

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

№ 4–5(60)/2018

ISSN 2524-2563 (Online)

ISSN 2227-7943 (Print)

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

Т. А. Бухтіарова (головний редактор)

Г. С. Григор'єва (заст. головного редактора)

А. І. Соловйов (заст. головного редактора,
науковий редактор)

Л. Б. Бондаренко
(м. Київ)

І. Ф. Беленічев
(м. Запоріжжя)

Н. О. Ветютнева
(м. Київ)

Г. М. Войтенко
(м. Київ)

В. В. Годован
(м. Одеса)

М. Я. Головенко
(м. Одеса)

А. М. Демченко
(м. Київ)

І. А. Зупанець
(м. Харків)

Т. К. Єфімцева
(м. Київ)

В. М. Коваленко
(м. Київ)

О. Ю. Коновалова
(м. Київ)

О. І. Коняєва
(м. Київ)

І. Г. Кудрявцева
(м. Київ)

О. В. Матвєєва
(м. Київ)

Н. В. Літвінова (науковий редактор)

С. О. Мисливець (відповідальний секретар)

В. І. Опришко
(м. Дніпропетровськ)

Г. І. Парамонова
(м. Київ)

С. Б. Парій
(м. Кишинів, Молдова)

О. М. Пархоменко
(м. Київ)

К. А. Посохова
(м. Тернопіль)

Н. М. Серединська
(м. Київ)

С. М. Тишкін
(м. Київ)

О. О. Цуркан
(м. Київ)

Н. І. Шарикіна
(м. Київ)

Л. М. Шеремета
(м. Івано-Франківськ)

О. К. Ярош
(м. Київ)

РЕДАКЦІЙНА РАДА

Ю. І. Губський
(м. Київ)

В. Й. Кресюн
(м. Одеса)

В. Д. Лук'янчук
(м. Луганськ)

В. Й. Мамчур
(м. Дніпропетровськ)

М. А. Мохорт
(м. Київ)

О. Р. Піняжко
(м. Львів)

Г. І. Степанюк
(м. Вінниця)

І. М. Трахтенберг
(м. Київ)

І. С. Чекман
(м. Київ)

Журнал зареєстрований Державною реєстраційною службою України

Свідоцтво про державну реєстрацію друкованого засобу масової інформації

Серія КВ № 19717-9517ПР від 25.02.2013

Журнал зареєстрований у серпні 2007 року (свідоцтво Серія КВ № 13093-1977Р від 23.08.2007 Міністерства юстиції України)

Рекомендований вченою радою ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» (протокол від 12.09.2018 р. № 6)

Журнал включено до Переліку наукових фахових видань України (біологічні, медичні, фармацевтичні науки)

Наказ Міністерства освіти і науки України від 04.07.2014 р. № 793

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до Державного реєстру видавців, виготовників і розповсюджувачів видавничої продукції ДК № 2726 від 18.12.06.

Формат 70×108 1/16. Папір офсетний № 1. Ум. друк. арк. 12. Наклад 200 прим. Зам. № Р-Ф № 93

Адреса редакції: ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Антона Цедіка, 03057, м. Київ.

Тел.: + 38 0 44 456-42-56, 456-40-22. Електронна пошта: ift.regedit@gmail.com

ЗМІСТ

ОГЛЯДИ

Дейко Р. Д., Штриголь С. Ю. Нейропептиди та їхнє місце в лікуванні захворювань нервової системи (частина I)	3
Степанюк Н. Г. Лікарські засоби як модулятори апоптозу в лікуванні серцево-судинної патології	18

У НАУКОВИХ ЛАБОРАТОРІЯХ

Демченко С. А., Чаленко Н. М., Бухтіарова Т. А., Серединська Н. М., Бобкова Л. С., Ядловський О. Є., Демченко А. М. Синтез й аналізуюча активність 6,7,8,9-тетрагідро-5Н-[1,2,4]тріазоло[4,3-а]азепінів	25
Дуб А. І., Кліщ І. М., Вронська Л. В., Стечишин І. П. Вплив нової фітокомпозиції на спектр ліпідів крові на моделі гіперліпідемії в щурів	32
Рогозін В. В., Завертіленко С. П., Хавич О. О., Шарикіна Н. І. Протипухлинна активність похідного хіназоліну – 2-(3-аліл-4-оксо-3,4-дигідро-хіназолін-2-ілсульфаніл)-N-(2,6-дихлорофеніл)-ацетаміду на гетеротрансплантатах недрібноклітинного раку легенів людини	38
Чайка Л. О., Деева Т. В., Нікітіна Н. С., Тимченко О. В., Лібіна В. В., Андріанова Т. В., Безугла О. П. Експериментальне дослідження фармакологічної активності назального спрею мометазону з оксиметазоліном	42

АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ ЛІКАРСЬКОЇ ТОКСИКОЛОГІЇ

Bondarenko L. B., Shayakhmetova G. M., Kovalenko V. M. Effects of two antituberculosis agents compositions on DNA fragmentation in Wistar albino male rats	53
Зайченко Г. В., Покотило О. А., Нікітіна Н. С. Вивчення гострої токсичності крему з наночастинками церію діоксиду за різних шляхів введення	58

КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

Білай І. М., Цис О. В., Михайлюк Є. О. Фармакологічна безпека комбінації аторвастатину з триметазидином за умов експериментальної гіперліпідемії	64
--	----

ПИТАННЯ ФАРМАЦЕВТИКИ, ФАРМАЦЕВТИЧНОГО РИНКУ, ФАРМАКОЕКОНОМІКИ

Залигіна Є. В., Подплетня О. А., Соколова К. В. Визначення вмісту суми флавоноїдів у складі густих екстрактів з незрілих плодів горіха волоського	69
Левин М. Г., Брицун В. Н., Мелешко Р. А., Терещенко О. Н., Гуменюк А. А., Останина Н. В. Современные аспекты нормирования и контроля профиля примесей в лекарственных препаратах	74

Правила для авторів	89
---------------------------	----

To Authors	92
------------------	----

СОДЕРЖАНИЕ	95
------------------	----

CONTENT	96
---------------	----

СОДЕРЖАНИЕ

ОБЗОРЫ

Дейко Р. Д., Штрыголь С. Ю. Нейропептиды и их место в лечении заболеваний нервной системы (часть I).....	3
Степанюк Н. Г. Лекарственные средства как модуляторы апоптоза в лечении сердечно-сосудистой патологии	18

В НАУЧНЫХ ЛАБОРАТОРИЯХ

Демченко С. А., Чаленко Н. Н., Бухтиарова Т. А., Бобкова Л. С., Серединская Н. Н., Ядловский О. Е., Демченко А. М. Синтез и анальгетическая активность 6,7,8,9-тетрагидро-5H-[1,2,4]триазоло [4,3-а]азепинов.....	25
Дуб А. И., Клищ И. М., Вронская Л. В., Стечишин И. П. Влияние новой фитокомпозиции на липидный спектр крови на модели гиперлипидемии у крыс	32
Рогозин В. В., Завертиленко С. П., Хавич О. А., Шарыкина Н. И. Противоопухолевая активность производного хиназолина – 2-(3-алил-4-оксо-3,4-дигидро-хиназолин-2-илсульфанил)-N-(2,6-дихлорофенил)-ацетамида на гетеротрансплантатах немелкоклеточного рака легких человека.....	38
Чайка Л. А., Деева Т. В., Никитина Н. С., Тимченко О. В., Либина В. В., Андрианова Т. В., Безуглая Е. П. Экспериментальное исследование фармакологической активности назального спрея мометазона с оксиметазолином	42

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ТОКСИКОЛОГИИ

Бондаренко Л. Б., Шаяхметова А. М., Коваленко В. Н. Влияние двух композиций противотуберкулезных средств на фрагментацию ДНК у крыс-самцов линии Вистар	53
Зайченко А. В., Покотило О. А., Никитина Н. С. Изучение острой токсичности крема с наночастицами диоксида церия при различных путях введения	58

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Белай И. М., Цыс А. В., Михайлюк Е. О. Фармакологическая безопасность комбинации аторвастатина с триметазидином в условиях экспериментальной гиперлипидемии	64
---	----

ВОПРОСЫ ФАРМАЦЕВТИКИ, ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА, ФАРМАКОЭКОНОМИКИ

Залыгина Е. В., Подплетняя Е. А., Соколова К. В. Определение содержания суммы флавоноидов в составе густых экстрактов из незрелых плодов ореха грецкого	69
Левин М. Г., Брицун В. Н., Мелешко Р. А., Терещенко О. Н., Гуменюк А. А., Останина Н. В. Современные аспекты нормирования и контроля профиля примесей в лекарственных препаратах	74

CONTENT

REVIEWS

- Deiko R. D., Shtrygol' S. Yu.* Neuropeptides and their role in the therapy of nervous system disorders (part I) 3
- Stepanyuk N. G.* Medicinal drugs as modulators of apoptosis in the treatment of cardiovascular pathology 18

IN SCIENTIFIC LABORATORIES

- Demchenko S. A., Chalenko N. M., Bukhtiarova T. A., Bobkova L. S., Seredinska N. M., Yadloviskyi O. E., Demchenko A. M.* Synthesis and analgesic activity of 6,7,8,9-tetrahydro-5H-[1,2,4]triazoles[4,3-a]azepines..... 25
- Dub A. I., Klishch I. M., Vronska L. V., Stechyshyn I. P.* An influence of new phytocomposition on the blood lipid spectrum under the model of hyperlipidemia in rats 32
- Rogozin V. V., Zavertilenko S. P., Khavych O. O., Sharykina N. I.* Antitumor activity of quinazoline derivative – 2-(3-allyl-4-oxo-3,4-dihydro-quinazolin-2-ylsulfanyl)-N-(2,6-dichlorophenyl)acetamide on heterotransplants of human non-small cell lung cancer 38
- Chaika L., Deeva T., Nikitina N., Tymchenko O., Libina V., Andrianova T., Bezugla O.* Experimental study of the pharmacological activity of nasal spray with mometasone and oxymetazoline 42

CURRENT ISSUES OF DRUG TOXICOLOGY

- Bondarenko L. B., Shayakhmetova G. M., Kovalenko V. M.* Effects of two antituberculosis agents compositions on DNA fragmentation in Wistar albino male rats 53
- Zaychenko G. V., Pokotylo O. A., Nikitina N. S.* Acute toxicity testing of the cream with cerium dioxide nanoparticles at various routes of administration 58

SHORT REPORTS

- Bilai I. M., Tsys A. V., Mikhailuk E. O.* Pharmacological safety of atorvastatin with trimethazidine combination in experimental hyperlipidemia 64

ISSUES OF PHARMACY, PHARMACEUTICAL MARKET, PHARMACOECONOMICS

- Zalygina I. V., Podpletnya H. A., Sokolova K. V.* Determination of the flavonoids amount in the composition of thick extracts from immature walnut fruit 69
- Levin M. G., Britsun V. N., Meleshko R. A., Tereschenko O. M., Humenyk O. A., Ostanina N. V.* Modern aspects of rationing and control of the impurity profile in medicines 74
-

Р. Д. Дейко, С. Ю. Штриголь

Нейропептиди та їхнє місце в лікуванні захворювань нервової системи (частина I)

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: нейропептиди, нервова система, патологія, лікування

Нейроактивні пептиди (нейропептиди, НП) – біологічно активні сполуки (БАС), що синтезуються нервовими клітинами й беруть участь у регуляції їхніх фізіологічних і патологічних процесів (експресії генів, синтезі білка, між- та внутрішньоклітинному сигналіngu, синаптогенезі, нейрональної пластичності, регуляції кровообігу тощо) [1]. НП є високоактивними речовинами, що в тканинах діють у фемто- (10^{-15}) та пікомолярних (10^{-12}) концентраціях. Вони є джерелом створення лікарських засобів (ЛЗ) різноспрямованого спектра дії. Приклад – антигіпертензивні ЛЗ, що діють на ренін-ангіотензинову систему. Першими інгібіторами ангіотензинперетворювального ферменту були пептидні фрагменти ангіотензину I *Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro* та *Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His*. Незважаючи на значну модифікацію структури нових представників цього класу ЛЗ, більшість з них зберігають пептидну природу [1].

З початком фармакологічного вивчення НП їхній вплив на вищу нервову діяльність пов'язували з реалізацією власної гормональної функції (підвищенням артеріального тиску та покращанням мозкового кровообігу – для вазопресину, стимуляцією функції наднирників – для кортикотропіну). Згодом це припущення було спростовано [2]. Уже в ранніх працях корифеїв вивчення нейроактивних пептидів – групи нідерландських учених під керівництвом Д. де Віда, а також російських учених під керівництвом І. П. Ашмаріна встановлено, що ці БАС наділені внутрішньою активністю особливого характеру, яка відрізняється за меха-

нізмом як від дії класичних медіаторів, так і гормонів. Першою суттєвою відмінністю НП є їхня кінетика – період напіврозпаду складає в середньому 20 хв, тим часом як для класичних нейромедіаторів цей показник становить понад 5 мс [3]. По-друге, НП депонуються й виділяються в спеціалізованих везикулярних утвореннях – везикулах зі щільним ядром (*dense core vesicles*), які локалізовані не лише в аксональних терміналях, але й на рівні дендритів і нейрональної соми. Це дозволяє пептидергічним нейронам ефективно модулювати активність практично всіх нейротрансмітерних систем [3]. Крім того, НП є важливим компонентом системи експресії генів. Їхня фізіологічна функція полягає в регулюванні активності основних і специфічних факторів транскрипції генів, що виявляється впливом на базальну експресію генів, онтогенез, відповіді на позаклітинні подразники та зміни зовнішнього середовища, а також клітинний цикл [4]. Таким чином, за важливістю виконуваних функцій регуляторні НП можна порівняти хіба що з нуклеїновими кислотами – ДНК і РНК.

Із середини ХХ сторіччя здійснювалися спроби створити на основі НП ЛЗ, що відновлювали б функціональну активність нервової системи за/після дії несприятливих чинників. Перші такі препарати – сайлери і скотофобін (*H-Ser-Asp-Asn-Asn-Gln-Gln-Gly-Lys-Ser-Ala-Gln-Gln-Gly-Gly-Tyr-NH₂*) – очищені витяжки з нервової тканини тварин. Вони стимулювали синтез нейрональної РНК і сприяли розвитку моторних навичок у тварин без попереднього навчання [2]. Це були одні з перших засобів для лікування деменції, використання котрих у людини, однак, було безуспішним. Із розвитком аналітичних методів визначення структури та

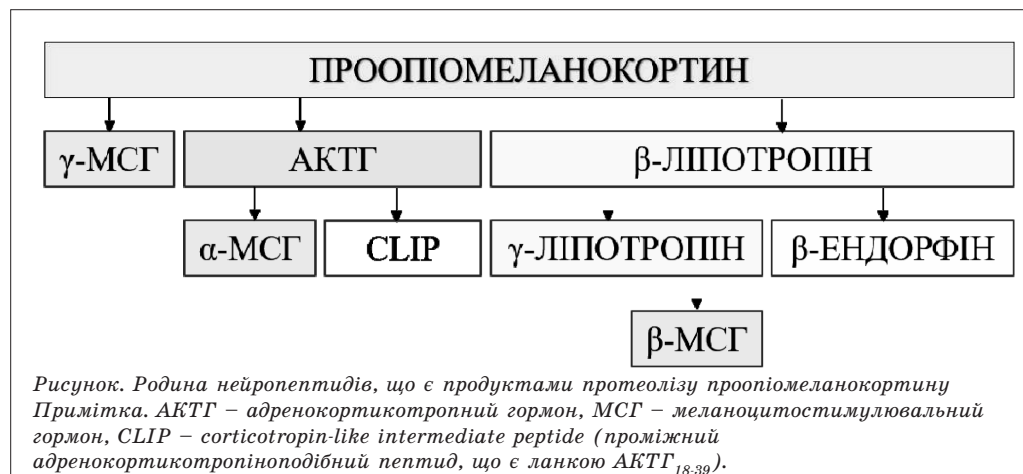
виділення БАС, перш за все радіоімунного аналізу, почала зростати кількість відомих НП і робіт, присвячених їхньому вивченню. Сьогодні відомо декілька сотень лінійних і циклічних НП [5].

Першими НП, структуру яких вдалося встановити, є **лейцин-** (*Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu*) і **метіонін-енкефаліни** (*Tyr-Gly-Gly-Phe-Met*). Ці ендогенні опіоїди, а також меланокортини адренотропний гормон (АКТГ), α -, β - та γ -меланоцитостимулювальні гормони (МСГ) і β -ліпотропний гормон є дериватами проопіомеланокортину (ПОМК), що складається з 241 амінокислоти (АК) (рисунок) [6]. Продукти біодеградації ПОМК є високоактивними НП.

