, клонідин, пропранолол, миші

Лікарські препарати аналгетичної дії формують один з найбільших сегментів фармацевтичного ринку. Зважаючи на поширеність скарг на біль, який супроводжує більшість патологічних процесів, його суттєвий вплив на працездатність та якість життя, недостатню результативність методів подолання хронічного болю, створення нових високоактивних знеболювальних препаратів з високим ступенем безпечності залишається актуальним завданням [1]. У цьому аспекті привертає увагу зирилон (2,4-дихлорбензойної кислоти калієва сіль), який є високоактивним аналгетиком та протизапальним засобом. За терапевтичним індексом він перевершує метамізол натрію та диклофенак натрію [2]. Для лікування мігрені запропоновано комбінацію 2,4-дихлорбензойної кислоти калієвої солі з кофеїном і карбамазепіном [3, 4]. Зирилон може ефективно поєднуватися зі спазмолітиками, прикладом є таблетки «Долосан Форте®», створені на ПАТ «ХФЗ «Червона зірка», до складу яких входять пітофенону гідрохлорид та фенпіверинію бромід. Вони характеризуються високою активністю та достатнім рівнем безпечності [5, 6]. Тривають дослідження зі створення інших комбінацій, що містять зирилон, фармакодинаміка яких доповнена нейропротекторною дією та іншими видами активності. З огляду на ці дані, зирилон – перспективна субстанція, поглиблене дослідження фармакодинаміки якої є доцільним.

**Мета дослідження** – визначити аналгетичну дію зирилону на моделі болю в тесті «гаряча пластина» та оцінити участь у ній  $\alpha$ - та  $\beta$ -адренергічних механізмів ноцицепції.

**Матеріали та методи.** Досліди проведено з дотриманням правил Конвенції Ради ЄС з питань захисту тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей, за схвалення комісії НФаУ з біоетики. Догляд за тваринами та маніпуляції проводили відповідно до стандартних операційних процедур ЦНДЛ НФаУ.

Використано безпородних мишей-самців віком 3,5–4,0 міс, масою тіла ( $20 \pm 2$ ) г, розведення ФОР ШАПОВАЛОВ О. Ю. Центральні механізми аналгетичної дії вивчали на моделі «гаряча пластина» з використанням термостатичної бані. Рандомізацію тварин проводили за вихідним значенням латентного періоду (ЛП), який визначали двічі, розраховуючи середнє значення. Тварин, у яких ЛП перевищував 8 с, до експерименту не включали [7]. Реакцію тварин на подразнення (підстрибування, облизування або струшування задньої лапи) реєстрували у секундах на гарячій пластині (+ 52 °C). З метою мінімізації пошкоджень тканин час перебування тварин на гарячій пластині обмежували 20–30 с.

Оцінювали ефективність зирилону (субстанцію отримано на ПАТ «ХФЗ «Червона зірка») *per se* порівняно з класичним аналгетиком метамізолом натрію (таблетки «Анальгін-Дарниця», ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця»). Визначали участь  $\alpha_2$ - та  $\beta$ -адренергічних процесів у механізмах його дії. Для цього обрано препарати з добре вивченими механізмами аналгетичної

дії –  $\alpha_2$ -адреноміметик клонідину гідрохлорид («Клофелін-Дарниця», ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця») та  $\beta$ -адреноблокатор пропранололу гідрохлорид (ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я»), які вводили окремо або в комбінації з зирилоном. Останній використано в дозі 5 мг/кг, яка чинить найвираженішу аналгетичну дію в складі таблеток «Долосан Форте®» [5], натрію метамізол – у дозі 50 мг/кг [8], пропранололу гідрохлорид – у дозі 4 мг/кг, клонідину гідрохлорид – у дозі 10 мкг/кг доочередивно за обох режимів введення. Використані дози  $\alpha_2$ -адреноміметика та  $\beta$ -адреноблокатора забезпечують достатній вплив на адренорецептори в експерименті [9, 10]. Тварини групи модельної патології (МП) отримували розчинник в аналогічному об'ємі.

Оцінювали зміни больового порога після введення досліджуваних сполук у динаміці – через 30, 60, 120 і 180 хв, розраховували площу під кривою (AUC, с/3 год) у програмі «MedCalc».

Результати проаналізовано за допомогою програми Statistica-6. Дані представлено у вигляді  $M (M_{\min} \div M_{\max})$ , для оцінки міжгрупових розбіжностей використовували метод Крускала-Уолліса та критерій Манна-Уїтні.

**Результати та їх обговорення.** У тварин групи МП ЛП реакції на термічне подразнення як на початку досліджу, так і протягом усього терміну спостереження суттєво не змінювався (таблиця). На тлі зирилону та натрію метамізолу реєстрували статистично значуще збільшення часу реакції впродовж усіх 3 год, що свідчить про виражену аналгетичну дію.

Ефективність зирилону була наявною в усі терміни (достовірні розбіжності з групою МП), показник AUC порівняно з групою МП зростав у 1,8 разу (рис. 1). На тлі натрію метамізолу ЛП збільшувався в динаміці (серія 2), що було більш вираженим на 2 та 3 год порівняно з даними групи зирилону (таблиця), показник AUC перевищував такий у групі МП у 2,8 разу. Проте слід відзначити, що доза натрію метамізолу в 10 разів вища, ніж доза зирилону. Ці результати узгоджуються з відомими даними щодо високої актив-

ності зирилону як *per se* [2], так і в комбінації зі спазмолітиками [5].

Клонідину гідрохлорид також виявляв виразну аналгетичну активність, однак вона розпочиналася повільніше, достовірні відмінності від показника групи МП наявні лише з 1,5 год. Відомо, що цей препарат виявляє знеболювальний ефект при ноцицептивних стимулах термічної, електричної та хімічної природи. Фармакологічний аналіз з використанням антагоністів показав, що аналгезію під впливом клонідину гідрохлориду забезпечує провідна ланка механізму його дії – активація центральних постсинаптичних  $\alpha_2$ -адренорецепторів, опіатні рецептори не залучені до цього ефекту [7, 11, 12].

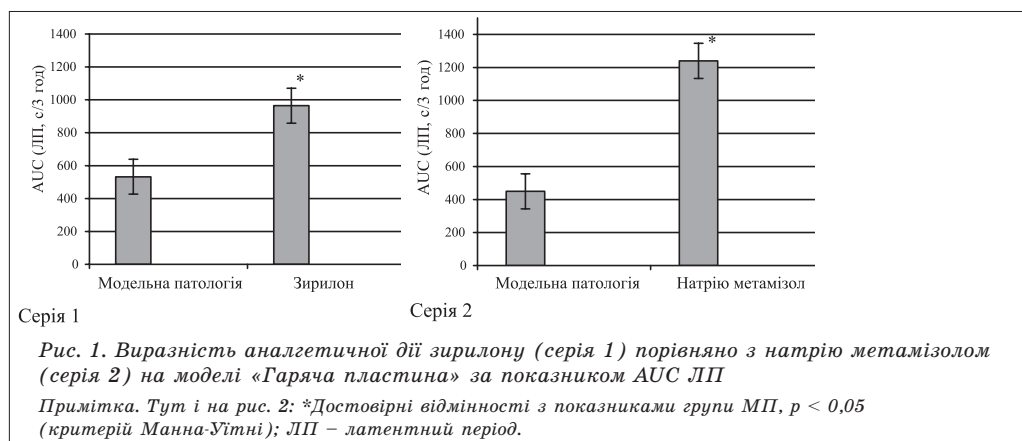
За виразністю дії клонідину гідрохлорид та зирилон є зіставляваними (достовірних відмінностей між показниками цих груп немає, таблиця). За комбінованого введення цих препаратів, як і на тлі зирилону *per se*, больова чутливість тварин знижувалася вже з 1 год досліджу, аналгетичний ефект зберігався в усі терміни спостереження, за вираженістю він не відрізнявся від такого в групах тварин, якими зирилон та клонідину гідрохлорид вводили в режимі монотерапії. За інтегральним показником AUC ЛП суттєвих відмінностей між групами також немає (рис. 2). Отже зирилон не блокує  $\alpha$ -адренергічні механізми знеболення, але й не виявляє синергізму з центральним агоністом  $\alpha_2$ -адренорецепторів.

Відомо, що  $\beta$ -адренорецептори беруть участь у регуляції больової чутливості, а  $\beta$ -адреноблокатор пропранололу гідрохлорид виявляє аналгетичну дію [7, 11, 12]. Цю дію виявлено й у нашому дослідженні (таблиця): суттєвий достовірний ефект реєстрували з 1,5 год спостереження, він зберігався до кінця досліджу на високому рівні. За комбінованого застосування зирилону та пропранололу гідрохлориду відбувалося зростання аналгетичної дії. Хоча розбіжності між цією групою та групою тварин, яким вводили зирилон *per se*, не сягали статистичної значущості, виразну тенденцію спостерігали в усі терміни, особливо на 2 год (таблиця,  $p = 0,065$ ). За інтегральним показником

**Аналгетична дія субстанції зирилону, пропранололу гідрохлориду, клонідину гідрохлориду та натрію метамізолу на моделі «Гаряча пластина» у мишей, n = 6 М (Min ÷ Max)**

Група тварин	Тривалість латентного періоду, с				
	вихідне значення	1,0 год	1,5 год	2,0 год	3,0 год
<b>1 серія</b>					
Модельна патологія	2,72 (1,12 ÷ 4,32)	2,84 (0,75 ÷ 4,93)	3,14 (0,82 ÷ 5,52)	3,26 (0,51 ÷ 5,97)	2,74 (0,60 ÷ 4,88)
Зирилон, 5 мг/кг	3,64 (2,97 ÷ 4,62)	4,84 (3,67 ÷ 5,95) $p_1 = 0,0260$	5,85 (4,60 ÷ 7,97) $p_1 = 0,0152$	6,37 (4,94 ÷ 9,25) $p_1 = 0,0152$	5,83 (4,85 ÷ 6,81) $p_1 = 0,0043$
Клонідину гідрохлорид, 10 мкг/кг	2,94 (2,23 ÷ 3,90)	3,77 (3,03 ÷ 4,92) $p_1 = 0,3095$ $p_2 = 0,0931$	4,96 (4,03 ÷ 6,20) $p_1 = 0,0260$ $p_2 = 0,2403$	8,03 (5,35 ÷ 10,60) $p_1 = 0,0043$ $p_2 = 0,1320$	5,70 (2,94 ÷ 8,71) $p_1 = 0,0260$ $p_2 = 0,6991$
Зирилон, 5 мг/кг + клонідину гідрохлорид, 10 мкг/кг	4,18 (2,58 ÷ 5,18)	5,39 (3,99 ÷ 6,79) $p_1 = 0,0087$ $p_2 = 0,4848$	6,76 (3,69 ÷ 8,78) $p_1 = 0,0043$ $p_2 = 0,2403$	6,29 (3,59 ÷ 7,99) $p_1 = 0,0152$ $p_2 = 0,8182$	5,90 (3,10 ÷ 7,23) $p_1 = 0,0087$ $p_2 = 0,5887$
Пропранололу гідрохлорид, 4 мг/кг	2,88 (2,09 ÷ 3,65)	3,84 (3,09 ÷ 5,18) $p_1 = 0,2403$ $p_2 = 0,0931$	6,95 (6,04 ÷ 8,65) $p_1 = 0,0022$ $p_2 = 0,0931$	6,67 (5,98 ÷ 7,89) $p_1 = 0,0022$ $p_2 = 0,4848$	6,37 (5,54 ÷ 7,70) $p_1 = 0,0022$ $p_2 = 0,2403$
Зирилон, 5 мг/кг + пропранололу гідрохлорид, 4 мг/кг	4,01 (3,42 ÷ 5,52)	5,82 (3,91 ÷ 7,88) $p_1 = 0,0043$ $p_2 = 0,1797$	7,52 (4,53 ÷ 9,18) $p_1 = 0,0043$ $p_2 = 0,1320$	8,45 (7,06 ÷ 10,6) $p_1 = 0,0022$ $p_2 = 0,0649$	6,70 (5,03 ÷ 7,94) $p_1 = 0,0022$ $p_2 = 0,1320$
<b>2 серія</b>					
Модельна патологія	2,18 (1,87 ÷ 2,73)	1,83 (1,44 ÷ 2,28)	2,19 (1,41 ÷ 3,50)	2,40 (1,09 ÷ 4,91)	4,26 (1,73 ÷ 5,05)
Натрію метамізол, 50 мг/кг	2,53 (1,58 ÷ 3,74)	3,60 (2,49 ÷ 4,41) $p_1 = 0,0022$	6,23 (5,25 ÷ 7,40) $p_1 = 0,0022$	8,56 (5,92 ÷ 11,14) $p_1 = 0,0022$	14,31 (11,54 ÷ 17,19) $p_1 = 0,0022$

Примітка.  $p_1$  – рівень статистичної значущості порівняно з групою модельної патології (критерій Манна-Уїтні);  $p_2$  – рівень статистичної значущості порівняно з групою, що отримувала монотерапію зирилоном (критерій Манна-Уїтні).



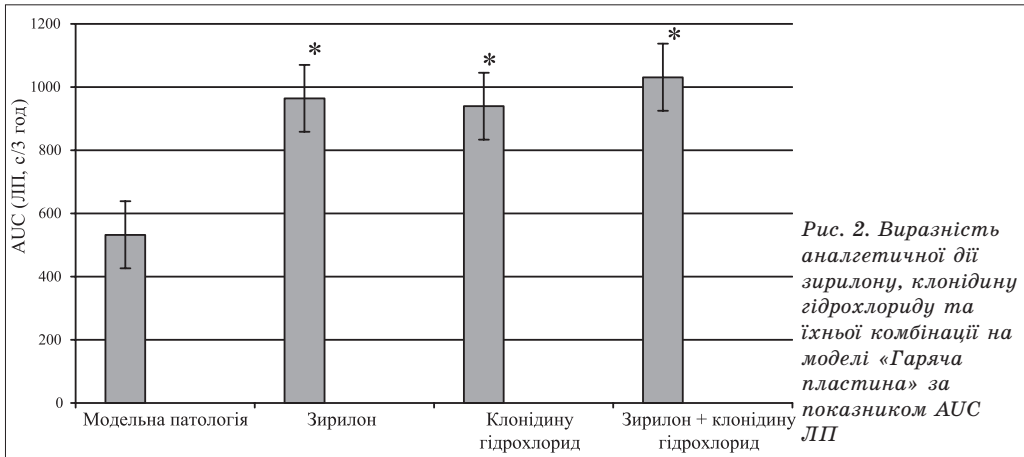


Рис. 2. Виразність аналгетичної дії зирилону, клонідину гідрохлориду та їхньої комбінації на моделі «Гаряча пластина» за показником AUC ЛП

AUC ЛП зазначені групи розрізнялися вірогідно (рис. 3). Отже, результати експерименту свідчать про синергізм аналгетичної активності зирилону та пропранололу гідрохлориду та розширюють уявлення щодо властивостей зирилону, адже відомо, що ця речовина виявляє синергізм з кофеїном та карбамазепіном на моделі з периферичним механізмом ноцицепції [3, 4].

Особливості аналгетичної дії пропранололу гідрохлориду широко обговорюються в літературі. Клінічно доведено здатність пропранололу до зменшення болю в післяопераційному періоді за включення до схем загальної анестезії [13]. У здорових добровольців пропранолол помірно зменшує інтенсивність болю при тепловому подразненні, причому цей ефект наявний лише в тих осіб, у котрих не відбувається зниження АТ [14]. Спрямованість дії пропра-

нололу на центральні механізми ноцицепції в експерименті може бути неоднозначною. У тесті, подібному до методики «гарячої пластини», пропранолол блокує антиноцицептивний ефект, спричинений електростимуляцією медіального чи центрального ядра амігдали щурів [15]. Також відомо, що  $\beta$ -адренорецептори беруть участь у периферичній ноцицепції: пропранолол протидіє посиленому сприйняттю болю в мурчаків при електростимуляції на тлі норадреналіну [16]. Доведена здатність пропранололу викликати місцево-анестезувальний ефект, який посилюється клонідином [17]. Можливо, що  $\beta$ -адренергічні механізми не є провідними у реалізації дії зирилону, тому його фармакодинаміка може сприятливо доповнюватися модуляцією механізмів ноцицепції, притаманною пропранололу.

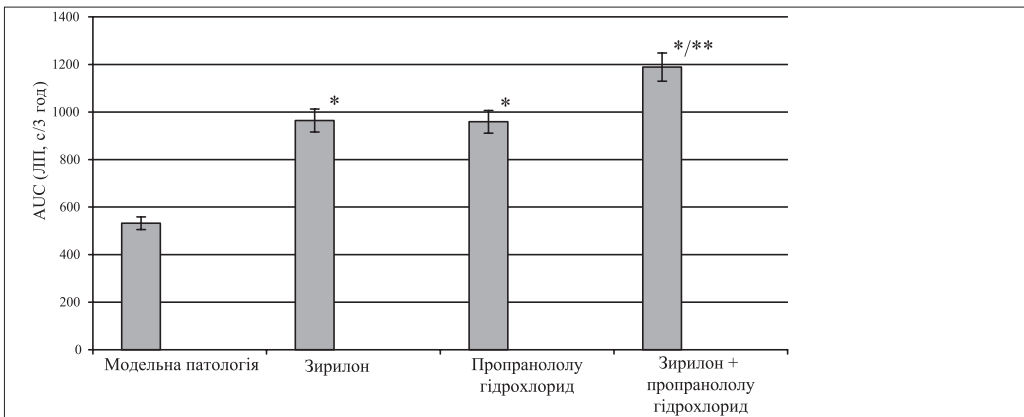


Рис. 3. Виразність аналгетичної дії зирилону, пропранололу гідрохлориду та їхньої комбінації на моделі «Гаряча пластина» за показником AUC ЛП

Примітка. \*Достовірні відмінності з показниками групи модельної патології,  $p < 0,05$  (критерій Манна-Уїтні), \*\*достовірні відмінності з показниками групи тварин, яким вводили зирилон *per se*,  $p < 0,05$  (критерій Манна-Уїтні), ЛП – латентний період.

## Висновки

1. Зирилон (2,4-дихлорбензойної кислоти калієва сіль) у дозі 5 мг/кг виявляє високу анальгетичну активність на моделі «Гаряча пластина». Натрію метамізол чинить виразнішу

дію, однак у десятиразово вищій дозі – 50 мг/кг.

2. Анальгетичний ефект зирилону не змінюється у комбінації з клонідину гідрохлоридом (10 мкг/кг) та достовірно посилюється за поєданого введення з пропранололу гідрохлоридом (4 мг/кг).