Енкефаліни й ендорфіни виявляють не лише аналгетичні властивості. Взаємодіючи з різними підтипами опіоїдних рецепторів і модулюючи активність багатьох інших, ці НП впливають на поведінку тварин, їхні когнітивні функції та емоційний стан. Наразі виконуються спроби використовувати опіоїдні пептиди для нейропротекції. Для проникності крізь гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ) їх конденсують з фентанілом (препарати LYS436, LYS739 та LYS416) [7] чи синтезують ГЕБ-проникні селективні агоністи δ -опіоїдних рецепторів (препарат TAN-67, що є [D-Ala², D-Leu⁵]-енкефаліном) [8]. Вони зменшують об'єм інфаркту в корі головного мозку (ГМ), стріатумі та гіпокампі за церебральної ішемії-реперфузії в щурів, індукуючи TrkB/MAPK (tyrosine kinase B/mitogen-activated

protein kinase) сигнальний каскад. З огляду на найновіші дані, перспективним є використання синтетичних аналогів **кіоторфіну** (*Tyr-Arg*) і **неокіоторфіну** (*Thr-Ser-Lys-Tyr-Arg*), які за відсутності аналгетичної активності стимулюють рилізінг опіоїдних пептидів, що зменшують зону інфаркту за гострих порушень мозкового кровообігу (ПМК).

Серед інших опіоїдів відомими виразним мнемотропним впливом є **динорфіни** (наприклад, **динорфін А**, *Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-Arg-Arg-Ile-Arg-Pro-Lys-Leu-Lys*). Нейрони, що їх експресують, розташовані переважно в гіпокампі, амигдалі та гіпофізі. Свої функції ці пептиди реалізують здебільшого через κ -опіоїдні рецептори (КОР) [9]. Їхній ефект виявляється стимуляцією деяких видів коротко- та довготривалої пам'яті, зокрема, на негативні подразники (aversive memory) та просторової пам'яті (spatial memory). Іншим наслідком взаємодії динорфіну та дериватів продинорфіну з КОР є модуляція глутаматергічної нейротрансмісії та протисудомна активність в експерименті [10]. Нейропсихотропний потенціал динорфінів включає також контроль психоемоційної реакції (відповідь на стрес, формування депресивних розладів), апетиту та циркадних ритмів, регуляції температури тіла, а також механізмів розвитку адиктивних порушень [3]. В огляді Cai and Ratka [11] обговорюється роль δ -опіоїдних рецепторів (ДОР) у реалізації β - та γ -секретазного шляхів метаболізму білка-



попередника амілоїду – каскадів утворення β -амілоїдного білка (β -АБ) за хвороби Альцгеймера (ХА). Значно зменшуючи в цьому разі гіперфосфорилювання тау-протеїну, деякі антагоністи ДОР можуть бути ефективними засобами боротьби з ХА [11].

Іншою групою продуктів біодеградації ПОМК є **меланокортини**. Вони представлені МСГ (α -, β - і γ -МСГ) і АКТГ. Ці пептиди утворюються шляхом «нарізання» молекули ПОМК ендогенними пептидазами по тих позиціях, де знаходяться *Lys-Arg* послідовності. Єдиною такою послідовністю АКТГ, що не є маркером для пептидаз, є ланка АКТГ₁₅₋₁₈ – *Lys-Lys-Arg-Arg*. Окрім того, специфічна *Lys-Arg* послідовність зустрічається в структурі багатьох інших нейроактивних олігопептидів (кортиколиберин, грелін, ноцицептин, каллідін, матриксний Gla-протеїн тощо). АКТГ – лінійний олігопептид з 39 АК (*H-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Try-Gly-Lys-Pro-Val-Gly-Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Val-Lys-Val-Tyr-Pro-Asp-Gly-Ala-Glu-Asp-Glu-Leu-Ala-Glu-Ala-Phe-Pro-Leu-Glu-Phe-OH*), який виконує гормональну, нейротрансмітерну, нейромодуляторну функції та є ростовим фактором нервової тканини [6]. У 1950-х роках його використовували як протиревматичний засіб. Згодом розпочався випуск протизапального препарату синактен, що являє собою АКТГ₁₋₂₄. Спочатку протизапальну активність АКТГ пов'язували зі стимуляцією рилізину глюкокортикоїдів, згодом з'ясувалося, що АКТГ і його деривати виявляють власні протизапальні властивості, пов'язані з пригніченням активності транскрипційного фактора NF- κ B (nuclear factor kappa-b), який контролює експресію понад 100 цитокінів, їхніх рецепторів, хемокінів, молекул адгезії формених елементів крові, факторів проникності судинної стінки тощо [12]. Натепер вважають, що протизапальні властивості дериватів АКТГ і α -МСГ частково зумовлюють їхні нейропротекторні властивості за ПМК, ХА, паркінсонізму, черепно-мозкової травми (ЧМТ), травми спинного мозку [13, 14]. Починаючи з 1970-х років розпочалося вивчення АКТГ та його фраг-

ментів як біомолекул, що беруть участь у когнітивних процесах, зокрема, регулюванні пам'яті. Досліджували ноотропні та нейропротекторні властивості як самого АКТГ, так і його фрагментів АКТГ₁₋₂₄, АКТГ₁₋₁₆, АКТГ₁₋₁₀, АКТГ₅₋₁₀, АКТГ₄₋₇, АКТГ₄₋₁₀, АКТГ₇₋₁₆, АКТГ₅₋₂₄, АКТГ₄₋₂₃ тощо [15, 16]. Натепер досліджено властивості близько 100 дериватів меланокортинів, існує близько 10 препаратів, що взаємодіють з меланокортиновими рецепторами, випущених на ринок або таких, що знаходяться на останніх стадіях клінічних досліджень [17]. Одним з найвідоміших препаратів цієї групи є нейропротекторний і ноотропний гептапептид **Семакс**, створений на основі послідовності АКТГ₄₋₇ (*Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro*).

Молекула АКТГ тропна до всіх 5 підвидів меланокортинових рецепторів (MCRs₁₋₅), але лише для MCR₂ єдиним лігандом є АКТГ. Стимуляція MCR₂, розташованих у корковому шарі надниркових залоз, сприяє утворенню та виділенню кортикостероїдів (гормональна функція АКТГ). Мінімальним фрагментом АКТГ, необхідним для зв'язування з рецептором, є послідовність АКТГ₁₅₋₁₈ *Lys-Lys-Arg-Arg* [6]. За посередництва інших MCRs реалізуються нейро- та імунотропні властивості пептиду. Меланокортинові рецептори належать до суперсімейства G-білок-пов'язаних семиспиральних трансмембранних рецепторів [6]. Нейропсихотропні властивості меланокортинів опосередковуються локалізованими в ЦНС МС₃- і МС₄-рецепторами. Цитозольні компоненти цих рецепторів представлені *Gs*-, *Gi/o*-, та *Gq/11*-білками. Ліганд-рецепторна взаємодія з MCRs запускає низку внутрішньоклітинних каскадів, зокрема тих, що відіграють вагомую роль у процесах нейрорепарації та нейрогенезу. Група італійських учених під керівництвом D. Giuliani активно розвиває напрям меланокортинової нейропротекції. Розроблено підходи до використання міметиків МС₄-рецепторів як засобів боротьби з ішемічним інсультом, субарахноїдальним та внутрішньомозковим крововиливом, ЧМТ, ХА, нейродегенерацією з тільцями Леві, дегенерацією мотонейронів,

дем'єлінізацією периферичних нервів, хворобою Гантінгтона, травмою спинного мозку тощо [18].

Серед олігопептидних гормонів виразні нейропсихотропні властивості виявляють **окситоцин** (ОКС, циклічний Cys_1-Cys_6 *нонапептид* $H_2N-Cys-Tyr-Ile-Gln-Asp-Cys-Pro-Leu-Gly-NH_2$) і **вазопресин** (ВАЗ, циклічний Cys_1-Cys_6 *нонапептид* $H_2N-Cys-Tyr-Phe-Gln-Asp-Cys-Pro-Arg-Gly-NH_2$) [19, 20], що синтезуються нейросекреторними клітинами супраоптичного (СОЯ) та паравентрикулярного ядер (ПВЯ) мозку й є також нейромедіаторами та нейро модуляторами [21]. Відомий 1 тип окситоцинових (ОТ) та 2 типи вазопресинових рецепторів – V_1 (V_{1A} , V_{1B}) і V_2 [6]. ОКС вважають «гормоном материнства», оскільки його головну психотропну функцію пов'язують з формуванням материнської поведінки під час вагітності та після народження дитини. Також ОКС важливий для реалізації поведінки, спрямованої на утворення пар між статевими партнерами (couple-bonding behavior). У роботі [3] про вплив ОКС на сексуальну поведінку йдеться так: «як у жінок, так і чоловіків, концентрація ОКС в плазмі крові підвищується під час оргазму та сексуального збудження. Введення ОКС у ventral tagmental area супроводжується ерекцією статевого члена у самців (через взаємодію з допамінергічною системою), а інтраназальне введення самкам посилює їх статевий потяг».

У подальших дослідженнях встановлено вагомий вплив ОКС на формування поведінки у соціальних видів тварин, зокрема, у людини. З'ясовано також, що цей нейрональний *нонапептид* є важливим регулятором психоемоційного стану. Наразі ОКС вважають чи не найголовнішою біохімічною детермінантою соціальної поведінки вищих тварин. У наведеному вище огляді підкреслюється роль ОКС як фізіологічного чинника соціальної взаємодії: «Фактично, ОКС сприяє соціалізації у випадку сприятливого соціального середовища та оборонній поведінці, якщо останнє є небезпечним. Ефект позитивної взаємодії є присутнім навіть за умови введення ОКС особам з неспри-

ятливим попереднім досвідом. Також гострі психофізіологічні стресорні стимули підвищують концентрацію ОКС у плазмі крові. Масив даних вказує на те, що ОКС відіграє роль анксиолітика та приглушує нейроендокринну відповідь гіпоталамо-гіпофізарно-наднирничкової системи на стрес» [3]. Дослідження фармакологічних властивостей ОКС від 1970-х років до наших днів значно еволюціонували від спроб використання ОКС як ноотропного й нейропротекторного агента до засобу регулювання соціо-емоційної інтеракції [22–27]. Вивчали можливість корекції набряку мозку, гострих ПМК, ранніх стадій ХА, синдрому Корсакова, ЧМТ та інших патологій ЦНС [28–30]. Наразі саме найбільші сподівання щодо терапевтичного потенціалу ОКС відносяться до можливостей корекції соціофобії, адиктивних захворювань, тривожних і депресивних розладів, аутизму та негативної симптоматики шизофренії (табл. 1) [31, 32].

ВАЗ та ОКС беруть участь у функціонуванні оперантного, імітаційного (обсерваційного) запам'ятовування [32, 33], коротко- та довготривалої, просторової та непросторової [34], вербальної та невербальної пам'яті [35], а особливо пам'яті, пов'язаної з емоційно навантаженими тригерами [36]. ВАЗ завдяки нейропротекторним і ноотропним властивостям може бути ефективним за ХА, інсульту, паркінсонізму, порушень пам'яті різного генезу, шизофренії [37–44] (табл. 2). У роботах [45, 46] продемонстровано залучення V_{1B} -рецепторів до лікувального ефекту ВАЗ у разі порушень пам'яті за ХА. За клінічних умов агоніст V_2 -рецепторів 1-дезаміно-[D-Arg⁸]-вазопресин зменшує порушення больової, температурної й тактильної чутливості, покращує мовлення, редукує депресивну поведінку в пацієнтів з інсультом [37, 47].

Близькоспорідним до рецепторів ВАЗ і ОКС є рецептор **нейропептиду S** (НПС, *Ser-Phe-Arg-Asn-Gly-Val-Gly-Ser-Gly-Val-Lys-Lys-Thr-Ser-Phe-Arg-Arg-Ala-Lys-Gln*). У генетичних дослідженнях встановлено, що мутації рецептора НПС 1 типу (NPSR1) виявляються подекуди 10-разовим збільшенням тривожнос-

Основні фармакологічні ефекти окситоцину за експериментальних і клінічних умов

Дизайн дослідження	Результат
Дослідження тривожності в темно-світлій камері та піднесеному хресто-подібному лабіринті за введення в паравентрикулярні ядра ГМ.	Виразне зниження тривожності, опосередковане активацією ERK 1/2 – кінази СОЯ та ПВЯ гіпоаламуса.
10-денне внутрішньоочеревинне введення перед виконанням плавального тесту Порсолта (ПТП) або тесту підвищення за хвіст у мишей.	Антидепресантна активність – зниження іммобілізації мишей у ПТП та тесті підвищення за хвіст.
Тест вивченої безпорадності (ТВБ) у мишей за п/ш введення.	Антидепресантна активність – зниження похибок при виконанні ТВБ у мишей.
Тест гіперактивності гризунів, спричиненої кокаїном.	Антагонізм зі стимулювальним ефектом кокаїну.
Тест формування залежності від морфіну або героїну в гризунів.	Значне зниження залежності від морфіну, збільшення само-введення морфіну або героїну та пом'якшення симптомів абстиненції.
Перевірка больової чутливості щурів у тесті «гарячої пластини» у разі безпосереднього введення в амігдалу та прилегле ядро.	Антиноцицептивний ефект – дозозалежне збільшення латентного часу відсмикування кінцівок від гарячої пластини.
Інтраназальне введення протягом 7 місяців (8, 16 або 24 МО/доза) 8 хлопчикам 10–14 років з аутизмом.	Покращання соціальної взаємодії дітей, зменшення кількості та тривалості повторюваних рухів, відсутність побічної дії ОКС.
Інтраназальне введення протягом 8 тижнів 40 пацієнтам 18–50 років з шизофренією (у дозі 20–40 МО/доза) на тлі терапії рisperидоном.	Поліпшення мнемонічних функцій хворих (зокрема, оперативної пам'яті), збільшення щільності міжнейрональних зв'язків між дорсолатеральною префронтальною корою та передньою поясною корою.
Інтраназальне введення (24 МО/доза) 16 хворим на ПТСР.	Дозозалежне підвищення рівня емоційного розпізнавання, емпатії, почастішання згадування позитивних епізодів життя.
Інтраназальне введення 37 корейським чоловікам у дозі 32 МО або 40 МО.	
Визначення мнемотропних властивостей ОКС у діапазоні доз 10–24 МО в разі інтраназального введення здоровим добровольцям у тестах із емоційно нейтральними та емоційно забарвленими стимулами	Покращання довготривалої пам'яті в разі запам'ятовування емоційно навантажених символів, відсутність впливу – у разі запам'ятовування емоційно нейтральних стимулів

ті в гризунів, а інтрацеребральне введення цього нейропептиду ліквідує це порушення. Використання бензодіазепінових транквілізаторів за таких умов є неефективним. У зв'язку з цим, паралельно з системою ГАМК, систему НП S наразі вважають домінантною у формуванні тривожних порушень і

посттравматичного стресового розладу (ПТСР) [48].