1. *Wolkerstorfer A.* New approaches to treating pain / A. Wolkerstorfer, N. Handler, H. Buschmann // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2016. – V. 26, № 4. – P. 1103–1119.
2. *Яковлева Л. В.* Порівняльна характеристика фармакологічної дії в ряді похідних бензойної кислоти / Л. В. Яковлева, О. М. Шаповал, Є. Я. Левітін // *Вісник фармації.* – 2001. – № 3 (27). – С. 172–173.
3. *Сирова Г. О.* Експериментальне та квантово-хімічне обґрунтування створення комбінованого протизапального препарату: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора фарм. наук: спец. 14.03.05 «Фармакологія» / Сирова Ганна Олегівна; *Національний фармацевтичний університет.* – Харків, 2011. – 40 с.
4. Пат. № 29770 на кор. модель, UA, МПК А61К 31/00. Застосування мігреліну як речовини з протибольовими властивостями / Киричок Л. Т., Сирова Г. О., Звягінцева Т. В. та ін. – № 11045; заявл. 25.01.08; опубл. 05.10.07, Бюл. № 2.
5. Експериментальне вивчення анальгетичної, протизапальної та спазмолітичної активності таблеток «Долосан Форте» / С. І. Трутаєв, С. Ю. Штриголь, Є. О. Ковальова, Ю. Ю. Штриголь // *Фармаком.* – 2016. – № 2. – С. 50–54.
6. The results of the acute toxicity studies of «Dolosan Forte®» tablets / S. I. Trutaev, Yu. B. Laryanovska, Yu. Yu. Shtrygol', I. O. Kovalova // *Український біофармацевтичний журнал.* – 2016. – № 6 (47). – С. 50–54.
7. Доклінічні дослідження лікарських засобів; за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – Київ: ВД «Авіцена», 2001. – 528 с.
8. *Довженок І. А.* Дослідження анальгетичної та протизапальної активності рослинних зборів з хвощем польовим / І. А. Довженок, Б. А. Самура // *Вісник фармації.* – 2003. – № 3. – С. 71–73.
9. *Бондарев Е. В.* Експериментальний аналіз ролі адрено- и холинорецепторів во фриго-протекторном действии глюкозамина гидрохлорида / Е. В. Бондарев, С. Ю. Штрыголь // *Вестник фармації.* – 2015. – № 1 (67). – С. 78–82.
10. *Штрыголь С. Ю.* Модуляция фармакологических эффектов при различных солевых режимах / С. Ю. Штрыголь. – Харьков : Авеста-ВЛТ, 2007. – 360 с.
11. *Нейропсихофармакология болеутоляющих средств*; под ред. проф. Ю. Д. Игнатова. – Ленинград, 1986. – 179 с.
12. *Брагин Е. О.* Нейрохимические механизмы регуляции болевой чувствительности / Е. О. Брагин. – Москва : Изд-во УДН, 1991. – 248 с.
13. Beta-adrenergic antagonists during general anesthesia reduced postoperative pain: a systematic review and a meta-analysis of randomized controlled trials / L. Härkänen, J. Halonen, T. Selander, H. Kokki // *J. Anesth.* – 2015. – V. 29, № 6. – P. 934–944.
14. Effects of intravenous propranolol on heat pain sensitivity in healthy men / P. Schweinhardt, Y. B. Abulhasan, V. Koeva [et al.] // *Eur. J. Pain.* – 2013. – V. 17, № 5. – P. 704–713.
15. *Oliveira M. A.* Antinociception induced by stimulating amygdaloid nuclei in rats: changes produced by systemically administered antagonists / M. A. Oliveira, W. A. Prado // *Braz. J. Med. Biol. Res.* – 1998. – V. 31, № 5. – P. 681–690.
16. *Nakamura M.* Mechanism of peripheral pain in the conscious guinea pig: effect of propranolol / M. Nakamura, M. C. Lico // *Braz. J. Med. Biol. Res.* – 1986. – V. 19, № 3. – P. 451–453.
17. Clonidine as an adjuvant for propranolol enhances its effect on infiltrative cutaneous analgesia in rats / C. H. Hung, C. C. Chiu, K. S. Liu [et al.] // *Neurosci Lett.* – 2016. – V. 616. – P. 70–74.

### **С. І. Трутаєв, С. Ю. Штриголь, С. А. Гращенкова, І. О. Лебединець** **Анальгетична дія субстанції зирилону на моделі болю з переважно** **центральною механізмом ноцицепції та її модуляція адренотропними** **препаратами**

Зирилон (2,4-дихлорбензойної кислоти калієва сіль) є високоактивним анальгетичним та протизапальним засобом з високим рівнем безпечності. З метою розширення уявлень про фармакодинаміку зирилону досліджено його анальгетичну дію на моделі болю з переважно центральною механізмом ноцицепції (тест «гаряча пластина» у мишей) за введення в режимі монотерапії (у дозі 5 мг/кг) та за поєданого введення з пропранололу гідрохлоридом (4 мг/кг) або клонідину гідрохлоридом (10 мкг/кг). Підтверджено високу анальгетичну активність зирилону *per se* (препарат порівняння натрію метамізол виявляв виразнішу дію, однак у десятиразово вищій дозі – 50 мг/кг), яка не змі-



---

---

нуються в комбінації з клонідину гідрохлоридом та достовірно посилюється за поєданого введення з пропранололу гідрохлоридом. Таким чином, зирилон не блокує  $\alpha$ -адренергічні механізми знеболення, але й не виявляє синергізму з центральним агоністом  $\alpha_2$ -адренорецепторів на відміну від блокатора  $\beta$ -адренорецепторів. Створення препаратів анагетичної дії на основі зирилону є перспективним.

*Ключові слова:* зирилон (2,4-дихлорбензойної кислоти калієва сіль), анагетична дія, механізми ноцицепції, клонідин, пропранолол, миші

**С. И. Трутаев, С. Ю. Штрыголь, С. А. Гращенкова, И. А. Лебединец**  
**Анальгезирующее действие субстанции зирилон на модели боли с преимущественно центральным механизмом ноцицепции и его модуляция адренотропными препаратами**

Зирилон (2,4-дихлорбензойной кислоты калиевая соль) – высокоактивное анальгетическое и противовоспалительное средство с высокой степенью безопасности. С целью расширения сведений о фармакодинамике зирилон исследовано его анальгетическое действие на модели боли с преимущественно центральным механизмом ноцицепции (тест «горячая пластина» у мышей) при введении в режиме монотерапии (в дозе 5 мг/кг) и при сочетанном введении с пропранолола гидрохлоридом (4 мг/кг) или клонидина гидрохлоридом (10 мкг/кг). Подтверждена высокая анальгетическая активность зирилон *per se* (препарат сравнения натрия метамизол проявлял более выраженное действие, однако в дозе 50 мг/кг, десятикратно превышающей дозу зирилон), которая не изменялась в комбинации с клонидина гидрохлоридом и достоверно усиливалась при сочетанном введении с пропранолола гидрохлоридом. Таким образом, зирилон не блокирует  $\alpha$ -адренергические механизмы обезболивания, но и не проявляет синергизма с центральным агонистом  $\alpha_2$ -адренорецепторов в отличие от блокатора  $\beta$ -адренорецепторов. Создание препаратов анальгетического действия на основе зирилон перспективно.

*Ключевые слова:* зирилон (2,4-дихлорбензойной кислоты калиевая соль), анальгезирующее действие, механизмы ноцицепции, клонидин, пропранолол, мыши

**S. I. Trutaev, S. Yu. Shtrygol', S. A. Grashchenkova, I. A. Lebedinetz**  
**Analgesic action of zirilon substance on the model of pain with predominantly central nociception mechanism and its modulation by adrenergic drugs**

Zirilon (2,4-dichlorobenzoic acid potassium salt) is a highly effective analgesic and anti-inflammatory agent with a high level of safety. In order to increase our understanding of zirilon pharmacodynamics, its analgesic effect was studied on the model of pain with predominantly central mechanism of nociception (the hot plate test in mice) using monotherapy with zirilon (5 mg/kg) or its combined administration with propranolol hydrochloride (4 mg/kg) or clonidine hydrochloride (10 mcg/kg). The high analgesic activity of zirilon has been confirmed (the reference drug sodium metamizole exhibited a more pronounced effect, still its dose was tenfold higher than the dose of zirilon). This activity was not changed after combined administration with clonidine hydrochloride and was significantly enhanced when combined with propranolol hydrochloride. Thus, zirilon does not block  $\alpha$ -adrenergic mechanisms of analgesia, but also does not show synergistic action with the central agonist of  $\alpha_2$ -adrenoreceptors, in contrast to the  $\beta$ -adrenoreceptor blocker. The further development of analgesic drugs with zirilon is expedient.

*Key words:* zirilon (2,4-dichlorobenzoic acid potassium salt), analgesic action, nociception mechanisms, propranolol, clonidine, mice

---

Надійшла: 24 квітня 2017 р.

**Контактна особа:** Штрыголь Сергій Юрійович, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології, Національний фармацевтичний університет, буд. 53, вул. Пушкінська, м. Харків, 61002. Тел. +38 0 57 706 30 69. Електронна пошта: farmacol@nuph.edu.ua, shtrygol@mail.ru

Д. А. Хмиль, В. А. Костенко

## **Эффективность сочетанного применения L-аргинина и ингибитора ядерного фактора κВ для коррекции последствий окислительно-нитрозирующего стресса в коже крыс при избыточном поступлении в организм нитрата натрия**

*Высшее государственное учебное заведение Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия», г. Полтава*

*Ключевые слова: окислительно-нитрозирующий стресс, L-аргинин, ядерный фактор κВ, интоксикация нитратами, кожа*

Загрязнение окружающей среды неорганическими нитросоединениями в настоящее время считается глобальной экологической проблемой [1]. К числу основных источников нитратов относят органические и минеральные удобрения, а также атмосферные осадки техногенного происхождения.

Известно, что универсальный механизм действия нитратов связан с их восстановлением до нитрит-ионов, а тех, в свою очередь, до оксида азота (NO) с риском образования активных форм азота (пероксинитрита, диоксида азота и др.) [2–5].

В последние годы отмечается роль NO в физиологической регуляции функций кожи [6–8]. NO и NO-синтазы (NOS) обнаружены в ряде клеток кожи, в частности, в кератиноцитах, меланоцитах, клетках Лангерганса, фибробластах и эндотелиоцитах. На поверхности кожи NO способен образовываться неферментативно вследствие ацидификации и восстановления большого количества нитратов, содержащихся в поте, или же путем фотодекомпозиции S-нитрозотиолов и нитрит-ионов при действии ультрафиолетового излучения [9].

Выявлено, что в коже NO участвует в поддержании ее барьерно-защитных свойств и обеспечении нормального кровотока в микроциркуляторном

русле, опосредует процесс ацетилхолин-индуцированной вазодилатации, регулирует норадренергическую трансмиссию и электрическую проводимость [6, 7].

Выявление протективных эффектов NO в отношении кожи вылилось в создание различных NO-содержащих мазей, кремов, гелей и других лекарственных форм и косметических средств.

В то же время NO известен как мощный повреждающий агент, проявляющий прооксидантные и апоптотические свойства, угнетающий биоэнергетические и репаративные процессы [2–4].

Избыточное образование NO вследствие восстановления нитрат- и нитрит-ионов и гиперэкспрессии индуцибельной NOS (iNOS) в коже является важным звеном патогенеза токсических и аллергических дерматитов, поврежденной кожи при действии ионизирующего и ультрафиолетового облучения, ожогов, псориаза [8, 10–12].

Недавно выявлено, что в условиях чрезмерного поступления в организм неорганических нитратов нарушается механизм ауторегуляции уровня NO в тканях («цикл оксида азота»), что приводит к избыточной активации индуцибельной NOS (iNOS) и развитию связанного с ней окислительно-нитрозирующего стресса [2, 13]. При этом показана протективная роль конститутивных NOS.

Известно, что развитие свободнорадикальных процессов в тканях млекопитающих в значительной степени связано с действием транскрипционного ядерного фактора κВ (NF-κB) [14].

Недавно установлено, что введение ингибиторов NF-κB сопровождается повышением антиоксидантного и коллагенопротективного действия субстрата NOS и аргиназы – L-аргинина в различных органах (пародонт, слюнные железы) [15, 16].