Відомими є нейропсихотропні властивості гіпоталамічних рилізінг-факторів (перш за все, тироліберину та соматостатину). **Тироліберин** (тиротропінрелізінг гормон, ТРГ) є трипептидом *L-pGlu-L-His-L-Pro-amide*, тоді як

Основні фармакологічні ефекти вазопресину за експериментальних і клінічних умов

Дизайн дослідження	Результат
Механічне пошкодження сенсомоторної зони неокортексу лівої та правої півкуль у щурів.	Зменшення моторного дефіциту, відновлення рухової активності контрлатеральних кінцівок у 2,7–4,7 разу краще за тварин, що не отримували лікування.
Інтрацеребровентрикулярне введення аргінін-вазопресину щурам на тлі токсичності, зумовленої $\beta_{(25-35)}$ -АБ.	Попередження електрофізіологічних порушень нейронів CA_1 зони гіпокампа щурів, викликаних $\beta_{(25-35)}$ -АБ.
15 хворих на інсульт і 21 хворий на хворобу Паркінсона або паркінсонізм (різного ґенезу).	Підвищення сили м'язового скорочення паретичних кінцівок у 67 % понстінсультних хворих з дискінезіями легкого ступеня; зниження тремору спокою та дії, м'язової ригідності, брадикінезії та гіпокінезії, постуральної нестійкості в 73 % пацієнтів з ХП та паркінсонізмом.
42 хворих на інсульт у резидуальному періоді з різного ступеня депресивними розладами.	Позитивний ефект у 93 % хворих на розлади, покращання настрою ($p < 0,05$), загальної активності та працездатності ($p < 0,05$), нормалізація сну ($p < 0,05$), зменшення психомоторної загальмованості та збільшення мовної та рухової активності, прискорення мислення та відновлення уваги ($p < 0,05$); ефект курсового введення ВАЗ тривав не менш ніж 0,5 року.
Хворі з розладами пам'яті різного ґенезу.	Оптимізація короткотривалої пам'яті в хворих на деменцію альцгеймерівського типу, пацієнтів з корсаківським синдромом на тлі хронічного алкоголізму та в хворих з посттравматичною амнезією.
13 хворих на шизофренію з виразними проявами негативної симптоматики.	Значне зниження проявів негативної симптоматики в хворих на шизофренію, зменшення депресивної патології в більшості пацієнтів; тривалість позитивної динаміки склала 2–4 тижні після курсу ВАЗ.
40 хворих на шизофренію (> 2 років) на тлі базової терапії рисперидоном	Доповнення рисперидонової терапії хронічної шизофренії інтраназальним спреєм ВАЗ значно редукує негативну та загальну психопатологічну симптоматику (не менше ніж 8 тижнів); вплив на депресивний стан пацієнтів та екстрапірамідні розлади статистично не відрізняється від терапії одним лише рисперидоном

соматостатин (CCT) представлений двома формами – циклічним тетрадекапептидом *H-Ala-Gly-Cys-Lys-Asn-Phe-Phe-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys-OH* (**CCT-14**, цикл між Cys³ та Cys¹⁴) і циклічним октакозапептидом (**CCT-28**, *H-Ser-Ala-Asn-Ser-Asn-Pro-Ala-Met-Ala-Pro-Arg-Glu-Arg-Lys-Ala-Gly-Cys-Lys-Asn-Phe-Phe-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-Cys-OH*, цикл між Cys¹⁷ та Cys²⁸). Актив-

ність олігопептидів не обмежується гормональними функціями [9, 10]. Відомий нейромодулювальний вплив ТРГ на допамін-, серотонін-, ацетилхолін- та опіоїдєргічну системи, а також нейротрансмітерна функція, опосередкована власними рецепторами (TRH₁ та TRH₂) [49]. Він має аналептичний (виразний антагонізм з наркозною дією пентобарбіталу) [50], психостимулю-

вальний [49, 51], протисудомний [52], нейропротекторний (за ХА, ЧМТ, паркінсонізму та латерального аміотрофічного склерозу) ефекти [52–54], бере участь у терморегуляції (антагонізм з морфін-зумовленою гіпотермією), контролі моторної та когнітивних функцій [55, 56]. На основі ТРГ створено препарати, які проходять клінічні випробування як нейропротектори та ноотропи (Taltirelin), протиепілептичні (Montirelin) та аналептичні засоби (Azetirelin) [50, 57]. ССТ виявляє помірні анксиолітичні властивості при введенні мавпам у високій дозі (30–40 мг/кг) [58]. Основним видом негормональної фармакологічної активності ССТ та його фрагментів (ССТ₃₋₈, ССТ₉₋₁₄, ССТ₇₋₁₀) є ноотропна дія. При інтрацеребральному введенні гризунам він підвищує їхню моторну активність, покращує пам'ять у тестах пасивного та активного уникнення, водному лабіринті Морріса, shuttle-box learning test [58, 59]. Основними групами ССТ-ергічних ліків є агоністи рецепторів ССТ (SMS-201995, агоніст SST₂, SST₃ та SST₅ підвидів) та індуктори його релізингу (препарати FK960 та FK962) [60, 61, 62]. Спектр нейродегенеративних захворювань, для яких запропоновано лікування аналогами ССТ, охоплює ХА, хворобу Паркінсона (ХП), хворобу Гантінгтона, латеральний аміотрофічний склероз [63–67].

Важливу роль у патогенезі низки захворювань ЦНС відіграють **вазоактивний інтестинальний пептид** (ВІП, *H-His-Ser-Asp-Ala-Val-Phe-Thr-Asp-Asn-Tyr-Thr-Arg-Leu-Arg-Lys-Gln-Met-Ala-Val-Lys-Lys-Tyr-Leu-Asn-Ser-Ile-Leu-Asn-NH₂*) і **пептид, що активує аденілатциклазу гіпофіза** (pituitary adenylate cyclase activating peptide, PACAP). Їх розглядають як тканинні гормони, нейромедіатори, нейромоделюлятори, нейротрофічні та ендогенні нейропротекторні фактори. Свої функції ці пептиди реалізують через рецептори VPAC₁, VPAC₂ і PAC₁. ВІП та PACAP беруть участь у патогенезі запалення за органічних уражень ЦНС, депресії, аутизму, ХП і ХА [68–70]. У разі ХА вони запобігають β-АБ-зумовленій запальній реакції, зменшують апоптоз,

пригнічуючи каспазу-3 та -7 [71, 72], за ХП демонструють нейротрофічні, нейропротекторні, антиапоптотичні, протизапальні, антиоксидантні властивості, редукують моторні порушення [73, 74]. Нейропротекторний ефект ВІП і PACAP реалізується за посередництва фактора росту нервів (ФРН), системи цитокінів, хемокинів, нектин-1, activity-dependent neurotrophic factor та activity-dependent neuroprotective protein [75]. Створюються ліпофільні аналоги ВІП та PACAP, що проникають крізь ГЕБ [9].

Важливим представником нейроактивних пептидів є **субстанція Y** (*H-Tyr-Pro-Ser-Lys-Pro-Asp-Asn-Pro-Gly-Glu-Asp-Ala-Pro-Ala-Glu-Asp-Met-Ala-Arg-Tyr-Tyr-Ser-Ala-Leu-Arg-His-Tyr-Ile-Asn-Leu-Ile-Thr-Arg-Gln-Arg-Tyr-NH₂*) [76]. Цей пептид вважають одним з факторів нейрогенезу, оскільки найбільша кількість матричної РНК, що кодує його синтез, знаходиться у субвентрикулярних і субгранулярних зонах зубчастої звивини гіпокампа – найважливішому осередку утворення нових нейронів у ГМ дорослих [77, 78]. *In vitro* він стимулює нейрогенез у CA₁ і CA₃ зонах гіпокампа, підвищуючи кількість як β-тубулін-позитивних (нейрональних), так і GFAP-позитивних (гліальних) клітин [79]. Нейропроліферативний ефект субстанції Y опосередкований Y₁ рецепторами, що встановлено на лінії Y₁-негативних мишей. Субстанції Y властиві потужні стреспротекторні, анксиолітичні та антидепресантні властивості [80, 81]. Запропоновано її інтраназальне (і/н) використання для лікування ПТСР і деяких афективних синдромів [82, 83]. У разі активації Y₂-рецептора зменшується β-АБ-зумовлене порушення когнітивних функцій за ХА, зростає число функціонально повноцінних нейронів у substantia nigra та активність тирозингідроксилази за ХП, збільшується кількість білків-переносників допаміну [84, 85]. Захисні властивості субстанції Y реалізуються за посередництва PI3K/АКТ/mTOR сигнального каскаду, який є спільним з метаболічними шляхами деяких нейротрофінів (ФРН і мозкового нейротрофічного фактора) [86].

З огляду на одну з ключових ролей у забезпеченні енергетичного метаболізму, сну та стану неспання, стрес-реакції, системи винагороди, значну увагу привертає система **орексинів**. Вона представлена **орексином А** (*pGlu-Pro-Leu-Pro-Asp-Cys-Cys-Arg-Gln-Lys-Thr-Cys-Ser-Cys-Arg-Leu-Tyr-Glu-Leu-Leu-His-Gly-Ala-Gly-Asn-His-Ala-Ala-Gly-Ile-Leu-Thr-Leu-NH₂* (цикл між Cys₆-Cys₁₂, Cys₇-Cys₁₄) та **орексином В** (*H-Arg-Ser-Gly-Pro-Pro-Gly-Leu-Gln-Gly-Arg-Leu-Gln-Arg-Leu-Leu-Gln-Ala-Ser-Gly-Asn-His-Ala-Ala-Gly-Ile-Leu-Thr-Met-NH₂*) [6]. Рецепторами цих НП є G-білок-пов'язані рецептори орексину 1 (OX₁) і 2 (OX₂). Орексинергічні нейрони в кількості декількох тисяч розташовані в перифорнікальній області, дорсомедіальному та латеральному гіпоталамусі (ЛГ), проєціюючи свої волокна на більшість регіонів ГМ (кору, амигдалу, базальні ядра, таламус, гіпокамп) [87]. Терапевтичний потенціал агоністів OXRs полягає а запобіганні нарколепсії/каталепсії, корекції інсомнії та адиктивних захворювань. Одним з перших дуальних антагоністів OX_{1/2} рецепторів, затверджених FDA для лікування інсомнії, є Суворексант (Belsomra®). Селективні блокатори OX₁ рецепторів є ефективними засобами ослаблення адиктивної поведінки в разі зловживання етанолом, ніотином. Негативна регуляція OX₁ рецепторів значно ослаблює тривожну реакцію на стрес [87]. Таким чином, ЛЗ створені на основі блокаторів OX₁ рецепторів, мають великий потенціал для терапії тривоги, алкоголізму та нікотинової залежності.

За вивчення біохімічних змін мозку на тлі дії деяких психостимуляторів на початку 1990-х років відкрито новий поліпептид – білок, **транскрипція якого регулюється кокаїном та амфетаміном** (*cocaine and amphetamine regulated transcription peptide, CART peptide*) [88]. У ЦНС нейрони, що експресують CART, колокалізовані з іншими, які продукують нейротрансмітери та пептиди, задіяні в регулюванні харчової поведінки, зокрема, з меланін-концентрувальним гормоном у дорсомедіальному ядрі та ЛГ, кортиколібериним у

ПВЯ та α-МСТ в аркуатному ядрі. Встановлено виключну роль цього НП та його дериватів (зокрема, CART₄₂₋₈₉) у регуляції апетиту [89]. CART і його гомолог CART₄₂₋₈₉, що зустрічається у деяких видів ссавців як самостійна біомолекула, є потужними анорексигенними агентами. На відміну від ефекту психостимуляторів і центральних аноректиків типу фепранону, сибутраміну й фенфлураміну, заснованого на пригніченні центру голоду та стимуляції центру насичення, механізм анорексигенної дії пептиду CART є набагато більш диверсифікованим і безпечним. Він включає підвищення термогенезу та енерговитрат за центральними механізмами, посилення формування моноамін- та холецистокінін-опосередкованого почуття насичення, редукування застою шлунково-кишкового тракту тощо. Зважаючи на непроникність пептиду CART через ГЕБ, ведеться пошук його коротколанцюгових гомологів, придатних для клінічного використання з метою корекції надлишкової маси тіла та булімії [90].

В оглядовій роботі [91] показано, що анорексигенний ефект пептиду CART пов'язаний з його антиадиктивними властивостями, оскільки реалізується в разі залучення допамінергічної мезолімбічної системи винагороди. Також у дослідях *in vivo* продемонстровано, що пептид CART у вигляді інтрацеребровентрикулярних мікроін'єкцій чинить антидепресантний і протитривожний ефекти за розладів, спричинених надмірним споживанням психоактивних речовин амфетамінового ряду та відміною вживання етанолу [92, 93]. Таким чином, перспективним є використання цього пептиду в наркології для удосконалення терапії залежності від психостимуляторів.

Оскільки в реалізації ефектів пептиду CART задіяні такі внутрішньоклітинні шляхи месенджингу, як *extracellular signal-related kinase* (ERK1/2), *cyclic AMP response element binding protein* (CREB) і MAPK, які опосередковують, зокрема, дію нейротрофінів, встановлено нейропротекторні властивості пептиду CART [89, 94]. На низці моделей глобальної та фокаль-

ної ішемії, гіпоксії, глутаматної ексайтотоксичності та глюкозно-кисневої депривації нейронів ГМ продемонстровано високу захисну активність його гомологів (CART₅₅₋₁₀₂, CART₄₂₋₈₉ і CART₄₉₋₈₉) [95–97]. Вивчаються можливості застосування пептиду CART для терапії шизофренії [96].

Серед регулювальних олігопептидів вищих тварин одне з чільних місць посідає БАС, у назві якої віддзеркалено домінуючу фармакологічну активність – нейропротекторну – **activity-dependent neuroprotective peptide** (NAP, *Asn-Ala-Pro-Val-Ser-Ile-Pro-Gln*). Наразі FDA розглядає можливість використання

пептиду NAP під торговою назвою Davunetide® як засобу для лікування нейрокогнітивного розладу, прогресуючого супрануклеарного паралічу, шизофренії та фронтотемпоральної деменції [98–103]. Спектр фармакологічної активності пептиду наведено в таблиці 3.

Виразні нейротропні властивості при таманні багатьом іншим НП, зокрема, **субстанції Р**, пептиду, що індукуює **дельта-сон (delta sleep-inducing peptide)**, **тафцину**, **нейротензину**, **глюкагоноподібному пептиду 1** (Glukagon-like peptide 1) тощо [104, 105]. Шляхом «деорфанізації» низки G-білок-пов'язаних

Таблиця 3

Основні фармакологічні властивості activity-dependent neuroprotective peptide за експериментальних умов

Дизайн дослідження	Результат
Експериментальна таупатія в мишей (модель фронто-темпоральної деменції), β-амілоїд-індукована модель хвороби Альцгеймера в мишей.	Редукція рівня гіперфосфорильованого тау-протеїну та нейрофібрилярних волокон, екстрацелюлярних β-амілоїдних агрегатів, покращання когнітивних функцій.
Модель ішемічного інсульту в щурів (необоротна оклюзія середньої мозкової артерії).	Зменшення проявів нейроапоптозу (цитохром С-індукованого, зниження рилізину проапоптотичної каспази-3).
Допамінова нейротоксичність, оксидативний стрес у substantia nigra, вичерпання пулу глутатіону, церебральна гіпер-альфасину-клеїнопатія (модель нейродегенерації за типом паркінсонізму).	Зменшення дискінезії в тесті покрокового подолання містка та рівня α-синуклеїну, резистентного до протеїнази К у s. nigra.
Модель шизофренії в мишей (трансгенні stable tubule-only polypeptide-дефіцитні тварини).	Зниження гіперактивності мишей у тесті відкритого поля та покращання візуальної пам'яті.
Модель епілепсії, зумовленої інтрацеребральним введенням каїнової кислоти.	Зниження числа судом та нейродегенерації у CA ₃ зоні dendate gyrus).
Нейротоксичність, зумовлена інтрацеребральним введенням іботенової кислоти (неселективний міметик NMDA-рецепторів).	Зменшення нейродеструкції в усіх шарах кори головного мозку, загибелі преолігодендроцитів (ефект повністю відмінюється інгібіторами кінази фосфатидилінозиту-3 та протеїнкінази В).
Модель мишачого фетального алкогольного синдрому.	Стимуляція закривання нервової трубки у плода, суттєве зменшення її дефектів.
Модель ретинальної ішемії.	Збільшення кількості ретинальних гангліонарних нейронів, що вижили.
Модель травматичної хвороби мозку в мишей	Підвищення виживаності тварин, зменшення набряку мозку, запальної реакції мозку (зокрема, зниження рилізину фактора некрозу пухлин α та mPNC рецепторів комплементу 3)

трансмембранних рецепторів встановлено вплив на поведінку, когнітивні та інші функції таких тканинних пептидів, як **холецистокінін, грелін, галанін, апелін** [5]. Новітні дані щодо пептидної регуляції ЦНС вказують на те, що пептидергічна система ГМ є високоінтегрованим комплексом, нейрони якого майже завжди експресують більше одного НП, тоді як кожен пептид виявляє плейотропний вплив на ЦНС. Шляхом модифікації структури багатьох ендогенних пептидів створено низку препаратів з оригінальним механізмом дії, 10–12 % яких впроваджено в практику терапії розладів нервової системи [106].

Висновок

Таким чином, нейропептиди – група важливих регулювальних біомолекул, що за фізіологічних умов та патології забезпечують функціонування центральної та периферичної нервової системи. Наразі виявлено високий терапевтичний потенціал низки нейроактивних пептидів, що є сприятливим фактором для удосконалення фармакотерапії захворювань нервової системи, зокрема, для розвитку наряду захисту нейрональної тканини від дії патологічних чинників (нейропротекції).

Порівняльний аналіз фармакологічних властивостей наявних та перспективних пептидергічних препаратів буде здійснено в другій частині огляду.