Однако эффективность сочетанного применения L-аргинина и ингибиторов NF-κB для коррекции свободнорадикальных процессов в условиях избыточного образования оксида азота из экзогенных источников (модель хронической интоксикации нитратом натрия) остается невыясненной.

*Цель исследования* – изучить влияние сочетанного действия L-аргинина и ингибитора NF-κB – аммония пирролидиндитиокарбамата на маркеры окислительно-нитрозирующего стресса в коже белых крыс при избыточном поступлении в организм нитрата натрия.

**Материалы и методы.** Исследования были проведены на 35 белых крысах линии Вистар массой 180–220 г в 5 сериях опытов: в первой – интактные животные (контрольная серия), во второй – хроническая интоксикация нитратом натрия (30 сут), в остальных – начиная с 15 дня интоксикации крысам вводили следующие вещества (все производства Sigma-Aldrich, США): в третьей серии – L-аргинин, в четвертой – ингибитор активации NF-κB – аммония пирролидиндитиокарбамат (PDTC – ammonium pyrrolidinedithiocarbamate), в пятой – L-аргинин и PDTC.

Нитрат натрия вводили внутривенно с помощью зонда в дозе 200 мг/кг массы тела в виде водного раствора. Использование этой методики позволяет воспроизвести избыточное образование и депонирование NO в коже в виде парамагнитных комплексов с гемовым и негемовым железом [3]. PDTC и L-аргинин применяли в дозе 76 мг/кг [17] и 500 мг/кг соответственно [18], внутривенно, 3 раза в неделю.

Животных декапитировали под эфирным наркозом. Стандартные образцы кожи вырезали из области спины. Комиссией по вопросам биомедицинской этики Высшего государственного учебного заведения Украины «Украинская медицинская стоматологическая

академия» (протокол № 148 от 24 ноября 2016 г.) нарушений морально-этических норм при проведении научно-исследовательской работы не выявлено.

Активность NOS определяли по разнице концентрации нитрит-ионов до и после инкубации гомогената кожи в среде, содержащей L-аргинин (субстрат NOS) и никотинамидадениндинуклеотидфосфат восстановленный (НАДФН). Концентрацию нитрит-ионов (NO) определяли путем образования диазосоединений в реакции с сульфаниловой кислотой, а затем проводили реакцию с α-нафтилэтилендиамином, в результате которой образуются производные красного цвета (азокрасители) [13]. Концентрацию пероксинитрита в гомогенате оценивали спектрофотометрически по поглощению при длине волны 355 нм [13].

Определяли активность в тканях кожи ферментов, отражающих состояние аргиназного пути метаболизма L-аргинина: аргиназы [13] и орнитиндекарбоксилазы (ОДК) [19].

Образование супероксидного анионрадикала (САР) оценивали спектрофотометрически при проведении теста с нитросиним тетразолием в гомогенате тканей с индукторами в виде никотинамидадениндинуклеотида восстановленного (НАДН), НАДФН и липополисахарида, выделенного из микробных клеток *Salmonella typhi* (препарат «Пирогенал», фирма «Медгамал», Российская Федерация), для оценки продукции САР соответственно НАДН-зависимой (митохондриальной) и НАДФН-зависимыми (микросомальной и NOS) электронно-транспортными цепями (ЭТЦ), а также НАДФН-оксидазой лейкоцитов [20].

Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) в тканях кожи оценивали по образованию в реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) окрашенного триметинового комплекса [21]. Активность антиоксидантной (АО) системы оценивали по приросту концентрации ТБК-активных продуктов за время 1,5-ч инкубации в прооксидантном железоаскорбатном буферном растворе, а также по активности АО ферментов – супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы [21].

Полученные данные подвергали статистической обработке. Для проверки распределения на нормальность применяли расчет критерия Шапиро-Уилка. Если данные соответствовали нормальному распределению, то для их сравнения использовали t-критерий Стьюдента для независимых выборок. В случае, когда ряды данных не подпадали нормальному распределению, статистическую обработку осуществляли с использованием непараметрического метода – теста Манна-Уитни. Для множественного сравнения применяли поправку Бонферрони, а при распределении, отличающемся от нормального, – критерий Краскела-Уоллиса. Статистические расчеты проводили с использованием программ «Microsoft Excel 2007» и «StatisticSoft 6.0».

**Результаты и их обсуждение.** При введении нитрата натрия в течение 30 сут в тканях кожи увеличивается суммарная активность NOS (табл. 1) – в 2,0 раза ( $p < 0,001$ ), а концентрация пероксинитрита – на 41,8 % ( $p < 0,01$ ). При этом активность аргиназы существенно не изменяется, а ОДК – снижается на 33,1 % ( $p < 0,001$ ) по сравнению с данными интактной группы.

Полученные данные указывают на нарушение ауторегуляции уровня NO в тканях, направленной на предупреждение чрезмерного образования активных форм азота путем ограничения эндоген-

ного синтеза NO при поступлении в организм его экзогенного донатора [3]. Это создает предпосылки к еще большему образованию NO и его активных метаболитов, что и подтверждается увеличением в тканях кожи концентрации пероксинитрита.

Снижение активности ОДК сопровождается нарушением синтеза полиаминов с последующим расстройством клеточной пролиферации и биосинтеза белка [22].

Введение L-аргинина в условиях эксперимента существенно не влияет на суммарную активность NOS и аргиназы, а также концентрацию пероксинитрита в тканях кожи по сравнению с данными второй серии. В то же время повышает активность ОДК – на 62,6 % ( $p < 0,001$ ).

Для оценки NF-κB-зависимых процессов использовали селективный ингибитор активации этого фактора транскрипции – PDTC, действие которого связано с нарушением механизма деградации ингибиторного белка IκB-α и транслокации активированного NF-κB в ядро клетки [17].

Применение PDTC в условиях эксперимента существенно уменьшает в тканях кожи суммарную активность NOS и концентрацию пероксинитрита – соответственно на 29,3 % ( $p < 0,01$ ) и 33,1 % ( $p < 0,01$ ) по сравнению с данными второй серии. В этих условиях

Таблица 1

*Показатели нитроксидазической и аргиназной систем кожи крыс при избыточном поступлении в организм нитрата натрия и сочетанном применении L-аргинина и ингибитора активации NF-κB PDTC ( $M \pm m, n = 35$ )*

Показатель	Серия опытов				
	интактные животные	введение нитрата натрия (30 дней)			
		контроль	+ L-аргинин	+ PDTC	+ L-аргинин + PDTC
Активность NOS, мкмоль NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /г-мин	4,67 ± 0,16	9,38 ± 0,54 *	8,89 ± 0,50*	6,63 ± 0,49**/**	5,48 ± 0,39**/**/**
Пероксинитрит, мкмоль/г	0,98 ± 0,03	1,39 ± 0,13 *	1,25 ± 0,06*	0,93 ± 0,04**	0,73 ± 0,03**/**/**/**/**
Активность аргиназы, мкмоль/г-белка	1,94 ± 0,17	1,60 ± 0,13	1,61 ± 0,07	1,61 ± 0,10	2,08 ± 0,05**/**/**/**/**
Активность орнитин-декарбоксилазы, нмоль/г-мин	235,3 ± 11,9	157,4 ± 9,1 *	255,9 ± 11,8**	218,2 ± 5,0**	320,3 ± 17,3**/**/**

*Примечание. Здесь и в табл. 2: \* $p < 0,05$  по сравнению с данными интактной группы, \*\* $p < 0,05$  по сравнению с данными второй серии, \*\*\* $p < 0,05$  по сравнению с данными третьей серии, \*\*\*\* $p < 0,05$  по сравнению с данными четвертой серии.*

активность аргиназы существенно не изменяется, а ОДК повышается на 38,6 % ( $p < 0,001$ ) по сравнению с данными второй серии.

Полученные данные согласуются с тем фактом, что экспрессия гена iNOS контролируется NF- $\kappa$ B [14].

Сочетанное действие L-аргинина и PDTC в условиях эксперимента достоверно уменьшает в тканях кожи суммарную активность NOS на 41,6 % ( $p < 0,001$ ) по сравнению с данными второй серии и на 38,4 % ( $p < 0,001$ ) по сравнению с данными третьей серии. В этих условиях концентрация пероксинитрита уступает результатам второй серии на 47,5 % ( $p < 0,001$ ), третьей – на 41,6 % ( $p < 0,001$ ), четвертой – на 21,5 % ( $p < 0,01$ ).

Активность аргиназы увеличивается, причем на 30,0 % ( $p < 0,01$ ) превышает соответствующий результат второй серии, на 29,2 % ( $p < 0,001$ ) – третьей серии, на 29,2 % ( $p < 0,01$ ) – четвертой серии. Активность ОДК также превышает соответствующий результат второй серии в 2,03 раза ( $p < 0,001$ ), третьей – на 25,2 % ( $p < 0,01$ ), четвертой – на 46,8 % ( $p < 0,001$ ).

Полученные данные свидетельствуют о более активной утилизации L-аргинина в аргиназном пути, в котором образуются такие жизненно важные соединения как орнитин, цитруллин, глутамат, глутатион, полиамины и др. [22, 23].

Выявленное нами увеличение образования высокотоксичного пероксинитрита в тканях кожи при хронической интоксикации нитратом натрия, по видимому, связано, с одной стороны, с увеличением концентрации NO. С другой стороны, в тканях значительно возрастает продукция другого компонента реакции – CAP (табл. 2). Так, хроническая интоксикация нитратом натрия сопровождается увеличением продукции CAP НАДФН-зависимыми (микросомальной и NOS) и НАДН-зависимой (митохондриальной) ЭТЦ – соответственно на 42,5 % ( $p < 0,001$ ) и 57,0 % ( $p < 0,001$ ) по сравнению с данными интактной группы. В то же время образование CAP НАДФН-оксидазой лейкоцитов уменьшается на 31,6 % ( $p < 0,01$ ).

Известно, что NO способен связываться с металлосодержащими центра-

ми ключевых ферментов и FeS кластеров дыхательной цепи митохондрий [24], цитохром P450-зависимых оксидоредуктаз эндоплазматического ретикулула [25], принимающих участие в генерации CAP.

Угнетение продукции CAP лейкоцитами на 30 сут нитратной интоксикации может быть связано с развитием тяжелой биоэнергетической недостаточности и снижением образования АТФ в тканях кожи в этот период [3]. Ведь активация НАДФН-оксидазного комплекса требует ГТФ-связанного белка Gox, причем для регенерации ГТФ необходим АТФ [26]. Подавление выработки АФК лейкоцитами может ослаблять их функциональную активность и создавать условия для возникновения вялотекущих воспалительных процессов.

Следствием гиперпродукции CAP наиболее мощными его источниками (митохондриями и микросомами) является активация ПОЛ в тканях кожи.

Так, при воспроизведении хронической интоксикации нитратом натрия концентрация ТБК-активных соединений до и после 1,5-ч инкубации в прооксидантном буферном растворе увеличивается соответственно в 2,2 раза ( $p < 0,001$ ) и 2,17 раза ( $p < 0,001$ ) по сравнению с данными интактной группы, что свидетельствует об активации ПОЛ в тканях кожи белых крыс. Повышается прирост ТБК-реактантов за время инкубации в 2,12 раза ( $p < 0,001$ ), что указывает на истощение АО потенциала в тканях кожи. Это подтверждается снижением величин активности АО ферментов – СОД и каталазы – на 50 % ( $p < 0,001$ ).

Известно, что практически все функции кожи, которые по отношению к внешней среде могут быть определены как барьерно-защитные, в той или иной мере нарушаются при активации ПОЛ и связанной с ней биоэнергетической недостаточностью [8].

Введение L-аргинина в условиях эксперимента существенно не влияет на генерацию CAP НАДФН-зависимыми электронно-транспортными цепями в тканях кожи, однако уменьшает продукцию CAP НАДН-зависимой ЭТЦ – на 8,7 % ( $p < 0,01$ ) по сравнению с



*Маркеры окислительного стресса в тканях кожи крыс при избыточном поступлении в организм нитрата натрия и сочетанном применении L-аргинина и ингибитора активации NF-κB PDTC (M ± m, n = 35)*

Показатель	Серия опытов				
	интактные животные	введение нитрата натрия (30 дней)			
		конт-роль	+ L-аргинин	+ PDTC	+ L-аргинин + PDTC
Продукция САР, нмоль/г·с					
НАДФН-зависимыми электронно-транспортными цепями	20,18 ± 0,71	28,75 ± 0,75*	29,51 ± 0,75*	24,63 ± 0,57***	21,54 ± 0,55***/***/****
НАДН-зависимой (митохондриальной) электронно-транспортными цепями	21,61 ± 0,34	33,92 ± 0,71*	30,98 ± 0,45**	27,04 ± 0,37***	24,33 ± 0,60***/***/****
НАДФН-оксидазой лейкоцитов	0,98 ± 0,13	0,67 ± 0,05*	1,11 ± 0,04**	1,30 ± 0,06***	1,22 ± 0,05**
Концентрация ТБК-активных веществ, мкмоль/кг					
до инкубации	20,88 ± 2,73	46,05 ± 1,81*	39,66 ± 3,11*	28,67 ± 2,57**	21,67 ± 2,55***/****
после инкубации	35,41 ± 1,99	76,85 ± 0,91*	61,61 ± 2,84**	48,39 ± 1,32***	29,36 ± 1,77***/****
прирост	14,53 ± 2,24	30,8 ± 2,37*	21,94 ± 5,22	19,71 ± 2,73**	7,69 ± 1,04***/***/****
Активность СОД, ед. акт.	0,28 ± 0,03	0,14 ± 0,01*	0,21 ± 0,02**	0,25 ± 0,01**	0,32 ± 0,01***/****
Активность каталазы, мккат/г	0,14 ± 0,01	0,07 ± 0,01*	0,11 ± 0,01**	0,13 ± 0,01**	0,15 ± 0,01***/****

данными второй серии. Выработка САР НАДФН-оксидазой лейкоцитов в этих условиях увеличивается – на 65,7 % ( $p < 0,001$ ). При этом в коже снижается концентрация ТБК-активных соединений после 1,5-ч инкубации гомогената в железоаскорбатном буферном растворе – на 19,8 % ( $p < 0,001$ ) по сравнению с данными второй серии. Прирост концентрации ТБК-реактантов за время инкубации существенно не меняется. Активность СОД и каталазы – увеличивается соответственно на 50,0 % ( $p < 0,01$ ) и 57,1 % ( $p < 0,02$ ) по сравнению с данными второй серии.

Ранее было показано, что антиоксидантные свойства L-аргинина связаны с предотвращением разобщенного функционирования NOS с переходом послед-

ней к генерации САР [27] и уменьшением активности ксантиноксидазы и миелопероксидазы [28].

Введение ингибитора активации NF-κB PDTC в условиях избыточного поступления нитрата натрия в организм крыс существенно уменьшает в тканях кожи продукцию САР НАДФН- и НАДН-зависимыми ЭТЦ – соответственно на 14,3 % ( $p < 0,001$ ) и 20,3 % ( $p < 0,001$ ) по сравнению с данными второй серии. Выработка САР НАДФН-оксидазой лейкоцитов в этих условиях увеличивается на 94,0 % ( $p < 0,001$ ) по сравнению с данными второй серии. Концентрация ТБК-активных соединений до и после 1,5-ч инкубации гомогената кожи в железоаскорбатном буферном растворе уменьшается соответ-

венно на 37,7 % ( $p < 0,001$ ) и 37,0 % ( $p < 0,001$ ) по сравнению с данными второй серии. Прирост концентрации ТБК-реактантов за время инкубации уменьшается на 36,0 % ( $p < 0,01$ ), что свидетельствует о возрастании АО потенциала кожи. Активность СОД и каталазы в тканях кожи увеличивается соответственно на 78,6 % ( $p < 0,001$ ) и 85,7 % ( $p < 0,01$ ) по сравнению с данными второй серии.

Сочетанное действие L-аргинина и PDTC в условиях эксперимента существенно уменьшает выработку САР НАДФН-зависимыми и НАДН-зависимой (митохондриальной) ЭТЦ в тканях кожи, что соответственно на 25,1 % ( $p < 0,001$ ) и 28,3 % ( $p < 0,001$ ) уступает результатам второй серии, на 27,0 % ( $p < 0,001$ ) и 21,5 % ( $p < 0,001$ ) – третьей серии и на 12,5 % ( $p < 0,01$ ) и 10,0 % ( $p < 0,01$ ) – четвертой серии. Генерация САР НАДФН-оксидазой лейкоцитов существенно не отличается от данных третьей и четвертой серий, но, в отличие от последней, достоверно не превышает данные интактной группы.

В этих условиях существенно уменьшается концентрация ТБК-активных соединений до и после 1,5-ч инкубации гомогената в железоаскорбатном буферном растворе, которая соответственно на 52,9 % ( $p < 0,001$ ) и 61,8 % ( $p < 0,001$ ) уступает соответствующим результатам второй серии, на 45,4 % ( $p < 0,001$ ) и 52,3 % ( $p < 0,001$ ) – третьей серии. Прирост концентрации ТБК-реактантов за время инкубации уступает данным второй серии на 75,0 % ( $p < 0,001$ ), третьей серии – на 64,9 % ( $p < 0,05$ ), четвертой серии – на 61,0 % ( $p < 0,01$ ). Активность СОД и каталазы превышает соответствующие результаты второй серии в 2,28 раза ( $p < 0,001$ ) и 2,14 раза ( $p < 0,001$ ), третьей серии – на 52,4 % ( $p < 0,001$ ) и 36,4 % ( $p < 0,02$ ).

Таким образом, введение PDTC снижает NF-κB-зависимую экспрессию гена iNOS, следствием чего является увеличение утилизации L-аргинина конститутивными NOS и аргиназным метаболическим путем [15, 16]. Это обеспечивает down-регуляцию продукции САР митохондриями, эндоплазматическим рети-

кулумом и собственно NOS, ограничивает образование пероксинитрита и улучшает пролиферативные процессы.

Снижение проявлений окислительно-нитрозирующего стресса при сочетанном действии L-аргинина и PDTC позволяет предположить эффективность их применения при механических, термических, лучевых и иммунных повреждениях кожи, псориазе и т. п., сопровождающихся избыточным образованием активных форм кислорода и азота [8, 10–12]. Это нацеливает на разработку комплексных препаратов системного и местного действия, включающих L-аргинин и ингибитор NF-κB, для дерматологической практики.

## Выводы

1. 30-дневное введение в организм белых крыс нитрата натрия сопровождается в тканях кожи неадекватной реакцией NO-синтазной компоненты цикла оксида азота (ростом суммарной активности NOS), проявлениями окислительно-нитрозирующего стресса (увеличение выработки активных форм кислорода и азота – супероксидного анион-радикала НАДН- и НАДФН-зависимыми электронно-транспортными цепями, пероксинитрита, активация перекисного окисления липидов на фоне снижения антиоксидантного потенциала, активности супероксиддисмутазы и каталазы).
2. Сочетанное действие L-аргинина и селективного ингибитора ядерного фактора κB, аммония пирролидинди-тиокарбамата, в условиях хронической интоксикации нитратом натрия более эффективно ограничивает проявления окислительно-нитрозирующего стресса (ограничивает продукцию супероксидного анион-радикала НАДН- и НАДФН-зависимыми электронно-транспортными цепями, образование пероксинитрита, снижает перекисное окисление липидов), повышает активность ферментов аргиназного метаболического пути (аргиназы и орнитиндекарбоксилазы) по сравнению с изолированным применением этих веществ.