1. Фармацевтична енциклопедія / гол. ред. ради та автор передмови В. П. Черних. – 3-тє вид., перероб. і допов. – Київ : «МОРІОН», 2016. – 1952 с.
2. Бахарев В. Д. Пептиды-регуляторы (Молекулярная регуляция мозга) / В. Д. Бахарев. – Москва : Знание, 1985. – 64 с.
3. Schwarzer C. 30 years of dynorphins – New insights on their functions in neuropsychiatric diseases / C. Schwarzer // *Pharmacology and Therapeutics*. – 2009. – V. 123. – P. 353–3702.
4. Дубынина Е. В. Регуляция экспрессии нейротрофических факторов в гиппокампе крыс альфа-меланокортином и его аналогами: автореф. дисс. на соискание ученой степени канд. биол. наук: 03.00.13 физиология / Дубынина Е. В.; Институт молекулярной генетики РАН. – Москва, 2009. – 29 с.
5. Malavolta L. Peptides: Important Tools for the Treatment of Central Nervous System Disorders / L. Malavolta, F. R. Cabral // *Neuropeptides*. – 2011. – V. 45. – P. 309–316.
6. Encyclopedia of Molecular Pharmacology; ed. by S. Offermanns, W. Rosenthal. 2nd ed. – Berlin; Heidelberg; New York : Springer-Verlag, 2008. – 1505 p.
7. Enkephalin-Fentanyl Multifunctional Opioids as Potential Neuroprotectants for Ischemic Stroke Treatment / M. Islam, L. Yang, Y. S. Lee [et al.] // *Current Pharmaceutical Design*. – 2016. – V. 22, Iss. 42. – P. 6459–6468.
8. δ -Opioid Receptor Activation Rescues the Functional TrkB Receptor and Protects the Brain from Ischemia-Reperfusion Injury in the Rat / X. Tian [et al.] // *PloS One*. – 2013. – V. 8, Iss. 7. – P. e69252.
9. Borbély É. Neuropeptides in learning and memory / É. Borbély, B. Scheich, Z. Helyes / *Neuropeptides*. – 2013. – V. 47. – P. 439–450.
10. Kovacs S. Neuropeptides in epilepsy / S. Kovacs, M. C. Walker // *Neuropeptides*. – 2013. – V. 47, Iss. 6. – P. 467–475.
11. Cai Z. Opioid system and Alzheimer's disease / Z. Cai, A. Ratka // *Neuromolecular Medicine*. – 2012. – V. 14, № 2. – P. 91–111.
12. The Melanocortin System in Control of Inflammation / A. Catania [et al.] *The Scientific World Journal*. – 2010. – V. 10. – P. 1840–1853.
13. Melanocortins Protect Against Progression of Alzheimer's Disease in Tripletransgenic Mice by Targeting Multiple Pathophysiological Pathways / D. Giuliani [et al.] // *Neurobiology of Aging*. – 2014. – V. 35. – P. 537–547.
14. Treatment of Cerebral Ischemia with Melanocortins Acting at MC4 Receptors Induces Marked Neurogenesis and Long-lasting Functional Recovery / D. Giuliani [et al.] // *Acta Neuropathologica*. – 2011. – V. 122. – P. 443–453.
15. Вальдман А. В. Фармакология нейропептидов / А. В. Вальдман. – Москва : Наука, 1982. – 139 с.
16. Born J. ACTH and attention in humans: a review / J. Born, H. L. Fehm, K. H. Voight // *Neuropsychobiology*. – 1986. – V. 15, № 3–4. – P. 165–186.
17. Design and Biological Evaluation of Selective Melanocortin Drugs / K. McLeod [et al.] // *The FASEB Journal*. – 2015. – V. 29, № 1. – P. 728–742.
18. Multiple beneficial effects of melanocortin MC4 receptor agonists in experimental neurodegenerative disorders: Therapeutic perspectives / D. Giuliani [et al.] // *Progress in Neurobiology*. – 2017. – V. 148. – P. 40–56.
19. De Wied D. Long-term Effect of Vasopressin on the Maintenance of a Conditioned Avoidance Response in Rats / D. De Wied // *Nature*. – 1971. – V. 232. – P. 58–60.

20. De Wied D. The Influence of the Posterior and Intermediate Lobe of the Pituitary and Pituitary Peptides on the Maintenance of a Conditioned Avoidance in Rats / D. De Wied // International Journal of Neuropharmacology. – 1965. – V. 4. – P. 157–167.
21. Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology; ed. by Abel Lajtha, R. Lim. 3rd ed. – New York : Springer, 2006. – 681 p.
22. Oxytocin reduces anxiety via ERK1/2 activation: local effect within the rat hypothalamic paraventricular nucleus / A. Blume [et al.] // European Journal of Neuroscience. – 2008. – V. 27. – P. 1947–1956.
23. Oxytocin and a C-terminal derivative (Z-prolyl-D-leucine) attenuate tolerance to and dependence on morphine and interact with dopaminergic neurotransmission in the mouse brain / G. L. Kovács [et al.] // Neuropharmacology. – 1985. – V. 24, Iss. 5. – P. 413–419.
24. Intranasal oxytocin as an adjunct to risperidone in patients with schizophrenia : an 8-week, randomized, double-blind, placebo-controlled study / A. Modabbernia [et al.] // CNS Drugs. – 2013. – V. 27, № 1. – P. 57–65.
25. Neumann I. D. Balance of brain oxytocin and vasopressin: implications for anxiety, depression, and social behaviors / I. D. Neumann, R. Landgraf // Trends in Neurosciences. – 2012. – V. 35, № 11. – P. 649–659.
26. Slattery D. A. Oxytocin and Major Depressive Disorder: Experimental and Clinical Evidence for Links to Aetiology and Possible Treatment / D. A. Slattery, I. D. Neumann // Pharmaceuticals. – 2010. – V. 3. – P. 702–724.
27. Oxytocin and opioid addiction revisited: old drug, new applications / P. Zanos [et al.] // British Journal of Pharmacology. – 2018. – V. 175. – P. 2809–2824.
28. De Wied D. Behavioral Effects of Pituitary Peptides / D. De Wied // Acta Physiologica Polonica. – 1977. – V. 28, № 15. – P. 77–91.
29. Jennekens-Schinkel A. A Clinical Trial with Desglycinamide Arginine Vasopressin for the Treatment of Memory Disorders in Man / A. Jennekens-Schinkel, A. R. Wintzen, J. B. Lanser // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. – 1985. – V. 9. – P. 273–284.
30. DGAVP (Org 5667) in Early Alzheimer's Disease Patients: An International Double-blind, Placebo-controlled, Multicenter trial / E. C. Wolters [et al.] // Neurology. – 1990. – V. 40. – P. 1099–1101.
31. Heinrichs M. Oxytocin, Vasopressin and Human Social Behavior / M. Heinrichs, B. von Dawans, G. Domes // Frontiers in Neuroendocrinology. – 2009. – V. 30. – P. 548–557.
32. Sarnyai Z. Oxytocin in Learning and Addiction: From Early Discoveries to the Present / Z. Sarnyai, G. L. Kovács // Pharmacology, Biochemistry and Behavior. – 2014. – V. 119. – P. 3–9.
33. Grundwald N. J. Sex-dependent Effects of Prenatal Stress on Social Memory in Rats: A Role of Differential Expression of Central Vasopressin-1a Receptors / N. J. Grundwald, D. P. Benitez, P. J. Brunton // Journal of Neuroendocrinology. – 2015. – V. 28. – P. 141–155.
34. Vasopressin/oxytocin-related Peptides Influence Long-term Memory of a Passive Avoidance Task in the Cuttlefish, *Sepia Officinalis* / I. Bardou [et al.] // Neurobiology of Learning and Memory. – 2010. – V. 93. – P. 240–247.
35. Verbal Memory after Three Month of Intranasal Vasopressin in Healthy Old Humans / B. Perras [et al.] // Psychoneuroendocrinology. – 1997. – V. 22. – P. 387–396.
36. Effects of Intranasal Oxytocin on Long-Term Memory in Healthy Humans: A Systematic Review / M. Brambilla [et al.] // Drug Development Research. – 2016. – V. 77, № 8. – P. 479–488.
37. Белоскокова С. Г. Агонист V₂-рецепторов вазопрессина редуцирует депрессивные расстройства у постинсультных больных / С. Г. Белоскокова, И. И. Степанов, С. Г. Цикунов // Вестник РАМН. – 2012. – № 4. – С. 40–44.
38. Белоскокова С. Г. Нейропептид вазопрессин и процессы памяти / С. Г. Белоскокова, С. Г. Цикунов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2014. – Т. 12, № 3. – С. 3–12.
39. Одес Л. Н. Влияние вазопрессина на состояние двигательной функции после органических повреждений мозга : автореф. дисс. на соискание ученой степени канд. мед. наук : 14.00.17 / Одес Л. Н.; НИИ эксперимент. мед. РАМН. – Санкт-Петербург, 1996. – 19 с.: ил. РГБ ОД, 9 97-3/7-5.
40. Neuropeptide Therapies in Chronic Schizophrenia: TRH and Vasopressin Administration / F. Brambilla [et al.] // Neuropsychobiology. – 1986. – V. 15. – P. 114–121.
41. Intranasal desmopressin as an adjunct to risperidone for negative symptoms of schizophrenia: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial / S.M.R. Hosseini [et al.] // European Neuropsychopharmacology. – 2014. – V. 24. – P. 846–855.
42. Jenkins J. S. Effect of desmopressin on normal and impaired memory / J. S. Jenkins, H. M. Mather, A. K. Coughlan // Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry. – 1982. – V. 45. – P. 830–831.
43. Hypothalamic Vasopressin and Oxytocin mRNA Expression in Relation to Depressive State in Alzheimer's Disease: A Difference with Major Depressive Disorder / G. Meynen [et al.] // Journal of Neuroendocrinology. – 2009. – V. 21. – P. 722–729.
44. Role of the Vasopressin 1b Receptor in Rodent Aggressive Behavior and Synaptic Plasticity in Hippocampal Area CA2 / J. H. Pagani [et al.] // Molecular Psychiatry. – 2015. – V. 20, Iss. 4. – P. 490–499.

45. Bath K. G. Neurotrophic Factor Control of Adult SVZ Neurogenesis / K. G. Bath, F. S. Lee // *Developmental Neurobiology*. – 2010. – V. 70, Iss. 5. – P. 339–349.
46. Increase in Alzheimer's Related Markers Precedes Memory Disturbances: Studies in Vasopressin-deficient Brattleboro Rat / J. Varga [et al.] // *Brain Research Bulletin*. – 2014. – V. 100. – P. 6–13.
47. Белоскокова С. Г. Влияние аналога V2 рецепторов вазопрессина, 1-дезамино-8-D-аргинин-вазопрессина, на нарушения чувствительности у больных с инсультами / С. Г. Белоскокова, И. А. Еналдиева, С. Г. Цикунов // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. – 2015. – Т. 13, № 1. – С. 62–68.
48. Grund T. Brain neuropeptide S: via GPR55 activation to a powerful neuromodulator of socio-emotional behaviors / T. Grund, I. D. Neumann // *Cell and Tissue Research*. – 2018. – Aug. 15.
49. Chemistry and Biology of Thyrotropin-Releasing Hormone (TRH) and its Analogs / V. Monga [et al.] // *Current Medicinal Chemistry*. – 2008. – V. 15. – P. 2718–2733.
50. Prokai L. Central Nervous System Effects of Thyrotropin-releasing Hormone and its Analogues: Opportunities and Perspectives for Drug Discovery and Development / L. Prokai // *Progress in Drug Research*. – 2002. – V. 59. – P. 134–169.
51. Thyrotropin-releasing Hormone (TRH) in the Neuroaxis: Therapeutic Effects Reflect Physiological Functions and Molecular Actions / G. G. Yarbrough [et al.] // *Medical Hypotheses*. – 2007. – V. 69. – P. 1249–1256.
52. Jantas D. Therapeutic Potential of Thyreoliberin (TRH) and its Analogues as Antiepileptic and Neuroprotective Drugs / D. Jantas // *Przegląd Lekarski*. – 2010. – V. 67, Iss. 11. – P. 1179–1185.
53. The role of Thyrotropin Releasing Hormone in Aging and Neurodegenerative Diseases / C. M. Daimon [et al.] // *American Journal of Alzheimer's Disease*. – 2013. – V. 1, Iss. 1. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3817016/> (Date of access: 10.09.2017).
54. Fu A. L. Thyroid Hormone Prevents Cognitive Deficit in a Mouse Model of Alzheimer's Disease / A. L. Fu, C. Y. Zhou, X. Chen // *Neuropharmacology*. – 2010. – V. 58. – P. 722–729.
55. Neuroendocrine and Autonomous Mechanisms Underlying Thermoregulation in Cold Environment / S. Arancibia [et al.] // *Neuroendocrinology*. – 1996. – V. 64. – P. 257–267.
56. Joseph-Bravo P. Advances in TRH signaling / P. Joseph-Bravo, L. Jaimes-Hoy, J. L. Charli // *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*. – 2016. – V. 17, Iss. 4. – P. 545–588.
57. Discovery of a Dual Action First-in-class Peptide that Mimics and Enhances CNS-mediated Actions of Thyrotropin-releasing Hormone / G. A. Scalabrino [et al.] // *Neuropharmacology*. – 2007. – V. 52. – P. 1472–1481.
58. Tuboli G. Somatostatin and Cognitive Function in Neurodegenerative Disorders / G. Tuboli, L. Vécsei // *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. – 2013. – V. 13. – P. 34–46.
59. Somatostatin Signaling in Neuronal Cilia is Critical for Object Recognition Memory / E. B. Einstein [et al.] // *Journal of Neuroscience*. – 2010. – V. 30, Iss. 12. – P. 4306–4314.
60. Somatostatin-28 Modulates Prepulse Inhibition of the Acoustic Startle Response, Reward Processes and Spontaneous Locomotor Activity in Rats / S. Semenova [et al.] // *Neuropeptides*. – 2010. – V. 44, Iss. 5. – P. 421–429.
61. Combination of a Novel Antidementia Drug FK960 with Donepezil Synergistically Improves Memory Deficits in Rats / K. Tokita [et al.] // *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. – 2002. – V. 73, Iss. 3. – P. 511–519.
62. FK962, a Novel Enhancer of Somatostatin Release, Exerts Cognitive-enhancing Actions in Rats / K. Tokita [et al.] // *European Journal of Pharmacology*. – 2005. – V. 527, Iss. 1–3. – P. 111–120.
63. Somatostatin Prevents Lipopolysaccharide-induced Neurodegeneration in the Rat Substantia Nigra by Inhibiting the Activation of Microglia / L. Bai [et al.] // *Molecular Medicine Reports*. – 2015. – V. 12, Iss. 1. – P. 1002–1008.
64. Kumar U. Expression of Somatostatin Receptor Subtypes (SSTR1-5) in Alzheimer's Disease Brain: An Immunohistochemical Analysis / U. Kumar // *Neuroscience*. – 2005. – V. 134, Iss. 2. – P. 525–538.
65. Striatal Alterations of Secretogranin-1, Somatostatin, Prodynorphin, and Cholecystokinin Peptides in an Experimental Mouse Model of Parkinson Disease / A. Nilsson [et al.] // *Molecular and Cellular Proteomics*. – 2009. – V. 8, Iss. 5. – P. 1094–1104.
66. Effect of L-pGlu-(1-benzyl)-l-His-l-Pro-NH₂ Against in-vitro and in-vivo Models of Cerebral Ischemia and Associated Neurological Disorders / S. K. Rajput [et al.] // *Biomedicine and Pharmacotherapy*. – 2016. – V. 84. – P. 1256–1265.
67. Stumm R. Somatostatin Receptor sst2 Reduces Akt Activity and Aggravates Hypoxic/ischemic Death in Cerebral Cortical Neurons / R. Stumm // *Neuropharmacology*. – 2014. – V. 77. – P. 249–256.
68. VIP and PACAP: Recent Insights into their Functions/Roles in Physiology and Disease from Molecular and Genetic Studies / T. W. Moody [et al.] // *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*. – 2011. – V. 18, Iss. 1. – P. 61–67.
69. Morell M. VIP in Neurological Diseases: More than a Neuropeptide / M. Morell, L. Souza-Moreira, E. González-Rey // *Endocrine Metabolic and Immune Disorders – Drug Targets*. – 2012. – V. 12, Iss. 4. – P. 323–332.
70. Waschek J. A. VIP and PACAP: Neuropeptide Modulators of CNS Inflammation, Injury, and Repair / J. A. Waschek // *British Journal of Pharmacology*. – 2013. – V. 169, Iss. 3. – P. 512–523.

71. Lee E. H. Neuroprotective Roles of Pituitary Adenylate Cyclase-activating Polypeptide in Neurodegenerative Diseases / E. H. Lee, S. R. Seo // *BMB Reports*. – 2014. – V. 47, Iss. 7. – P. 369–375.
72. Pituitary Adenylate Cyclase-activating Polypeptide Inhibits Caspase-3 Activity but does not Protect Cerebellar Granule Neurons Against β -amyloid (25–35)-induced Apoptosis / D. Vaudry [et al.] // *Regulatory Peptides*. – 2004. – V. 123. – P. 43–49.
73. Vasoactive intestinal peptide family as a therapeutic target for Parkinson's disease / E. Gonzalez-Rey [et al.] // *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. – 2005. – V. 9, Iss. 5. – P. 923–929.
74. Preparation and Evaluation of Antioxidant Peptides from Ethanol-soluble Proteins Hydrolysate of Sphyrna Lewini Muscle / B. Wang [et al.] // *Peptides*. – 2012. – V. 36, Iss. 2. – P. 240–250.
75. *Brenneman D. E.* Neuroprotection: A Comparative View of Vasoactive Intestinal Peptide and Pituitary Adenylate Cyclase-activating Polypeptide / D. E. Brenneman // *Peptides*. – 2007. – V. 28, Iss. 9. – P. 1720–1726.
76. *Neuropeptide Y and Related Peptides*; ed. by M. C. Michel. – Amsterdam : Springer, 2004. – P. 9–20.
77. The Role of Hypothalamic Neuropeptides in Neurogenesis and Neuritogenesis / J. Bakos [et al.] // *Neural Plasticity*. – 2016. – V. 2016. – Article ID 32766383.
78. Cellular Targets for Neuropeptide Y-mediated Control of Adult Neurogenesis / M. C. Geloso [et al.] // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. – 2015. – V. 9. – Article 85.
79. *Zaben M. J.* Neuropeptides and hippocampal neurogenesis / M. J. Zaben, W. P. Grey // *Neuropeptides*. – 2013. – V. 47. – P. 431–438.
80. *Sabban E. L.* Potential of Neuropeptide Y for Preventing or Treating Post-traumatic Stress Disorder / E. L. Sabban, L. G. Alaluf, L. I. Serova // *Neuropeptides*. – 2016. – V. 56. – P. 19–24.
81. Single Intranasal Neuropeptide Y Infusion Attenuates Development of PTSD-like Symptoms to Traumatic Stress in Rats / L. I. Serova, A. Tillinger, L. G. Alaluf [et al.] // *Neuroscience*. – 2013. – V. 236. – P. 298–312.
82. *Sah R.* Neuropeptide Y and Posttraumatic Stress Disorder / R. Sah, T. D. Geraciotti // *Molecular Psychiatry*. – 2013. – V. 18, Iss. 6. – P. 646–655.
83. Intranasal Neuropeptide Y Reverses Anxiety and Depressive-like Behavior Impaired by Single Prolonged Stress PTSD Model / L. I. Serova, M. Laukova, L. G. Alaluf [et al.] // *European Neuropsychopharmacology*. – 2014. – V. 24, Iss. 1. – P. 142–147.
84. Neuroprotection by Neuropeptide Y in Cell and Animal Models of Parkinson's Disease / M. Decressac, S. Pain, P. Y. Chabeauti [et al.] // *Neurobiology of Aging*. – 2012. – V. 33, Iss. 9. – P. 2125–2137.
85. Neuropeptide Y (NPY) Prevents Depressive-like Behavior, Spatial Memory Deficits and Oxidative Stress Following Amyloid- β ($A\beta$ (1–40)) Administration in Mice / V. V. Santos, D. B. Santos, G. Lach [et al.] // *Behavioural Brain Research*. – 2013. – V. 244. – P. 107–115.
86. *Angelucci F.* The Effect of Neuropeptide Y on Cell Survival and Neurotrophin Expression in In-vitro Models of Alzheimer's Disease / F. Angelucci, F. Gelfo, M. Fiore // *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. – 2014. – V. 92, Iss. 8. – P. 621–630.
87. *Perrey D. A.* Therapeutic development for addiction: Orexin-1 receptor antagonists / D. A. Perrey, Y. Zhang // *Brain Research*. – 2018. – прийнято до друку. Режим доступу: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006899318304475?via%3Dihub>.
88. *Douglass J.* PCR differential display identifies a rat brain mRNA that is transcriptionally regulated by cocaine and amphetamine / J. Douglass, A. A. McKinzie, P. Couceyro // *Journal of Neurosciences*. – 1995. – V. 15. – P. 2471–2481.
89. CART protects brain from damage through ERK activation in ischemic stroke / J. Jia [et al.] // *Neuropeptides*. – 2009. – V. 42. – P. 653–661.
90. CART in feeding and obesity / R. Hunter [et al.] // *Trends in Endocrinology and Metabolism*. – 2004. – V. 15, 9. – P. 454–459.
91. *Vicentic A.* The CART (cocaine- and amphetamine-regulated transcript) system in appetite and drug addiction / A. Vicentic, D. C. Jones // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2007. – V. 320, № 2. – P. 499–506.
92. Cocaine- and Amphetamine-Regulated Transcript (CART) Peptide Plays Critical Role in Psychostimulant-Induced Depression / Q. Meng [et al.] // *Biomolecules and Therapeutics*. – 2018. – V. 26, № 5. – P. 425–431.
93. *Yoon H. S.* Microinjection of cocaine- and amphetamine-regulated transcript 55–102 peptide into the nucleus accumbens could modulate anxiety-related behavior in rats / H. S. Yoon, N. Adachi, H. Kunugi // *Neuropeptides*. – 2014. – V. 48. – P. 319–325.
94. CART attenuates endoplasmic reticulum stress response induced by cerebral ischemia and reperfusion through upregulation BDNF synthesis and secretion / B. Qiu [et al.] // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2013. – V. 436. – P. 655–659.
95. Neuroprotective effect of cocaine- and amphetamine-regulated transcript peptide in spinal cord injury in mice / A. P. Bharné [et al.] // *Neuropharmacology*. – 2013. – V. 67. – P. 126–135.
96. *Hunter R. G.* CART peptides as targets for CNS drug development / R. G. Hunter, M. J. Kuhar // *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord*. – 2003. – V. 2, 3. – P. 201–205.
97. Cocaine- and amphetamine-regulated transcript peptide increases mitochondrial respiratory chain complex II activity and protects against oxygen-glucose deprivation in neurons / D. Sha [et al.] // *Brain Research*. – 2014. – V. 1582. – P. 107–113.

98. Gozes I. NAP (Davunetide) Provides Functional and Structural Neuroprotection / I. Gozes // *Current Pharmaceutical Design*. – 2011. – V. 17. – P. 1040–1044.
99. Zemlyak I. NAP protects against cytochrome c release: Inhibition of the initiation of apoptosis / I. Zemlyak, R. Sapolsky, I. Gozes // *European Journal of Pharmacology*. – 2009. – V. 618. – P. 9–14.
100. NAP (davunetide) enhances cognitive behavior in the STOP heterozygous mouse-A microtubule-deficient model of schizophrenia / A. Merenlender-Wagner [et al.] // *Peptides*. – 2010. – V. 31. – P. 1368–1373.
101. The neuropeptide NAP provides neuroprotection against retinal ganglion cell damage after retinal ischemia and optic nerve crush / T. Jehle [et al.] // *Graefes Arch ClinExpOphthalmol*. – 2008. – V. 246 (9). – P. 1255–63.
102. Neuroprotective effects of NAP against excitotoxic brain damage in the newborn mice: implications for cerebral palsy / P. Sokolowska [et al.] // *Neuroscience*. – 2011. – V. 173. – P. 156–68.
103. A single administration of the peptide NAP induces long-term protective changes against the consequences of head injury: gene Atlas array analysis / J. Romano [et al.] // *J Mol. Neurosci*. – 2002. – V. 18. – P. 37–45.
104. Хавинсон В. Х. Регуляторные пептиды и гомеостаз / В. Х. Хавинсон, Т. В. Кветная // *Российский химический журнал*. – 2005. – Т. XLIX, № 1. – С. 112–117.
105. Herzig K. Regulatory Peptides – Past, Present and Future / K. Herzig // *Regulatory Peptides*. – 2014. – V. 188. – P. iv.
106. Kaspar A. A. Future Directions for Peptide Therapeutics Development / A. A. Kaspar, J. M. Reichert // *Drug Discovery Today*. – 2013. – V. 18, Iss. 17–18. – P. 807–817.

Р. Д. Дейко, С. Ю. Штриголь

Нейропептиды та їхнє місце в лікуванні захворювань нервової системи (частина I)

Огляд (частина 1) репрезентує основні віхи фармакологічного вивчення нейропептидів – системи регулювальних біомолекул нервової системи. Висвітлено основні фізіологічні функції низки ендогенних біологічно активних сполук пептидної природи. Наведено головні відомі сьогодні види їхньої фармакологічної активності, виявлені за експериментальних і клінічних досліджень. Висвітлено нейротропні властивості, не пов'язані зі знеболювальною активністю, одних з перших встановлених регулювальних пептидів головного мозку – опіоїдів. Розглянуто основні фізіологічні функції та фармакологічні властивості таких пептидних гормонів, як адренокортикотропін, альфа-меланоцитостимулювальний гормон, окситоцин, вазопресин, соматостатин, тиролиберин. На прикладі оригінальних експериментальних і клінічних досліджень продемонстровано їхню участь у реалізації вищої нервової діяльності людини, а також можливість використання як терапевтичних агентів для корекції розладів пам'яті різноманітного генезу, відновлення нейрональної тканини після дії патологічних чинників, удосконалення фармакотерапії судомних станів тощо. Значну увагу приділено висвітленню фармакологічних властивостей низки ендогенних пептидергічних агентів: вазоактивного інтестинального пептиду; пептиду, що активує аденілатциклазу гіпофіза; субстанції Y; пептидів сімейства орексинів; білка, транскрипція якого регулюється кокаїном і амфетаміном; activity-dependent neuroprotective peptide.

Огляд служить меті привернення уваги наукової спільноти до тематики використання потенціалу нейропептидів для удосконалення фармакотерапії різноманітних патологічних станів.

Частина 2 огляду буде присвячено порівняльному аналізу фармакологічних властивостей наявних і перспективних пептидергічних препаратів.

Ключові слова: нейропептиди, нервова система, патологія, лікування

Р. Д. Дейко, С. Ю. Штриголь

Нейропептиды и их место в лечении заболеваний нервной системы (часть I)

В обзоре (часть 1) рассмотрены основные вехи фармакологического изучения нейропептидов – системы регуляторных биомолекул нервной системы. Освещены основные физиологические функции ряда эндогенных биологически активных соединений пептидной природы. Приведены основные известные на сегодня виды их фармакологической активности, выявленные в ходе экспериментальных и клинических исследований. Освещены нейротропные свойства, не связанные с обезболивающей активностью, одних из первых установленных регуляторных пептидов головного мозга – опиоидов. Рассмотрены основные физиологические функции и фармакологические свойства таких пептидных гормонов, как адренокортикотропин, альфа-меланоцитстимулирующий гормон, окситоцин, вазопрессин, соматостатин, тиролиберин. На примере оригинальных экспериментальных и клинических исследований продемонстрировано их участие в реализации высшей нервной деятельности человека, а также возможность использования в качестве терапевтических агентов для коррекции расстройств памяти различного происхождения, восстановления нейрональной ткани после воздействия патологических факторов, усовершенствования фармакотерапии судорожных состояний и т. д. Освещены фармакологические свойства ряда эндогенных пептидергических агентов: вазоактивного интестинального пептида; пептида, активирующего аденилатциклазу;

клазу гіпофіза; субстанції Y; пептидов сімейства орексинов; белка, транскрипція якого регулюється кокаїном і амфетаміном; activity-dependent neuroprotective peptide.

Обзор служит цели привлечения внимания научного сообщества к тематике использования потенциала нейропептидов для усовершенствования фармакотерапии различных патологических состояний.

Часть 2 обзора будет посвящена сравнительному анализу фармакологических свойств имеющихся и перспективных пептидергических препаратов.

Ключевые слова: нейропептиды, нервная система, патология, лечение

R. D. Deiko, S. Yu. Shtrygol'

Neuropeptides and their role in the therapy of nervous system disorders (part I)

The review (1st part) represents the main milestones of the pharmacological study of neuropeptides – the system of regulatory biomolecules of the nervous system. The basic physiological functions of a number of endogenous biologically active compounds of peptide nature are described. The main known for today types of their pharmacological activity, revealed in the course of experimental and clinical studies, are given. The neurotropic properties that are not associated with the analgesic activity, one of the first established regulatory peptides of the brain – opioids, are contemplated. The main physiological functions and pharmacological properties of such peptide hormones as adrenocorticotropin, alpha-melanocyte stimulating hormone, oxytocin, vasopressin, somatostatin, thyroliberin are considered. Using the original experimental and clinical studies, their participation in the implementation of high mental functions of humans was demonstrated, as well as the possibility of being used as therapeutic agents for correcting memory disorders of various origins, restoring neuronal tissue after exposure to pathological factors, improving pharmacotherapy of convulsive states etc. The pharmacological properties of a number of endogenous peptidergic agents are highlighted: vasoactive intestinal peptide; pituitary adenylate cyclase activating peptide; substance Y; orexin peptide family; cocaine and amphetamine regulated transcription peptide; and, finally, activity-dependent neuroprotective peptide.

The review serves to attract the attention of the scientific community to the subject of using the potential of neuropeptides to improve the pharmacotherapy of various pathological conditions.

The 2nd part of the review will be devoted to a comparative analysis of the pharmacological properties of existing and promising peptidergic drugs.

Key words: neuropeptides, nervous system, pathology, therapy

Надійшла: 15 вересня 2018 р.

Контактна особа: Дейко Роман Данилович, кандидат фармацевтичних наук, асистент, кафедра фармакології, Національний фармацевтичний університет, буд. 53, вул. Пушкінська, м. Харків, 61002. Тел.: +38 099 962 13 83. Електронна пошта: roman.deyko@gmail.com

Н. Г. Степанюк

Лікарські засоби як модулятори апоптозу в лікуванні серцево-судинної патології

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Ключові слова: апоптоз, фармакологічна модуляція, серцево-судинні захворювання

Про факт фізіологічної смерті клітин було відомо з часу відкриття самої клітини. Ще в 1665 році Р. Нокке [1] описав формування кори дуба з загиблих клітин. Однак довгий час це спостереження залишалося без уваги дослідників. Уперше гістологічні зміни, що відбуваються в клітині в разі її загибелі, описав та опублікував у 1842 році С. Vogt [2]. У 1965 році, працюючи з комахами, Lockshin та співавт. [3] виявили скоординовану (одночасну) загибель цілого шару клітин. Це явище він назвав «запрограмованою смертю клітин» і показав, що цей процес енергозалежний і потребує транскрипції генів. Трохи пізніше J. F. Kerr та співавт. [4] спостерігали подібні морфологічні зміни в разі загибелі клітин тваринного походження, але цього разу такі зміни відбувались у кожній клітині окремо. Для описання даного процесу вони використали термін «апоптоз».

Апоптоз (А) – фізіологічний процес елімінації надлишкових та/або функціонально аномальних клітин, який необхідний для підтримки тканинного гомеостазу організму. Одним з найважливіших механізмів ініціювання програми А є активація внутрішньоклітинними регуляторними сигналами спеціального гена «клітинного самогубства» р53, який експресує відповідний білок р53, що протидіє реплікації ушкоджених генів за рахунок блокування переходу клітини від фази G1 у фазу S. За своїм впливом на клітинний поділ ген р53 відносять до антионкогенів, тобто супресорів пухлинного росту, що пригнічують мітотичну активність клітини. Експресія цього гена є помір-

ною за нормальних умов і різко посилюється за пошкодження ДНК, блокуючи наступ мітозу, й це дозволяє називати ген р53 «охоронцем» клітинного геному [5].

Головна біологічна роль А полягає в регуляції кількісного та якісного складу клітинних популяцій в організмі. На молекулярному рівні процес апоптотичної смерті є складним каскадом реакцій, пов'язаних з експресією генів і білків, асоційованих з А, кінцевим результатом цього процесу є порушення цілісної структури клітини з утворенням апоптотичних тілець без розвитку запального процесу [6]. А є фізіологічним і метаболічно активним процесом «клітинного самогубства» [7].

На відміну від А некроз клітини супроводжується її вакуолізацією, набуханням, лізисом мембран і виходом внутрішньоклітинного вмісту в міжклітинний простір з посиленням синтезу прозапальних медіаторів і цитокінів та розвитком запального процесу, що призводить до більш грубого пошкодження тканинних структур [5]. Крім того, некроз – це процес пасивної загибелі клітини у відповідь на зовнішні пошкоджуючі та патогенні фактори [7].

Таким чином, як показують дослідження, проблема взаємовідносин між А і некрозом має велике теоретичне та практичне значення для розуміння клітинних і молекулярних механізмів смерті та/або реституції тканинних елементів за ішемічного пошкодження органів [7].

Мета дослідження – визначити роль і місце окремих лікарських засобів (ЛЗ) у модуляції А за лікування серцево-судинної патології як можливого шляху оптимізації її фармакотерапії (ФТ) на основі доступних релевантних інформаційних потоків.

Матеріали та методи. Матеріалом дослідження були інформаційні джерела з питань модуляції А кардіоміоцитів лікарськими засобами з використанням баз Medline, Medscape, GoogleScholar. Використано методи системного підходу, бібліографічний, аналітичний.

Результати та їх обговорення. Апопто-модулятори – це лікарські засоби, дія яких скерована, головним чином, на активацію або інгібування процесу фізіологічної смерті клітини. Це дає можливість більш цілеспрямовано вивчати механізми й умови їхньої дії, а також розробляти більш раціональні схеми ФТ [8].