1. Бутовский Р. О. Проблемы химического загрязнения почв и грунтовых вод в странах Европейского Союза / Р. О. Бутовский // Агрехимия. – 2004. – № 3. – С. 74–81.
2. Механізми ауторегуляції утворення оксиду азоту в організмі ссавців та їх порушення при розвитку патологічних процесів / В. О. Костенко [та ін.] // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2011. – Т. 11, № 3. – С. 150–154.
3. Механізми порушення окисних процесів у тканинах при надлишковому утворенні оксиду азоту з екзогенних попередників / В. О. Костенко [та ін.] // Клін. та експ. патол. – 2004. – Т. 3, № 2 (Ч. 1). – С. 202–204.
4. Реутов В. П. Механизм антирадикальной защиты клеток и организма в целом заложен в циклической организации тех метаболических процессов, которые сопряжены с образованием свободных радикалов / В. П. Реутов // Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції : тези доповідей VII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю (5–7 жовтня 2016 р.). – Харків : Вид-во НФаУ, 2016. – С. 191.
5. Lundberg J. O. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics / J. O. Lundberg, E. Weitzberg, M. T. Gladwin // Nature reviews. – 2008. – V. 7. – P. 156–167.
6. Adler B. L. Nitric oxide therapy for dermatologic disease / B. L. Adler, A. J. Friedman // Future Sci OA. – 2015. – V. 1, № 1. – Publ. FSO37.
7. Del Rosso J. Q. Spotlight on the Use of Nitric Oxide in Dermatology: What Is It? What Does It Do? Can It Become an Important Addition to the Therapeutic Armamentarium for Skin Disease? / J. Q. Del Rosso, L. H. Kircik // J. Drugs Dermatol. – 2017. – V. 16, № 1. – P. S4–S10.
8. Cals-Grierson M. M. Nitric oxide function in the skin / M. M. Cals-Grierson, A. D. Ormerod // Nitric Oxide. – 2004. – V. 10, № 4. – P. 179–193.
9. Suschek C. Nonenzymatic nitric oxide formation during UVA irradiation of human skin: experimental setups and ways to measure / C. V. Suschek, A. Paunel, V. Kolb-Bachofen // Methods Enzymol. – 2005. – V. 396. – P. 568–578.
10. Смирнова И. Ю. Роль оксида азота в развитии заболеваний кожи / И. Ю. Смирнова, Л. М. Огородова, И. А. Деев // Вопросы современной педиатрии. – 2009. – Т. 8, № 4. – С. 91–93.
11. Inducible nitric oxide synthase (iNOS) and  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormones of iNOS origin play important roles in the allergic reactions of atopic dermatitis in mice / K. Orita, K. Hiramoto, H. Kobayashi [et al.] // Exp. Dermatol. – 2011. – V. 20, № 11. – P. 911–914.
12. Expression of iNOS and HIF-1 $\alpha$  with angiogenesis in affected skin biopsies from patients with psoriasis / Y. Li, G. Zhang, R. Xiao [et al.] // Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. – 2010. – V. 35, № 9. – P. 952–957.
13. Akimov O. Ye. Functioning of nitric oxide cycle in gastric mucosa of rats under excessive combined intake of sodium nitrate and fluoride / O. Ye. Akimov, V. O. Kostenko // Ukr. Biochem. J. – 2016. – V. 88, № 6. – P. 70–75.
14. The nuclear factor kappa B signaling pathway: integrating metabolism with inflammation / L. Tornatore, A. K. Thotakura, J. Bennett [et al.] // Trends Cell Biol. – 2012. – V. 22, № 11. – P. 557–566.
15. Ляшенко Л. І. NF- $\kappa$ B-опосередкований вплив NO-синтаз на вільнорадикальні процеси у тканинах пародонта за умов експериментального метаболічного синдрому / Л. І. Ляшенко, В. О. Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2014. – Т. 14, № 2. – С. 140–143.
16. Нагорняк І. В. Ефективність поєднаного застосування L-аргініну та інгібітора ядерного фактора  $\kappa$ B для корекції вільнорадикальних процесів і функцій слинних залоз щурів за умов дії метилового ефіру метакрилової кислоти / І. В. Нагорняк, В. О. Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2015. – Т. 15, № 3, ч. 1. – С. 221–225.
17. Effect of ammonium pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC) on NF- $\kappa$ B activation and CYP2E1 content of rats with immunological liver injury / J. D. Qin, Z. H. Cao, X. F. Li [et al.] // Pharm Biol. – 2014. – V. 52, № 11. – P. 1460–1466.
18. Роль NO-синтаз у механізмах порушень вільнорадикальних процесів у тканинах пародонта і слинних залоз щурів за умов експериментального метаболічного синдрому / Л. І. Ляшенко, А. М. Єлінська, В. В. Талаш, В. О. Костенко // Світ медицини та біології. – 2014. – № 2. – С. 139–142.
19. Храмов В. А. Простой метод определения активности орнитиндекарбоксилазы в смешанной слюне человека / В. А. Храмов. // Клин. лаборат. диагн. – 1997. – № 4. – С. 14–15.
20. Костенко В. О. Продукція супероксидного аніон-радикала та оксиду азоту у тканині нирок після хірургічного втручання / В. О. Костенко, О. І. Цебржинський // Фізіол. журн. – 2000. – Т. 46, № 5. – С. 56–62.
21. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / [Л. В. Беркало, О. В. Бобович, Н. О. Боброва та ін.] ; за ред. І. П. Кайдашева. – Полтава, 2003. – 320 с.
22. Moinard C. Polyamines: metabolism and implications in human diseases / C. Moinard, L. Cynober, J. P. de Bandt // Clin Nutr. – 2005. – V. 24, № 2. – P. 184–197.
23. Arginine metabolism and nutrition in growth, health and disease / G. Wu, F. W. Bazer, T. A. Davis [et al.] // Amino Acids. – 2009. – V. 37, № 1. – P. 153–168.

24. Nitric Oxide: Biology and Pathobiology / L. J. Ignarro ed. – [2nd ed.]. – Burlington etc. : Academic Press, Elsevier Inc., 2010. – 845 p.
25. Im S. C. The interaction of microsomal cytochrome P450 2B4 with its redox partners, cytochrome P450 reductase and cytochrome b(5) / S. C. Im, L. Waskell // Arch. Biochem. Biophys. – 2011. – V. 507, № 1. – P. 144–153.
26. Hordijk P. L. Regulation of НАДФН oxidases: the role of Rac proteins / P. L. Hordijk // Circ. Res. – 2006. – V. 98, № 4. – P. 453–462.
27. Lorin J. Arginine and nitric oxide synthase: regulatory mechanisms and cardiovascular aspects / J. Lorin, M. Zeller, J. C. Guillard // Mol. Nutr. Food Res. – 2014. – V. 58, № 1. – P. 101–116.
28. Protective effects of L-arginine on pulmonary oxidative stress and antioxidant defenses during exhaustive exercise in rats / W. T. Lin, S. C. Yang, K. T. Chen [et al.] // Acta Pharmacol. Sin. – 2005. – V. 26, № 8. – P. 992–999.

**Д. А. Хміль, В. А. Костенко**

### **Эффективность сочетанного применения L-аргинина и ингибитора ядерного фактора κВ для коррекции последствий окислительно-нитрозирующего стресса в коже крыс при избыточном поступлении в организм нитрата натрия**

*Цель исследования* – изучить влияние сочетанного действия L-аргинина и ингибитора NF-κB – аммония пирролидиндитиокарбамата (PDTC) на маркеры окислительно-нитрозирующего стресса в коже при избыточном поступлении в организм нитрата натрия.

Исследования были проведены на 35 белых крысах линии Вистар. Оценивали активность NO-синтазы (NOS), аргиназы, орнитиндекарбоксилазы (ОДК), продукцию пероксинитрита, супероксидного анион-радикала (САР), образование вторичных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), активность антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы и каталазы).

Выявлено, что 30-дневное введение нитрата натрия (200 мг/кг/сут) сопровождается в тканях кожи неадекватной реакцией NO-синтазной компоненты цикла оксида азота (ростом суммарной активности NOS), проявлениями окислительно-нитрозирующего стресса (увеличение выработки САР и пероксинитрита, активация ПОЛ на фоне снижения антиоксидантного потенциала, активности супероксиддисмутазы и каталазы). Сочетанное введение L-аргинина и PDTC в дозе соответственно 500 и 76 мг/кг (3 раза в неделю, начиная с 15 дня нитратной интоксикации) в большей степени, чем каждое из веществ в отдельности ограничивает продукцию САР НАДН- и НАДФН-зависимыми электронно-транспортными цепями, образование пероксинитрита, снижает ПОЛ, повышает активность аргиназы и ОДК.

Таким образом, сочетанное действие L-аргинина и селективного ингибитора NF-κB PDTC в условиях нитратной интоксикации более эффективно по сравнению с применением этих веществ в отдельности ограничивает проявления окислительно-нитрозирующего стресса в коже.

*Ключевые слова:* окислительно-нитрозирующий стресс, L-аргинин, ядерный фактор κB, интоксикация нитратами, кожа

**Д. О. Хміль, В. О. Костенко**

### **Ефективність поєднаного застосування L-аргініну й інгібітора ядерного фактора κВ для корекції наслідків окисно-нітрозуючого стресу в шкірі щурів за надлишкового надходження в організм нітрату натрію**

*Мета дослідження* – вивчити вплив поєднаної дії L-аргініну та інгібітора NF-κB – амонію піролідин-дитіокарбамату (PDTC) на маркери окисно-нітрозуючого стресу в шкірі за надмірного надходження в організм нітрату натрію.

Дослідження були проведені на 35 білих щурах лінії Вістар. Оцінювали активність NO-синтази (NOS), аргінази, орнітиндекарбоксилази (ОДК), продукцію пероксинітриту, супероксидного аніон-радикала (САР), утворення вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), активність антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутазу та каталазу).

Виявлено, що 30-денне введення нітрату натрію (200 мг/кг/доба) супроводжується в тканинах шкіри неадекватною реакцією NO-синтазної компоненти циклу оксиду азоту (зростання сумарної активності NOS), проявами окисно-нітрозуючого стресу (збільшення вироблення САР і пероксинітриту, активація ПОЛ на тлі зниження антиоксидантного потенціалу, активності супероксиддисмутазу та каталазу). Поєднане введення L-аргініну і PDTC у дозі 500 і 76 мг/кг відповідно (3 рази на тиждень, починаючи з 15 дня нітратної інтоксикації) у більшій мірі порівняно зі застосуванням речовин окремо обмежує продукцію САР НАДН- і НАДФН-залежними електронно-транспортними ланцюгами, утворення пероксинітриту, знижує ПОЛ, підвищує активність аргінази і ОДК.

Таким чином, поєднана дія L-аргініну та селективного інгібітора NF-κB PDTC за умов нітратної інтоксикації більш ефективно, ніж кожна з речовин окремо обмежує прояви окисно-нітрозуючого стресу в шкірі.

*Ключові слова:* окисно-нітрозуючий стрес, L-аргінин, ядерний фактор κB, інтоксикація нітратами, шкіра

---

---

**D. A. Khmil, V. A. Kostenko**

**Efficiency of combined administration of L-arginin and nuclear factor  $\kappa$ B inhibitor in correction the consequences of oxidative/nitrative stress in skin of rats under excessive sodium nitrate intake**

*The aim of study* was to investigate the effects produced by combined action of L-arginine and ammonium pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC), NF- $\kappa$ B inhibitor, on the markers of oxidative/nitrative stress in the skin under excess intake of sodium nitrate.