Нещодавно було встановлено, що А відіграє критичну роль за деяких серцево-судинних захворювань (ССЗ). Довгий час вважали, що такі високодиференційовані клітини, як кардіоміоцити не гинуть у результаті А. Лише останніми роками в експериментальних роботах було показано, що кардіоміоцити зазнають А під впливом ішемії, імунозапалення та токсичних факторів. У роботі Т. В. Ачеулової (2016 р.) [9] було показано, що точність діагностики артеріальної гіпертензії (АГ) підвищується в разі аналізу плазматичних біомаркерів імунозапалення та А у взаємозв'язку з параметрами периферичної та центральної кардіогемодинаміки, що дозволяє обрати адекватну комбінацію антигіпертензивних ЛЗ. Було обґрунтовано доцільність визначення плазматичного рівня С-реактивного білка (СРБ), фактора некрозу пухлин α (ФНП α), розчинних рецепторів до ФНП- α 1 типу (рФНП-Р1) з розрахунком показника співвідношення ФНП- α /рФНП-Р1 і sFasL (Fibroblast associated), які відображають ступінь імунозапальної та апоптотичної активації кардіоміоцитів та є прогностичними маркерами перебігу АГ. Встановлення значення імунозапальної відповіді у взаємозв'язку з А у патогенезі АГ дало змогу запропонувати нові підходи до диференційованої патогенетичної антигіпертензивної ФТ. На підставі цього було доведено доцільність й ефективність призначення комбінації антагоністів рецепторів ангіотензину II (АРА II) (кандесартану, цилексетилу) та антаго-

ністів кальцію (АК) (лацидипіну) у хворих на АГ з підвищеним плазматичним рівнем СРБ, ФНП- α , показником ФНП- α /рФНП-Р1, sFasL і наявністю гіпертрофії міокарда лівого шлуночка (ЛШ). Встановлено, що така комбінація ЛЗ має не лише достатню антигіпертензивну, але й виразну антиімунно-запальну та антиапоптотичну дію [9].

Втрата кардіоміоцитів у результаті А представляється важливим фактором, який призводить до ремоделювання міокарда у відповідь на гемодинамічне навантаження. Вивчення серцево-судинного ремоделювання було започатковано ще в експериментальних умовах. У подальшому аналіз кардіального ремоделювання в популяції гіпертензивних пацієнтів середнього віку з відсутніми клінічними ознаками серцевої дисфункції та ішемічної кардіоміопатії показав, що збільшення розмірів кардіоміоцитів супроводжується зменшенням їхньої кількості та утворенням численних ділянок фіброзу. Ці дані разом з експериментальними спостереженнями призвели до появи гіпотези про те, що втрата кардіоміоцитів, яка була визначена в гіпертрофованому ЛШ хворих на АГ, можливо зумовлена саме А [10, 11]. У подальшому в клінічних умовах було з'ясовано можливості попередження та корекції прогресуючого ремоделювання судинного ендотелію та міокарда завдяки ЛЗ, які впливають на перебіг цих процесів. Так, було встановлено, що низка ЛЗ може попередити та зменшити ступінь ремоделювання судин і міокарда – це в найбільшій мірі стосується іАПФ. Результати клінічних досліджень показали, що іАПФ зменшують товщину стінки ЛШ і розміри передсердя, а також покращують функцію міокарда після перенесеного інфаркта міокарда (ІМ). Вони збільшують фракцію викиду ЛШ та знижують смертність пацієнтів. Жиророзчинні іАПФ, зокрема, периндоприл, мають подвійну дію. Цей засіб блокує перетворення ангіотензину I на ангіотензин II і попереджує деградацію брадикініну. Периндоприл добре проникає в тканини та клітини (ендотеліоцити, гладеньком'язові клітини) і забезпечує 24-год контроль артеріального

тиску (АТ). Він унікально впливає на ендотелій, зменшує його дисфункцію та попереджує А, підвищує продукцію ендотелій-релаксуючого фактора та покращує його фібринолітичну активність. Маючи антисклеротичну, антигіпертензивну, васкуло- та кардіопротекторну дію, периндоприл позитивно відрізняється від інших іАПФ, впливаючи на весь ланцюг серцево-судинного континууму [12].

Упродовж тривалого часу ІМ характеризувався загибеллю клітин у результаті некрозу, але сьогодні зростає кількість доказів того, що втрата кардіоміоцитів під час гострої стадії ІМ обумовлена як неапоптичною, так і апоптичною клітинною смертю [10, 11]. Як ішемія, так і ФНП- α , який секретується під час ішемії, викликають і А, і некроз тканин міокарда. Реперфузія ішемічного міокарда може сама бути причиною ушкодження. Вважають, що феномен «реперфузійного ушкодження» зумовлений викидом низки медіаторів, серед яких такі прозапальні цитокіни, як деякі інтерлейкіни та ФНП- α . У зв'язку з цим було проведено кілька досліджень, присвячених вивченню взаємозв'язків між ФНП- α , гіпоксією-реоксигенацією та А. Ці спостереження показали, що гіпоксія викликає часо-залежний А, а реоксигенація та ФНП- α є важливими додатковими медіаторами суїцидальної програми. Реоксигенація збільшує А, викликаний ішемією; ФНП- α сам є тригером А та, більш того, посилює А, викликаний гіпоксією-реоксигенацією [13].

Останнім часом досить активно вивчається роль А в розвитку й прогресуванні постінфарктної міокардіальної дисфункції. Робоча гіпотеза його ролі у виникненні серцевої недостатності пояснює певним чином прогресуючу дисфункцію ЛШ, як результат незворотної втрати кардіоміоцитів внаслідок їхньої запрограмованої смерті [10]. У низці досліджень продемонстровано можливість активації процесів А після ушкодження міокарда внаслідок ішемії, реперфузії та некрозу [11]. А відіграє роль важливого регулятора в адаптивній відповіді на перевантаження тиском і є пусковим чинником розви-

тку гіпертрофії. Іншими добре відомими тригерами активації А є цитокіни (насамперед ФНП- α та інтерлейкіни), оксидативний стрес та ушкодження мітохондрій [14, 15].

Іншою вірогідною причиною розвитку А кардіоміоцитів є підвищення внутрішньоклітинної концентрації іонів кальцію. Зокрема, натеper доведена важливість іонів кальцію в патогенезі ССЗ, а також фонових станів, що сприяють прогресуванню ішемічної хвороби серця (ІХС) й АГ, погіршуючи їх перебіг та прогноз [16]. Феномен кальцифікації артерій, що незмінно супроводжує прогресування атеросклерозу та виявляється різними візуалізуючими та морфологічними методами, є підтвердженням важливості розладів метаболізму кальцію в організмі людини [17]. Поряд з тим існують переконливі дані щодо безпосереднього впливу іонів кальцію на різні ланки А клітин серцево-судинної системи. Окрім цього, доведено, що на інтенсивність процесів А клітин впливає безліч інших ендогенних фізіологічних факторів, а саме: оксид азоту, активні форми кисню, концентрація іонів Mg^{2+} й аденілових нуклеотидів (АДФ, АТФ), а також ліпіди [18]. Встановлено, що підвищення концентрації іонів кальцію в цитозолі клітин індукуює відкриття пор і сприяє запуску процесів А. Тісний зв'язок між іонами кальцію та процесами А клітин дає підстави вважати його важливим маркером та ініціатором цього процесу [19].

Серцева недостатність (СН) є маніфестацією погіршення перебігу ССЗ і характеризується втратою контрактильних елементів міокарда та/або перевантаженням об'ємом або тиском. Однією з основних причин розвитку СН є АГ. Гіпертрофія лівого шлуночка (ГЛШ) компенсує перевантаження тиском, тому серцева функція залишається збереженою. Однак у подальшому ця адаптивна гіпертрофія супроводжується структурними модифікаціями в серцевому м'язі, до складу яких входять порушення експресії генів, недостатня васкуляризація, фіброз і втрата кардіоміоцитів. Таким чином, компенсаторна відповідь неминуче сприяє переходу до

СН та прогресуванню контрактильної дисфункції серцевого м'яза. Існує припущення про те, що втрата функціонуючих клітин, яка спостерігається при переході від компенсаторної гіпертрофії до СН, обумовлена саме А кардіоміоцитів [20].

У цьому ракурсі досить перспективними виявились дослідження карведилолу – β -блокатора нового покоління з виразною антиоксидантною та помірно судинорозширюючою активністю. У проведених клінічних дослідженнях вказаний ЛЗ показав значне зниження рівня смерності хворих на СН. Було встановлено, що в основі механізму антиапоптичної дії препарату лежить інгібування експресії в кардіоміоцитах рецептора Fas [21].

Т. Л. Yue та співавт. (1999 р.) перспективнішими серед кардіоцитопротекторів вважають ЛЗ метаболічної терапії: антагоністи кальцію, які обмежують вхід іонів кальцію в клітини міокарда; β -блокатори, які зменшують дефіцит кисню в м'язі серця; стабілізатори мембран, що обмежують розпад фосфоліпідів і жирних кислот тощо. Разом з тим, дослідники дійшли висновку, що в подальшому особлива увага буде надаватися створенню нових ЛЗ, здатних впливати на метаболічні процеси, які відповідають за формування переходу від ішемії до А кардіоміоцитів [22].

Результати досліджень на моделях ішемії-реперфузії з метою виявлення можливого впливу ЛЗ на ті чи інші патофізіологічні ланки цього процесу показали, що з цією роллю досить добре справляється вітчизняний препарат кверцетин. Сьогодні багато уваги приділяється здатності цього біофлавоноїду інгібувати процеси А кардіоміоцитів. Так, у роботі В. Досенко та співавт. (2006 р.) [23] на моделі аноксії-реоксигенації неонатальних кардіоміоцитів було встановлено, що кверцетин і корвітин мають здатність попереджувати апоптичну та некротичну загибель клітин. Разом з тим, проведені дослідження показали, що вказані засоби в низькій концентрації, а саме 5 мкмоль/л, мають здатність пригнічувати протеасомну активність клітин, що на думку О. Соловйова

та О. Стефанова (2002) може сприяти наявності кардіопротекторних властивостей препаратів та зменшувати пошкоджуючі прояви І/Р [24].

Дослідження кверцетину, проведені Wang Y. (2013), показали, що він впливає на сигнальні шляхи А, зокрема, підвищує експресію білка Bcl-2 та пригнічує експресію Вах, тим самим уповільнюючи А. Саме через ці механізми, на думку автора, кверцетин реалізує свою здатність підвищувати резистентність ішемізованого міокарда до подальших реперфузійних пошкоджень [25].

Як показує практика, потенціал цього біофлавоноїдного препарату ще досі не вичерпаний, а знання точних механізмів реалізації ефектів кверцетину зможе визначити нішу його водорозчинної форми корвітину в лікуванні та профілактиці реперфузійних вражень [26].

Дослідженнями останніх років встановлена важлива роль селену та його сполук у функціонуванні серцево-судинної системи. І хоча дані щодо ролі селену в профілактиці ССЗ залишаються суперечливими, важливим є встановлення впливу дефіциту селену на перебіг і прогноз гострого коронарного синдрому, за якого пацієнт зазнає дію І/Р та бурхливу активацію окисного стресу. У зв'язку з цим, К. Venardos зі співавт. (2016) продемонстрували в дослідах на щурах, що дефіцит селену призводить до збільшення пошкодження міокарда за рахунок посилення пероксидації білків і ліпідів після І/Р [25]. Ці дані були додатково підтверджені експериментами Tanguy та співавт. (2003), які показали, що дефіцит селену в щурів призводить до більш значного пошкодження міокарда та сповільненого відновлення функції серця після І/Р [26]. Тими самими групами дослідників було продемонстровано достовірний позитивний ефект від додаткового забезпечення організму селеном (за допомогою селеновмісних засобів або дієти з підвищеним вмістом селену), що полягав у зменшенні пошкодження міокарда внаслідок І/Р, кращому відновленні скоротливої функції, скороченні розмірів інфаркту та частоти виникнення постішемічних шлуночкових аритмій. Крім

антиоксидантної дії селену виявлено його властивості щодо пригнічення А. Експериментальні дослідження, що були проведені на різних типах клітин, мали дуже неоднорідні результати. Проте варто звернути увагу на дані S. Mukherjee та співавт. (2008 р.), які довели, що дієта з високим вмістом селену має кардіопротективний ефект і зменшує пошкоджуючу дію I/P шляхом генерації антиапоптичного сигналу через активацію кількох білків виживання, таких як Akt і Bcl-2 [29]. Врешті решт, думки стосовно селену та його ролі в лікуванні серцево-судинної патології сьогодні залишаються дискусійними та потребують подальших досліджень.

Усе це свідчить про доцільність подальшого вивчення та оцінки апопто-модуючих властивостей ЛЗ як однієї

з провідних ланок їхнього механізму захисної дії на серцево-судинну систему, що сприятиме оптимізації ФТ.

Висновки

Таким чином, наведені дані літератури показали, що захисна дія на серцево-судинну систему окремих ЛЗ певною мірою зумовлена здатністю цих препаратів гальмувати процес А кардіоміоцитів. Виразну антиапоптичну активність виявлено в комбінації антагоністів рецепторів ангіотензину II (кандесартану, цилексетилу) та антагоністів кальцію (лацидипіну) у пацієнтів з АГ. Здатність попереджати А встановлено у β -блокатора карведилолу та жиророзчинного іАПФ периндоприлу, препарати кверцетину сприяють інгібуванню процесу А кардіоміоцитів.

1. Hooke R. Micrographia. – London. – Royal Soc. – 1665. – Facsimile.
2. Vogt C. Untersuchungen uber die Entwicklungsgeschichte der Geburtshelerkroete. (Alytes obstetricians) / Vogt C // Solothurn : Jent und Gassman. – 1842. – 130 p.
3. Lockshin R. A. Programmed cell death : cytology of degeneration in the intersegmental muscles of the silkworm / R. A. Lockshin, C. M. Williams // J. Insect Physiol. – 1965. – № 11. – P. 123–133.
4. Kerr J. F. R. Apoptosis : a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics / J. F. R. Kerr, A. H. Wyllie, A. R. Currie // Brit. J. Cancer. – 1972. – № 2. – P. 239–257.
5. Механізми токсичної дії (некроз, апоптоз) хлоралканів на фракції ядерного хроматину клітин печінки / Ю. І. Губський, Є. Л. Левицький, Г. Г. Горюшко [та ін.] // Современные проблемы токсикологии. – 2008. – № 2. – С. 8–16.
6. Фильченков А. А. Апоптоз и рак / А. А. Фильченков, Р. С. Стойка. – Киев : Морион, 1999. – 184 с.
7. Губский Ю. И. Смерть клетки: свободные радикалы, некроз, апоптоз / Ю. И. Губский. – Винница : Нова Книга, 2015. – 329 с.
8. Фильченков А. А. Апоптомодуляторы / А. А. Фильченков // Биомедицинская химия. – 2003. – Т. 49, № 4. – С. 333–359.
9. Ащеулова А. В. Апоптоз: сигнальні шляхи та значення при кардіометаболічній патології / А. В. Ащеулова. – Харків, 2016. – 112 с.
10. Apoptosis in the failing human heart / G. Olivetti, R. Abbi, F. Quaini [et al.] // N. Engl. J. Med. – 1997. – V. 336. – P. 1131–1141.
11. Acute myocardial infarction in humans is associated with activation of programmed myocyte cell death in the surviving portion of the heart / G. Olivetti, F. Quaini, R. Sala [et al.] // J. Mol. Cell. Cardiol. – 1996. – V. 28 (9). – P. 2005–2016.
12. Ferrari R. Perindopril a major contribution to the prevention and treatment of cardiovascular disease / R. Ferrari, K. Fox. – France : Wolters Kluwer Health, 2008. – P. 75.
13. Li D. Tumor necrosis factor – Enhances hypoxia-reoxygenation-mediated apoptosis in cultured human coronary artery endothelial cells: critical role of protein kinase C / D. Li, B. Yang, J. L. Mehta // Cardiovasc. Res. – 1999. – V. 42. – P. 805–813.
14. Кетлинский С. А. Цитокины / С. А. Кетлинский, А. С. Симбирцев. – Санкт-Петербург : Фолиант, 2008. – 552 с.
15. Oxidative stress during myocardial ischaemia and heart failure / R. Ferrari, L. Agnoletti, L. Comini [et al.] // Eur. Heart J. – 1998. – Suppl B. – B. 2–11.
16. Coronary artery calcification is an independent stroke predictor in the general population / D. M. Herrmann, J. Gronewold, N. Lehmann [et al.] // Stroke. – 2013. – V. 44. – P. 1008–1013.
17. Coronary calcium score improves classification of coronary heart disease risk in the elderly: The Rotterdam study / S. E. EliasSmale, R. V. Proenca, M. T. Koller [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2010. – V. 56. – P. 1407–1414.
18. Oxidative damage increases intracellular free calcium $[Ca^{2+}]$ concentration in human erythrocytes incubated with lead / M. A. Quintanar-Escorza, M. T. Gonzalez-Martinez, M. P. Intrigo-Ortega, J. V. Calderon-Salinas // Toxicol. in vitro. – 2010. – V. 24. – P. 1338–1346.