Studies were performed on 35 white Wistar rats. There were assessed the activities of NO synthase (NOS), arginase, ornithine decarboxylase (ODC), production of peroxynitrite, superoxide anion radical (SAR), formation of secondary products of lipid peroxidation (LPO), activity of antioxidant enzymes (superoxide dismutase and catalase) in the skin homogenate.

It has been found out that 30-day administration of sodium nitrate (200 mg/kg/day) is accompanied by the following changes in the skin tissues: inadequate reaction of NOS component of NO cycle (increase in total NOS activity); manifestations of oxidative / nitrative stress (increased production of SAR and peroxynitrite; activation of LPO against the background of decreased antioxidant potential; activities of superoxide dismutase and catalase). It has been shown that the combined administration of L-arginine and PDTC 500 and 76 mg (3 times a week, starting from the 15<sup>th</sup> day of nitrate intoxication) demonstrated much more pronounced effects compared with separate administration in limiting the SAR generation by NADH- and NADPH-dependent electron transport chains, reducing peroxynitrite production as well as in suppressing LPO, in the increase in arginase and ODC activities.

Thus, the combined effect of L-arginine and PDTC as a selective NF- $\kappa$ B inhibitor under nitrate intoxication is more effective than separated use each of these substances. Their combined administration limits the manifestations of oxidative / nitrative stress in the skin.

*Key words:* oxidative/nitrative stress, L-arginine, nuclear factor  $\kappa$ B, nitrate intoxication, skin

---

*Надійшла: 19 квітня 2017 р.*

**Контактна особа:** Хміль Дмитро Олександрович, викладач, кафедра експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією, ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», буд. 23, вул. Шевченка, м. Полтава, 36011. Тел.: + 38 0 532 56 20 59. Електронна пошта: 65723drums@gmail.com



---

---

## Правила для авторів

---

1. У журналі «Фармакологія та лікарська токсикологія»/ «Pharmacology and drug toxicology») публікуються оглядові та оригінальні наукові статті, що стосуються:

- досліджень фармако- та токсикодинаміки лікарських засобів;
- пошуку та розробки нових потенційних лікарських засобів, вивчення механізмів їхньої дії, фармакологічних та токсичних властивостей;
- пошуку нових шляхів фармакологічної корекції патологічних станів, експериментального обґрунтування схем та методів фармакотерапії поширених захворювань;
- взаємодії між ліками;
- побічних ефектів при застосуванні ліків;
- питань фармацевтики, фармацевтичного ринку, фармакоекономіки.

Журнал «Фармакологія та лікарська токсикологія» включено до переліку журналів, публікації в яких зараховуються при захисті дисертацій у галузі медичних, біологічних та фармацевтичних наук.

2. Не приймаються до розгляду матеріали, що стосуються діагностики захворювань та немедикаментозних методів лікування.

3. Журнал публікує наступні типи статей:

- оригінальні наукові статті за результатами проведених досліджень;
- короткі інформаційні повідомлення;
- проблемні та оглядові статті.

4. Мова статей: українська, російська або англійська.

5. Основні вимоги до оригінальних статей:

- новизна та обґрунтованість фактичного матеріалу;
- оформлення рукопису відповідно до вимог журналу.

6. Дотримання принципів біоетики:

дослідження, яким присвячено статтю, мають бути проведені відповідно до Етичного Кодексу Всесвітньої Медичної асоціації (Хельсинська декларація) щодо досліджень, до яких долучають людей, або відповідно до Закону України від 21.02.2006 № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідницьких або інших наукових цілей від 18.03.1986 або Директиви Європейського Союзу 2010/10/63 EU щодо експериментів на тваринах. Це має бути зазначено у відповідному розділі статті (Матеріали та методи).

7. Текст оригінальної статті має бути побудований за наступною схемою:

- індекс УДК у верхньому лівому куті листа (відповідно до всіх ключових слів);
- прізвище та ініціали автора/ів (по центру). Назва організації, де працює автор, із зазначенням міста. Якщо авторів декілька, і вони працюють у різних установах, необхідно арабськими цифрами зробити цифровий надрядковий знак, що відповідає установі, де працює кожний з авторів. Назва установи, з відповідним цифровим позначенням, має бути вказана в нижньому колонтитулі;
- назва статті – великими жирними літерами (по центру). Назва статті має бути лаконічною та інформативною, подається без використання вузькоспеціалізованих скорочень, крапка в кінці назви не ставиться;
- ключові слова (до 10 слів);

*Вступна частина:*

- постановка проблеми в загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями;

- 
- 
- аналіз досліджень, які присвячені розв’язанню даної проблеми й на які спи-рається автор;
  - виділення невирішених частин загальної проблеми, яким присвячується озна-чена стаття, та
  - формулювання цілей (мети) роботи (постановка завдання);

*Матеріали та методи:*

– наводяться описи методів, реактивів та умов проведення дослідів. Обов’язково наводяться вид та кількість тварин, а також використані в досліді методи зне-болення та евтаназії, твердження щодо схвалення досліджень комісією з біоетики в разі проведення досліджень із залученням людини або тварин. Обов’язково мають бути зазначені методи статистичної обробки результатів та програма, за допомогою якої було зроблено статистичний аналіз;

*Результати та їх обговорення:*

- виклад основного матеріалу дослідження з аналізом отриманих наукових результатів;

*Висновки:*

- висновки даного дослідження та перспективи подальших розробок у даному напрямі;

*Список літературних посилань:*

– подається на окремих аркушах та включає всі роботи, що згадуються в тексті, у порядку їхнього цитування на мові оригіналу (згідно з ДСТУ 8302:2015 «Бібліографічне посилання. Загальні положення та правила складання»). Спи-сок літературних посилань до статті складається в послідовній нумерації та має містити джерела за останні п’ять років. При посиланні на журнальні статті наводять прізвище та ініціали авторів, назву роботи, назву журналу, рік, том, номер, сторінки; при посиланні на монографії – місто, видавництво, рік видан-ня, кількість сторінок. Якщо у джерела більше 4 авторів, вказують 3 перших і далі «та ін.». Посилання на неопубліковані роботи не допускається. Посилання на бібліографічні джерела в тексті статті наводять у квадратних дужках;

*Реферат (резюме):*

- реферат (резюме) статті українською, російською та англійською мовами з назвою роботи, прізвищем та ініціалами автора/-ів, тексту, у якому має бути відображено мету, методи (тільки називаються) та результати дослідження (стисло), а також основні висновки та рекомендації. Зазначені розділи необхідно відокремити абзацами. Завершується реферат ключовими словами відповідною мовою. Реферат та ключові слова обов’язково подаються україн-ською, російською та англійською мовами та мають бути ідентичними. Реко-мендований середній об’єм тексту реферату – до 300 слів.

При написанні реферату англійською мовою доцільно користуватися послуга-ми кваліфікованих перекладачів з подальшим науковим редагуванням тексту автором/-ами.

Російськомовним авторам достатньо надати резюме російською та англійською мовами. Переклад на українську здійснюватиметься редакцією.

Англомовним авторам достатньо надати резюме англійською мовою. Переклад на українську та російську мови здійснюватиметься редакцією.

8. Стаття має бути підписаною авторами та супроводжуватись:

- листом від організації, де виконано цю роботу;
- експертним висновком про можливість публікації (тільки для вітчизняних авторів);
- відомостями про авторів із зазначенням контактної особи, наукового ступеня, звання, місця роботи, контактного телефону, поштової та електронної адреси.

9. Матеріали статті мають бути викладені українською, російською або англій-ською мовою. Матеріали надаються на паперовому носії (білому аркуші форматом А 4 через 1,5 інтервалу в форматі текстового редактора MS WORD for Windows, формат файлу – \*.doc, без ручних перенесень, шрифтом Times New Roman 14 пт,

---

---

з інтервалом 1,5 та в електронному вигляді з ідентичним текстом статті у форматі текстового редактора MS WORD for Windows).

10. Обсяг матеріалів оригінальних досліджень має становити 6–12 сторінок, оглядів – 12–20 сторінок, включаючи ілюстрації, таблиці та список літератури. У паперового та електронного варіантів рукопису мають бути наступні береги: лівий – 3,5 см, правий – 1,5 см, верхній та нижній – по 2,5 см.

У сторінок рукопису має бути наскрізна нумерація, у тому числі з таблицями, рисунками, переліком літературних посилань, рефератами.

11. Таблиці, рисунки та підписи до них необхідно розміщувати у порядку їхнього згадування в тексті. Назви таблиць та рисунків мають бути лаконічними та інформативними, без скорочень та абревіатур. Заголовки окремих граф мають відповідати їхньому змісту. На всі рисунки й таблиці в тексті необхідно робити посилання.

Усі рисунки та фотографії мають бути чіткими й контрастними і додаватися в електронному вигляді у форматі .tif або .jpg. У підписах до мікрофотографій, що ілюструють результати патоморфологічних досліджень, необхідно вказувати ступінь збільшення і метод фарбування.

12. Позначки різних мір, одиниці фізичних величин, результати клінічних і лабораторних досліджень слід наводити відповідно до Міжнародної системи одиниць (СИ), медичні терміни – згідно з Міжнародною анатомічною та Міжнародною гістологічною номенклатурами, назви захворювань – за Міжнародною класифікацією хвороб 10-го перегляду. Назви фірм-виробників лікарських препаратів та реактивів, використаних у досліджах, треба подавати в оригінальній транскрипції. Латинські назви роду та виду мікроорганізмів необхідно виділяти курсивом.

Скорочення в тексті слів, імен, термінів (крім загальновідомих) не допускається. Абревіатури розшифровуються після першого згадування і залишаються незмінними протягом усього тексту.

13. Відповідальність за вірогідність та оригінальність наданих матеріалів (результатів досліджень, фактів, цитат, прізвищ, імен тощо) покладається на авторів.

Надсилати до редакції роботи, що опубліковані в інших виданнях або направлені до друку в інші редакції, не допускається.

14. Статті, оформлені без дотримання правил, не розглядаються і не повертаються авторам. Текст статті має бути старанно вивіреною. Коректура авторам не висилається. Відхилені рукописи не повертаються.