19. Біохімічні механізми апоптозу: навчальний посібник / Л. І. Остапченко, Т. Б. Синельник, Т. В. Рибальченко, В. К. Рибальченко. – Київ : Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2010. – С. 8–9.
20. Cardiomyocyte apoptosis and cardiac angiotensin-converting enzyme in spontaneously hypertensive rats / J. Diez, A. Panizo, M. Hernandez [et al.] // Hypertension. – 1997. – V. 30. – P. 1029–11034.
21. Apoptosis in relevant clinical situations: contribution of apoptosis in myocardial infarction / H. Yaoita, K. Ogawa, K. Maehara, Y. Maruyama // Cardiovasc. Res. – 2000. – V. 45. – P. 630–641.
22. Yue T. L. Jr. Apoptosis: a potential target for discovering novel therapies for cardiovascular diseases / T. L. Yue, E. H. Ohlstein, R. R. Ruffolo // Curr. Opin. Chem. Biol. – 1999. – V. 3. – P. 474–480.
23. Влияние кверцетина на активность очищенных 20S, 26S протеасом и протеасомную активность в изолированных кардиомиоцитах / В. Досенко, В. Нагибин, Л. Тумановская [и др.] // Биомедицинская химия. – 2006. – № 52 (2). – С. 138–145.
24. Soloviev A., Stefanov A., Parshikov A. [et al.] // Cardiovasc. Toxicol. – 2002. – V. 2. – P. 129–139.
25. Quercetin postconditioning attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury in rats through the PI3K/Akt pathway / Y. Wang, Z. Z. Zhang, Y. Wu Y [et al.] // Braz. J. Med. Biol. Res. – 2013. – V. 46 (10). – P. 861–867.
26. Acute treatment with polyphenol quercetin improves postischemic recovery of isolated perfused rat hearts after global ischemia / M. Bartekova, S. Carnicka, D. Pancza [et al.] // Can. J. Physiol. Pharmacol. – 2010. – V. 88. – P. 465–471.
27. Venardos K. M. Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury, Antioxidant Enzyme Systems, and Selenium: A Review / K. M. Venardos, D. M. Kaye // Current Medical Chemistry. – 2016. – № 42, V. 23. – P. 1025–1032.
28. Dietary selenium intake affects cardiac susceptibility to ischaemia/reperfusion in male senescent rats / S. Tanguy, M. C. Toufektsian, S. Besse [et al.] // Age and Ageing. – 2003. – V. 32. – P. 273–278.
29. Mukherjee S. Broccoli: a unique vegetable that protects mammalian hearts through the redox cycling of the thioredoxin superfamily / S. Mukherjee, H. Gangopadhyay, D. K. Das // Journal of Agricultural Food Chemistry. – 2008. – V. 56. – P. 609–617.

Н. Г. Степанюк

Лікарські засоби як модулятори апоптозу в лікуванні серцево-судинної патології

В оглядовій статті розглянуті питання смерті кардіоміоцитів шляхом апоптозу за серцево-судинної патології та здатність певних лікарських засобів активувати або інгібувати цей процес, що може бути перспективним напрямом терапії захворювань серцево-судинної системи. Важливим питанням є встановлення прогностичного значення апоптотичного процесу – чи це одна з ранніх причин захворювання, чи він супроводжує її термінальну стадію. Уточнення стимулів та механізмів програмованої загибелі клітин за серцево-судинної патології може дозволити окреслити потенційні цілі для подальшого терапевтичного втручання.

Наведені дані свідчать про доцільність подальшого вивчення та оцінки апоптомодулюючих властивостей лікарських засобів як однієї з провідних ланок їхнього механізму захисної дії на серцево-судинну систему, що сприятиме оптимізації фармакотерапії.

Останніми дослідженнями було встановлено вплив деяких β -блокаторів, інгібіторів ангіотензин перетворюючого ферменту, антагоністів рецепторів ангіотензину II та препаратів з кардіопротективними властивостями, а саме кверцетину та селену на процес апоптозу кардіоміоцитів за різноманітної серцево-судинної патології.

Ключові слова: апоптоз, фармакологічна модуляція, серцево-судинні захворювання

Н. Г. Степанюк

Лекарственные средства как модуляторы апоптоза в лечении сердечно-сосудистой патологии

В обзорной статье рассмотрены вопросы смерти кардиомиоцитов путем апоптоза при сердечно-сосудистой патологии и способность определенных лекарственных средств активировать или тормозить этот процесс, что может быть перспективным направлением терапии заболеваний сердечно-сосудистой системы. Важным вопросом является установление прогностического значения апоптотического процесса – или это одна из ранних причин заболевания, или он сопровождает его терминальную стадию. Уточнение стимулов и механизмов запрограммированной клеточной смерти при сердечно-сосудистой патологии позволит определить потенциальные цели для дальнейшего лечения.

Приведенные данные свидетельствуют о целесообразности дальнейшего изучения и оценки апоптомодулирующих свойств лекарственных средств как одной из основных составляющих их механизма защитного действия на сердечно-сосудистую систему, что будет способствовать оптимизации фармакотерапии.

Исследованиями последних лет было установлено влияние некоторых β -блокаторов, ингибиторов ангиотензина II, а также препаратов с кардиопротекторными свойствами, а именно кверцетина и селена на процесс апоптоза кардиомиоцитов при различной сердечно-сосудистой патологии.

Ключевые слова: апоптоз, фармакологическая модуляция, сердечно-сосудистые заболевания

N. G. Stepanyuk

Medicinal drugs as modulators of apoptosis in the treatment of cardiovascular pathology

The review is devoted the problem of cardiomyocytes death by apoptosis at various cardiovascular pathologies and the ability of certain drugs to activate or inhibit this process, which, in our opinion, can be a promising direction in the therapy of diseases of the cardiovascular system. An important issue is the establishment of the prognostic value of the apoptotic process - or is it one of the earliest causes of the disease, or it accompanies its terminal stage. Clarification of the stimuli and mechanisms of programmed cell death in cardiovascular disease may allow us to put potential targets for further treatment. The data cited testify to the advisability of further study and evaluation of the apoptosis modulating properties of medicines as one of the main mechanisms of their protective action on the cardiovascular system, which, in our opinion, will contribute to the optimization of pharmacotherapy.

As to the data of recent studies the role of some B-blockers, iACF, angiotensin II antagonist has been established.

Key words: apoptosis, pharmacological modulation, cardiovascular diseases

Надійшла: 18 травня 2018 р.

Контактна особа: Степанюк Наталія Георгіївна, доктор медичних наук, кафедра клінічної фармації, фармакотерапії та медичної стандартизації, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, буд. 69, вул. Пекарська, м. Львів. Тел.: + 38 0 67 737 75 84. Електронна пошта: natali.stepanuyk@gmail.com

С. А. Демченко¹, Н. М. Чаленко², Т. А. Бухтіарова¹,
Н. М. Серединська¹, Л. С. Бобкова¹, О. Є. Ядловський¹,
А. М. Демченко¹

Синтез й анальгезуюча активність 6,7,8,9-тетрагідро-5H-[1,2,4]триазоло[4,3-a] азепінів

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

²Харківський національний медичний університет

Ключові слова: анальгетична активність,
диклофенак натрію, 6,7,8,9-тетрагідро-
5H-[1,2,4]триазоло[4,3-a]азепіни

Контроль болю та запалення залишається важливою й не до кінця вирішеною проблемою [1]. Однією з найпоширеніших груп лікарських засобів, що застосовуються з цією метою, є нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ), серед яких одним з найвикористовуваних є диклофенак. Диклофенак натрію, як і інші НПЗЗ, має протизапальний і знеболювальний ефект, зумовлений пригніченням біосинтезу простагландинів, кінінів та інших медіаторів запалення й болю, зменшенням проникності капілярів і стабілізуючим впливом на лізосомальні мембрани [2]. Серед недоліків, притаманних диклофенаку й більшості НПЗЗ, є недостатня терапевтична ефективність і широкий спектр побічних ефектів (ульцерогенна дія, гематотоксичність, гепатотоксичність та ін.), що суттєво обмежує їхнє застосування. Впровадження в медичну практику вибіркового інгібіторів ЦОГ-2 (мелоксикам, німесулід, целекоксиб та ін.) не змогло повною мірою задовільнити вимоги клініки, оскільки даній групі препаратів притаманна значна кількість небажаних реакцій (розлади з боку серцево-судинної системи, гематотоксичність, гепатотоксичність та ін.) [2, 3]. Тому пошук нових НПЗЗ, що переважають за ефективністю та/чи безпекою існуючі, залишається актуальним завданням сучасної фармаколо-

гії й ведеться в різних класах хімічних сполук, у тому числі серед конденсованих азотовмісних гетероциклів.

Мета дослідження – синтезувати та вивчити анальгетичну активність похідних 6,7,8,9-тетрагідро-5H-[1,2,4]триазоло[4,3-a]азепіну порівняно з відомим анальгетиком диклофенаком натрію на етапі первинного фармакологічного скринінгу.

Матеріали та методи. Досліджувані сполуки – похідні 6,7,8,9-тетрагідро-5H-[1,2,4]триазоло[4,3-a]азепіну (рис. 1) були синтезовані у відділі медичної хімії ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України». Вони одержані за схемами 1 та 2, зображеними на рисунку 2.

2-Метокси-3,4,5,6-тетрагідро-7H-азепін 1 одержано алкілюванням капролактаму диметилсульфатом за методом [4]. Гідразиди відповідних карбонових кислот 3, 4, 5 і 6 були одержані за стандартними методиками кип'ятінням відповідних естерів з надлишком гідрозин-гідрату. Контроль за ходом реакції та чистотою синтезованих сполук проводили методом тонкошарової хроматографії на платівках Silufol, F₂₅₄, 1 × 10 см, елюенти суміші хлороформ – метанол і етилацетат – гексан (9 : 1 і 1 : 1 v/v відповідно) зі застосуванням УФ-детектора за довжини хвилі опромінення 254 і 356 нм. Температури плавлення вимірювали на малогабаритному нагрівальному столі зі спостережним пристроєм РНМК 05 (VEB Analytik, Dresden). Спектри ¹H ЯМР знімалися на спектрометрі Varian Gemini 400 MHz (внутрішній стандарт

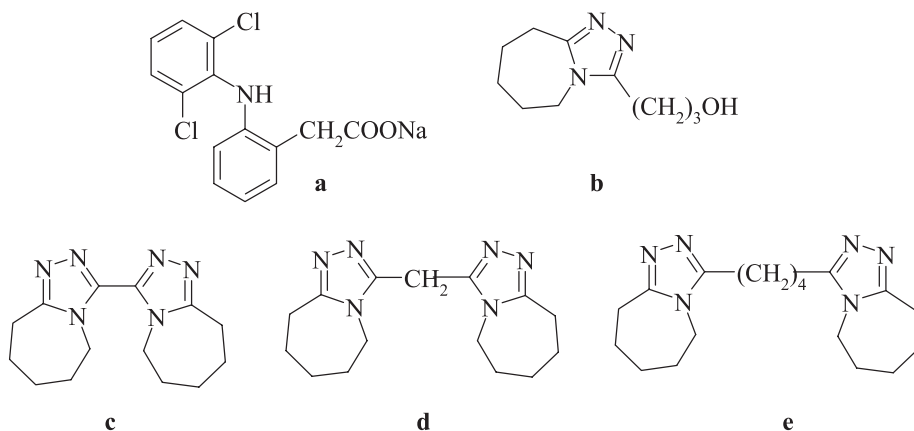


Рис. 1. Структурні формули диклофенаку натрію (а) та похідних 6,7,8,9-тетрагідро-5H-[1,2,4]триазоло[4,3-а]азепіну (b-e)

Схема 1

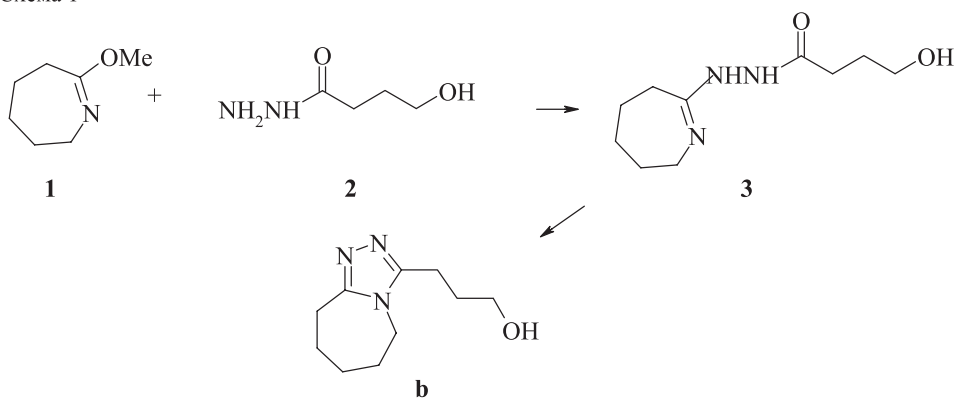


Схема 2

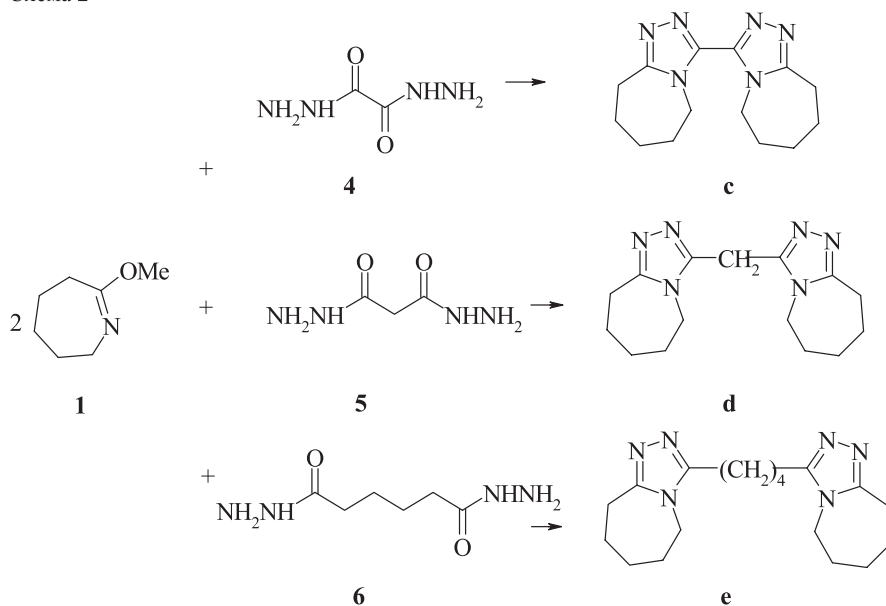


Рис. 2. Схеми синтезу похідних 6,7,8,9-тетрагідро-5H-[1,2,4]триазоло[4,3-а]азепіну b-e

ТМС, розчинник ДМСО-d6). Ліпофільність (LogP) синтезованих сполук розраховували за допомогою програми ACD LogP.

Синтез 3-(6,7,8,9-тетрагідро-5H-[1,2,4]-триазоло[4,3-а]-азепін-3-іл)-пропан-1-олу (b). Суміш 1,40 г (0,011 моль) 2-метокси-3,4,5,6-тетрагідро-7H-азепіну 1 та 1,18 г (0,01 моль) гідразиду 3-оксипропіонової кислоти 2 у 50 мл етанолу кип'яють протягом 1 год. Реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури, осад проміжного продукту 3, що утворився, відфільтровують і сушать. Без додаткового очищення останній кип'яють у 50 мл крижаної оцтової кислоти протягом 30 хв. Після охолодження реакційну суміш виливають у 200 мл води з льодом. Осад, що утворився, відфільтровують і сушать. Вихід 1,58 г (81%). Т. пл. 110–112 °С (з бензола). Найдено, %: N 21,3 C₁₀H₁₇N₃O. Вирахувано, %: N 21,5. Спектр ПМР (ДМСО-d6): 1,66–1,83 (м, 12H, 6,7,8,6¹,7¹,8¹(CH₂)₆), 3,03 (т, 4H, 9,9¹(CH₂)₂), 4,49 (т, 4H, 5,5¹(CH₂)₂). Log P = 0,24 ± 0,59.

Синтез 3,3'-біс-(6,7,8,9-тетрагідро-5H-[1,2,4]-триазоло[4,3-а]азепінілу) (c). Суміш 2,79 г (0,022 моль) 2-метокси-3,4,5,6-тетрагідро-7H-азепіну 1 та 1,18 г (0,01 моль) оксаліл дигідразиду 4 нагрівають у 50 мл етанолу й кип'яють протягом 1 год. Реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури, осад проміжного N,N'-ди-(4,5,6,7-5 тетрагідро-3H-азепіно-2-іл)-оксаліл дигідразиду, що утворився, відфільтровують і сушать. Без додаткового очищення останній кип'яють у 50 мл крижаної оцтової кислоти протягом 30 хв. Після охолодження реакційну суміш виливають у 200 мл води з льодом. Осад, що утворився, відфільтровують і сушать. Вихід 2,04 г (75%). Т. пл. 120–121 °С (з бензола). Найдено, %: N 30,6 C₁₄H₂₀N₆. Вирахувано, %: N 30,9. Спектр ПМР (ДМСО-d6): 1,66–1,83 (м, 12H, 6,7,8,6¹,7¹,8¹(CH₂)₆), 3,03 (т, 4H, 9,9¹(CH₂)₂), 4,49 (т, 4H, 5,5¹(CH₂)₂). Log P = 1,90 ± 0,67.