15. Матеріали статей рецензуються. Редакція залишає за собою право на редагування та скорочення одержаних матеріалів, публікацію їх у вигляді коротких повідомлень.

16. Журнал реферується Українським Реферативним журналом. Опубліковані матеріали зберігаються в базі даних «Україніка наукова» та відкриті до ON-лайнного доступу на WEB-сайті журналу: [pharmtox-j.org.ua](http://pharmtox-j.org.ua)

17. Авторський текстовий матеріал (2 примірники статті разом з супровідними документами) надається особисто або надсилається на поштову адресу редакції: 03057, м. Київ, вул. Ежена Потье, 14, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ», редакція журналу «Фармакологія та лікарська токсикологія». На останній сторінці одного з примірників мають бути власноручні підписи всіх авторів (цим підтверджується їхня згода на друкування статті та використання персональних даних).

Електронний варіант статті можна надавати на компакт-диск, на USB-накопичувачі (тільки за особистої подачі) або надсилати електронною поштою як прикріплені файли. Адреса електронної пошти: [misliviets@inbox.ru](mailto:misliviets@inbox.ru).

---

---

## To Authors

---

*The Pharmacology and Drug Toxicology* publishes original papers on basic, experimental and applied pharmacology, safety pharmacology and toxicology. The journal also considers short reviews (not exceeding 8–10 pages in print) intended to debate recent advances in rapidly developing fields of pharmacology, toxicology, pharmacy and pharmacotherapy. There are no fixed limits on the length of research papers but concise presentations are encouraged.

Authors are strongly recommended to read to Authors before submitting a manuscript for publication. Manuscripts submitted to the journal are accepted on the understanding that they are subject to editorial review.

**Types of paper.** The journal publishes the following article types:

1. Full-length research paper
2. Short communication
3. Review Article

**Ethics in publishing.** The work described in the article must have been carried out in accordance to *The Code of Ethics of the World Medical Association (declaration of Helsinki) for experiments involving humans* or *Law of Ukraine of 21.02.2006 № 3447-IV «On protection of animals from inhuman treatment»*, European convention on protection of vertebrate animals, which are used for experimental and for other scientific purposes of 18.03.1986 or EU Directive 2010/10/63/EU for animals experiments. This must be stated at an appropriate point in the article.

**Languages.** Ukrainian, Russian, English.

**Submission.** Submission to this journal proceeds totally through e-mail address of the Editorial Office [misliviets@inbox.ru](mailto:misliviets@inbox.ru).

**Use of wordprocessing software** It is important that the file be saved in the native format of the wordprocessor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts. Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your wordprocessor.

**Additional information.** Please make sure to adhere to the following word limits:

**Abstract:** max. 300 words, **introduction:** max. 750 words, **discussion:** max. 1750 words

**Article structure.**

**Title page.**

The title page of each manuscript should include: article title; authors' names (including first and middle names) typed on the line below the title; name and address of institution(s) from which the work originated, e-mail address of a person to whom proofs should be addressed.

**Essential title page information.**

**Title.** Concise and informative. Avoid abbreviations and formulae where possible.

**Author names and affiliations.** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of corresponding author.

**Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. Ensure that phone numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author.

**Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent

---

---

address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

**Abstract.**

This section should be brief (300 words) and include aims describing the purpose, methods, results and conclusions. A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. Non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

**Key words.**

Key words (7–8 maximum) must be provided for indexing at the end of abstract.

**Introduction**

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

**Material and methods.**

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

**Results.**

Results should be clear and concise.

**Discussion.**

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. Avoid extensive citations and discussion of published literature. Please make sure to limit the length of this paragraph to max. 1750 words.

**Conclusions.**

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion section.

**Abbreviations.**

Abbreviations are a hindrance for the reader. Use as few abbreviations as possible and write out names of compounds, receptors, etc., in full throughout the text of the manuscript.

Authors not conforming to these demands will have their manuscripts returned for correction, with delayed publication as the result.

**Acknowledgements.**

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

**Electronic artwork.**

**General points.** Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.

- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the printed version. • Submit each illustration as a separate file.

**Formats.** If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format. Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below): TIFF (or JPEG): Grayscale photographs, keep to a minimum of 300 dpi. TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi. TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

**Figure captions.** Ensure that each illustration has a caption. Supply captions



---

---

separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (not on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

**Mathematical formular language.** Present simple formulae in the line of normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

**Tables.**

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

**References.**

Citation in text Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa) Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

**Reference formatting.** There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present.

**Reference style.** Bibliographic references in the text should be appearing like [1, 2 ...], using square brace.

**List of references.** References should be arranged in order of its citation in the text and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

**Examples:**

Reference to a journal publication: Van der Geer J., Hanraads J. A. J., Lupton R. A. The art of writing a scientific article // J. Sci. Commun. – 2010. – V. 163. – P. 51–59. Reference to a book: Strunk J. W., White E. B. The Elements of Style. Ed. Longman, New York, 2000. – 102 p. Reference to a chapter in an edited book: Mettam, G. R. How to prepare an electronic version of your article / Mettam G. R., Adams L. B., Jones B. S. (Eds.) // Introduction to the Electronic Age. E-Publishing Inc.In. – New York, 2009. – P. 281–304.

**Submission checklist.** The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

**Ensure that the following items are present.** One author has been designated as the corresponding author with contact details: E-mail address

- Full postal address
- Phone numbers All necessary files have been uploaded, and contain:
- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description,) Further considerations
- Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked'
- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa.

---

---

## СОДЕРЖАНИЕ

---

### ОБЗОРЫ

- Врынчану Н. А.* Роль эффлюксных систем в резистентности микроорганизмов к антибиотикам .....3
- Добреля Н. В., Гула Н. С., Богатырева Е. В., Хромов А. С.* Липосомы: не только «липо-» ..... 16

### В НАУЧНЫХ ЛАБОРАТОРИЯХ

- Дудикова Д. М., Войчук С. И., Врынчану Н. А.* Особенности ультраструктуры *Staphylococcus aureus* при действии 4-(1-адамантил) фенокси-3-(N-бензил, N-метил, N-циклогексил)-2-пропанол хлорида .....32
- Зайченко А. В., Стахорская М. А., Файзуллин А. В.* Лейкоцитарная реакция у белых крыс в условиях моделирования хронической анальной трещины и лечения ректальным кремом комбинированного состава ..... 37
- Залыгина Е. В., Подплетняя Е. А.* Исследование противоязвенной активности густого экстракта из незрелых плодов ореха грецкого на модели индометацин-индуцированной язвы желудка у крыс .....42
- Исаенко А. Ю., Кныш А. В., Бабич Е. М., Зачепило С. В., Савинова А. М., Набойченко А. А.* Противомикробная активность продуктов метаболизма *Saccharomyces boulardii* по отношению к тест-культурам стафилококков и коринебактерий .....50
- Калапко Е. Н., Штрыголь С. Ю., Мерзликин С. И.* Сравнительное исследование эффективности N,N'-(этан-1,2-диил)бис(хинолин-2-карбоксамида), диакамфа гидрохлорида и метформина на модели инсулинорезистентности.....56
- Кошечкина О. Ю., Гращенкова С. А., Штрыголь С. Ю., Щербинина В. С., Трутаев И. В., Юдкевич Т. К., Еремин О. П.* Исследование влияния капсул «Рависол®» на развитие гиперлипидемии у крыс, вызванной Твином-80.....64
- Маркина А. Ю., Мищенко О. Я.* Скрининговые исследования новых производных 2-оксоиндолина .....69
- Трутаев С. И., Штрыголь С. Ю., Гращенкова С. А., Лебединец И. А.* Анальгезирующее действие субстанции зирилона на модели боли с преимущественно центральным механизмом ноцицепции и его модуляция адrenomotropными препаратами..... 74
- Хмиль Д. А., Костенко В. А.* Эффективность сочетанного применения L-аргинина и ингибитора ядерного фактора κB для коррекции последствий окислительно-нитрозирующего стресса в коже крыс при избыточном поступлении в организм нитрата натрия.....80

---

---

# CONTENT

---

## REVIEWS

- Vrynchanu N. O.* Role of efflux systems in microbial resistance to antibiotics ..... 3
- Dobrelia N. V., Hula N. S., Bohatureva O. V., Khromov O. S.* Liposomes: is not only «lipo-» ..... 16

## IN SCIENTIFIC LABORATORIES

- Dudikova D. M., Voychuk S. I., Vrynchanu N. O.* Ultrastructural features of *Staphylococcus aureus* caused by 4-(1-adamantyl)phenoxy-3-(N-benzyl, N-methyl, N-cyclohexyl)-2-propanol chloride ..... 32
- Zaychenko G. V., Stakhorskaya M. O., Faizullin O. V.* Leukocytic reaction in rats under chronic anal fissure and treatment by combined rectal cream ..... 37
- Zalygina I. V., Podpletnya E. A.* Investigation of antiulcer activity of the thick extract of immature walnut fruits under the model of indometacin-induced gastric ulcer of rats ..... 42
- Isayenko O. Yu., Knysh, O. V., Babych E. M., Zachepylo S. V., Savinova O. M., Naboychenko O. A.* Antimicrobial activity of metabolites of *Saccharomyces boulardii* against test cultures of *Staphylococci* and *Corynebacteria* ..... 50
- Kalapko O. M., Shtryhol' S. Yu., Merzlikin S. I.* A comparative study of the effectiveness of N,N'-(ethane-1,2-diyil)bis(quinoline-2-carboxamide), diacamp hydrochloride and metformin under insulin resistance model ..... 56
- Koshova O. Yu., Grashchenkova S. A., Shtrygol S. U., Shcherbinina V. S., Trutaev I. V., Udkevich T. K.* The influence of «Ravisol®» capsules on the hyperlipidemia development in rats caused by Tween-80 ..... 64
- Markina A. Yu., Mishchenko O. Ya.* Screening research of new derivatives of 2-oxoindoline ..... 69
- Trutaev S. I., Shtrygol' S. Yu., Grashchenkova S. A., Lebedinetz I. A.* Analgesic action of zirilon substance on the model of pain with predominantly central nociception mechanism and its modulation by adrenotropic drugs ..... 74
- Khmil D. A., Kostenko V. A.* Efficiency of combined administration of L-arginin and nuclear factor  $\kappa$ B inhibitor in correction the consequences of oxidative/nitrative stress in skin of rats under excessive sodium nitrate intake ..... 80