Синтез 1,4-ди-(6,7,8,9-тетрагідро-5H-[1,2,4]-триазоло[4,3-а]азепін-3-іл) метану (d). Суміш 2,79 г (0,022 моль) 2-метокси-3,4,5,6-тетрагідро-7H-азепіну 1 та 1,74 г (0,01 моль) дигідра-

зиду маленової кислоти 5 нагрівають у 50 мл етанолу та кип'яють протягом 1 год. Реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури, осад проміжного продукту, що утворився, відфільтровують і сушать. Без додаткового очищення останній кип'яють у 50 мл крижаної оцтової кислоти протягом 30 хв. Після охолодження реакційну суміш виливають у 200 мл води з льодом. Осад, що утворився, відфільтровують та сушать. Вихід 1,80 г (63%). Т. пл. 173–175 °С (з гексана). Найдено, %: N 29,2 C₁₅H₂₂N₆. Вирахувано, %: N 29,4. Спектр ПМР (ДМСО-d6): 1,67 (м, 8H, 2(CH₂)₂), 1,84 (м, 4H, 2(CH₂)₂), 2,94 (т, 4H, 9,9¹(CH₂)₂), 4,13 (т, 4H, 5,5¹(CH₂)₂), 4,37 (с, 2H, CH₂). 1,90 ± 0,66.

Синтез 1,4-ди-(6,7,8,9-тетрагідро-5H-[1,2,4]-триазоло[4,3-а]азепін-3-іл) бутану (e). Суміш 2,79 г (0,022 моль) 2-метокси-3,4,5,6-тетрагідро-7H-азепіну 1 і 1,74 г (0,01 моль) дигідразиду адипінової кислоти 6 нагрівають у 50 мл етанолу та кип'яють протягом 1 год. Реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури, осад проміжного продукту, що утворився, відфільтровують і сушать. Без додаткового очищення останній кип'яють у 50 мл крижаної оцтової кислоти протягом 30 хв. Після охолодження реакційну суміш виливають у 200 мл води з льодом. Осад, що утворився, відфільтровують і сушать. Вихід 2,67 г (69%). Т. пл. 65–67 °С (з гексану). Найдено, %: N 25,3 C₁₈H₂₈N₆. Вирахувано, %: N 25,6. Спектр ПМР (ДМСО-d6): 1,54–1,66 (м, 12H, (CH₂)₆), 1,79 (м, 4H, (CH₂)₂), 2,69 (т, 4H, (CH₂)₂), 2,83 (м, 4H, 9,9¹(CH₂)₂), 3,91 (т, 4H, 5,5¹(CH₂)₂). 1,90 ± 0,66.

Первинну оцінку анальгетичної активності проведено на моделях термічної («гаряча платівка») [5] і хімічної (оцтовокислі «корчі») [6] стимуляції. Дослідження виконано на білих нелінійних мишах-самцях масою (20 ± 2) г, отриманих з ПП «Біомодельсервіс». Тварин утримували на стандартному харчовому раціоні, вони отримували їжу та воду *ad libitum*.

Тест-речовини (досліджувані речовини) та препарат порівняння, диклофенак натрію, вводили тваринам у тест-дозі 25 мг/кг маси тіла внутрішньош-

лунково, використовуючи як розчинник водно-спиртову суміш (5 % спирту) з додаванням емульгатора 5 % (твіну-20). Об'єм отриманої водно-спиртової емульсії, що вводили тваринам, не перевищував 0,2 мл на одну тварину.

У тесті «гаряча платівка» на приладі Hot-plate meter (Ugo Basile, Італія) тестування проводили на мишах (по 5 мишей у групі), в яких вихідне значення латентного періоду реакції «облизування» лапки не перевищувало 20 с. Латентний період реакції в секундах вимірювали через 1 год після введення тест-речовин. Розраховували процент зміни до вихідного латентного періоду реакції в кожній групі.

Моделювання вісцерального болю проводили шляхом внутрішньоочеревинного введення мишам 0,6 % розчину оцтової кислоти з розрахунку 0,1 мл/10 г маси тіла через 1 год після введення тваринам тест-речовин (дослідні групи, по 7 мишей у групі) або розчинника (контрольна група, 10 мишей у групі). Підрахунок кількості «корчів» проводили з 5 по 15 хв після введення оцтової кислоти. Виразовували відсоток інгібіції числа «корчів» у дослідних групах відносно контролю.

Протизапальну активність досліджували на моделі карагенінового набряку, що характеризує циклооксигеназний шлях запалення [7]. Досліджувані речовини вводили перорально за 1 год до субплантарного введення 0,05 мл 1 % розчину карагеніну. Кількість тварин у групі складала 6 мишей. Критерієм оцінки був відсоток інгібіції набряку порівняно з контролем [8].

Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали за методом

Ст'юдента. Достовірними вважали зміни в разі $P < 0,05$ [9].

Результати та їх обговорення. Аналіз результатів дослідження анальгезуючої активності 6,7,8,9-тетрагідро-5H-[1,2,4-]триазоло[4,3-а]азепінів (**b-e**), отриманих у тестах «гаряча платівка» і «корчі», викликані оцтовою кислотою, показав їхній високий анальгезуючий потенціал. Як видно з даних таблиці 1, сполуки (**c**, **e**) виявили високий рівень зміни латентного періоду реакції, що перевищував такий для диклофенаку натрію (у 1,3 і 1,7 разу відповідно). Варто зауважити, що заміна пропілгідроксильного фрагмента в положенні 3 триазоло-азепінового циклу (сполука **b**) на відповідний триазоло-азепіновий фрагмент (сполука **c**) призводить до стрибкоподібного зростання анальгетичного ефекту (у 2,9 разу). Аналогічне посилення анальгетичного ефекту спостерігається для сполук, до структури яких входить два триазоло-азепінових фрагменти, з'єднаних між собою аліфатичним ланцюжком (сполуки **d**, **e**).

Результати визначення анальгезуючої активності сполук (**b-e**), які наведено в таблиці 2, демонструють, що в дозі 25 мг/кг відсоток інгібіції числа «корчів» складає від 88,23 до 59,55 %, у разі диклофенаку натрію – 61,02 %. Цікаво відзначити, що кращий результат показали сполуки з двома триазоло-азепіновими фрагментами, з'єднаними між собою безпосередньо (сполука **c**), або тільки через одну метиленову групу (сполука **d**). Сполуки, структура яких містить довший вуглеводнений радикал – тетра- або триметиленовий (сполуки **e** та **b** відповідно), проявили близькі результати, співставні з такими для диклофенаку натрію (табл. 2).

Таблиця 1

Анальгезуюча активність сполук b-e у тесті «гаряча платівка»

Речовина, шифр	Доза, мг/кг	Латентний період реакції, с ($M \pm m$)		Зміна латентного періоду реакції, %
		вихідне значення	60 хв	
b (IFT294)	25,0	9,26 $\pm$ 1,61	12,52 $\pm$ 0,83	+ 35,20
c (IFT286)	25,0	13,06 $\pm$ 1,66	26,18 $\pm$ 5,83	+ 100,45
d (IFT287)	25,0	10,94 $\pm$ 2,06	17,96 $\pm$ 2,49	+ 64,17
e (IFT293)	25,0	9,44 $\pm$ 2,25	21,74 $\pm$ 5,01	+ 130,29*
Диклофенак натрію	25,0	8,72 $\pm$ 1,10	15,46 $\pm$ 1,22	+ 77,29*

Примітка. * $P < 0,05$ порівняно з вихідним значенням.

Таблиця 2

Аналгезуюча активність сполук б-е у тесті оцтовокислі «корчі»

Речовина, шифр	Доза, мг/кг	Число «корчів» у контролі ($M \pm m$)	Число «корчів» у досліді ($M \pm m$)	Інгібіція числа «корчів», %
b (IFT294)	25,0	27,20 $\pm$ 2,03	10,20 $\pm$ 2,94	- 62,50*
c (IFT286)	25,0	27,20 $\pm$ 2,03	3,20 $\pm$ 1,66	- 88,23*
d (IFT287)	25,0	23,40 $\pm$ 2,05	7,20 $\pm$ 1,03	- 69,23*
e (IFT293)	25,0	27,20 $\pm$ 2,03	11,00 $\pm$ 3,61	- 59,55*
Диклофенак натрію	25,0	27,20 $\pm$ 2,03	10,20 $\pm$ 2,34	- 61,02*

Примітка. Тут і в табл. 3: * $P < 0,05$ порівняно з контролем.

Таблиця 3

Протизапальна активність сполук б-е у тесті «карагеніновий набряк»

Речовина, шифр	Доза, мг/кг	Маса лапи, мг ($M \pm m$)		Інгібіція набряку, %
		контроль	дослід	
b (IFT294)	25,0	45,40 $\pm$ 2,48	39,20 $\pm$ 4,77	- 13,65
c (IFT286)	25,0	45,40 $\pm$ 2,48	35,40 $\pm$ 2,34	- 22,02
d (IFT287)	25,0	64,60 $\pm$ 1,51	40,20 $\pm$ 5,52	- 37,70*
e (IFT293)	25,0	45,40 $\pm$ 2,48	32,40 $\pm$ 4,39	- 28,63*
Диклофенак натрію	25,0	45,40 $\pm$ 2,48	22,80 $\pm$ 4,57	- 49,77*

За результатами дослідження проти-запальної активності сполуки (**б-е**) виявили невисокий ефект (табл. 3). Проте сполуки (**с, d, e**) з двома триазоло-азепіновими фрагментами є активнішими, ніж сполука (**б**) з гідроксипропільним радикалом.

Висновки

1. Синтезовано нові похідні 6,7,8,9-тетрагідро-5*H*-[1,2,4-]триазоло[4,3-*a*]азепіну за реакцією 2-метокси-3,4,5,6-тетрагідро-7*H*-азепіну з відповідними гідразидами/дигідратидами-

ми в середовищі етанолу з виходом 63–81 %.

2. Результати проведених досліджень аналгезуючої активності в досліді *in vivo* (моделі термічної та хімічної стимуляції) свідчать, що синтезовані сполуки виявили аналгезуючу дію вищу або співставну з такою для референс-препарату (диклофенаку натрію). Показано посилення аналгетичного ефекту для сполук, до структури яких входить два триазоло-азепінових фрагменти, безпосередньо або через одну метиленову групу з'єднаних між собою.

1. Schaeffer A. J. Epidemiology and evaluation of chronic pelvic pain syndrome in men International / A. J. Schaeffer // Journal of Antimicrobial Agents. – 2008. – V. 31, № 1. – P. 108–111.
2. Rao P. Evolution of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): cyclooxygenase (COX) inhibition and beyond / P. Rao, E. E. Knaus // J Pharm Pharm Sci. – 2008. – V. 11, № 2. – P. 81s–110s.
3. Pirlamarla P. FDA labeling of NSAIDs: Review of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in cardiovascular disease / P. Pirlamarla, R. M. Bond // Trends. Cardiovasc. Med. – 2016. – V. 26, № 8. – P. 675–680.
4. Ацетали лактамов. VII. Исследование алкилирования N-метиллактамов и лактимных эфиров диметилсульфатом / В. Г. Граник, А. М. Жидкова, Н. С. Курятов [и др.] // ХГС. – 1973. – № 11. – С. 1532–1535.
5. Komlos E. Morfin – prostigmin synergismus / E. Komlos, J. Porsreser, J. Knole // Az. Acta. Physiologica. Acad. Scient. Hungaricae. – 1950. – № 1. – P. 77–83.
6. Wood R. L. Animal models in analgesic testing / R. L. Wood // Analgesics: Neurochemical, Behavioral and Clinical perspectives. Kuhar M., Pasternak J. (Eds) Raven Press / New-York. – 1991. – V. 42. – P. 74.

7. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації); за ред. О. В. Стефанова. – Київ : Авіцена, 2001. – 528 с.
8. Тринус Ф. П. Нестероидные противовоспалительные средства / Ф. П. Тринус, Н. А. Мохорт, Б. М. Клебанов. – Київ : Здоров'я, 1975. – 240 с.

**С. А. Демченко, Н. М. Чаленко, Т. А. Бухтіарова, Л. С. Бобкова,
Н. М. Серединська, О. Є. Ядловський, А. М. Демченко**

Синтез й анальгезуюча активність 6,7,8,9-тетрагідро-5Н-[1,2,4]триазоло [4,3-а]азепінів

Біль і запалення складають одну з головних причин (11–40 %) звернення до лікаря в системі первинної медичної допомоги. Сучасна фармакотерапія больових синдромів і запалення є недостатньо ефективною та безпечною. Тому пошук нових ефективних знеболюючих і протизапальних лікарських засобів є важливим і актуальним.

Мета дослідження – синтезувати та вивчити анальгетичну активність нових похідних 6,7,8,9-тетрагідро-5Н-[1,2,4]триазоло[4,3-а]азепіну порівняно з диклофенаком натрію на етапі первинного фармакологічного скринінгу.

Синтезовано нові [3-] і [3,3']-заміщені 6,7,8,9-тетрагідро-5Н-[1,2,4]триазоло[4,3-а]азепіни. Синтез проведено шляхом взаємодії еквімолярних кількостей 2-метокси-3,4,5,6-тетрагідро-7Н-азепіну з гідразидом монокарбонової кислоти. Нові похідні 6,7,8,9-тетрагідро-5Н-[1,2,4]триазоло[4,3-а]азепіну одержані за реакцією 2-метокси-3,4,5,6-тетрагідро-7Н-азепіну з відповідними дигідрізидами дикарбонових кислот у середовищі етанолу з виходом 63–81 %. Будову та чистоту всіх отриманих речовин підтверджено даними ЯМР ¹Н спектроскопії. Нові похідні 6,7,8,9-тетрагідро-5Н-[1,2,4]триазоло[4,3-а]азепіну виявили високу анальгетичну активність у тестах «гаряча платівка» і «корчів», викликаних оцтовою кислотою.

Вивчені сполуки за анальгетичною активністю переважають/не поступаються референтному препарату диклофенаку натрію. Отримані дані обґрунтовують доцільність подальшого вивчення похідних 6,7,8,9-тетрагідро-5Н-[1,2,4]триазоло[4,3-а]азепінів як нових потенційних анальгетичних засобів.

Ключові слова: анальгетична активність, диклофенак натрію, 6,7,8,9-тетрагідро-5Н-[1,2,4]триазоло[4,3-а]азепіни

**С. А. Демченко, Н. Н. Чаленко, Т. А. Бухтіарова, Л. С. Бобкова,
Н. Н. Серединская, О. Е. Ядловский, А. М. Демченко**

Синтез и анальгетическая активность 6,7,8,9-тетрагидро-5Н-[1,2,4]триазоло [4,3-а]азепинов

Боль и воспаление являются одними из главных причин (11–40 %) обращения к врачу в системе первичной медицинской помощи. Современная фармакотерапия болевых синдромов и воспаления недостаточно эффективна и безопасна. Поэтому поиск новых эффективных обезболивающих и противовоспалительных лекарственных средств является важным и актуальным.

Цель исследования – синтезировать и изучить анальгетическую активность новых производных 6,7,8,9-тетрагидро-5Н-[1,2,4]триазоло[4,3-а]азепина по сравнению с диклофенаком натрия на этапе первичного фармакологического скрининга.

Синтезированы новые [3-] и [3,3']-замещенные 6,7,8,9-тетрагидро-5Н-[1,2,4]триазоло[4,3-а]азепина. Синтез проведен путем взаимодействия эквимольных количеств 2-метокси-3,4,5,6-тетрагидро-7Н-азепина с гидразидом монокарбоновой кислоты. Новые производные 6,7,8,9-тетрагидро-5Н-[1,2,4]триазоло[4,3-а]азепина получены по реакции 2-метокси-3,4,5,6-тетрагидро-7Н-азепина с соответствующими дигидразидами дикарбоновых кислот в среде этанола с выходом 63–81 %. Строение и чистота всех полученных веществ подтверждены данными ЯМР ¹Н спектроскопии. Новые производные 6,7,8,9-тетрагидро-5Н-[1,2,4]триазоло[4,3-а]азепина проявили высокую анальгетическую активность в тестах «горячая пластинка» и «корчи», вызванные уксусной кислотой.

Изученные соединения по анальгетической активности превосходят/не уступают референтному препарату диклофенаку натрия. Полученные данные обосновывают целесообразность дальнейшего изучения производных 6,7,8,9-тетрагидро-5Н-[1,2,4]триазоло[4,3-а]азепина в качестве новых потенциальных анальгетических средств.

Ключевые слова: анальгетическая активность, диклофенак натрия, 6,7,8,9-тетрагидро-5Н-[1,2,4]триазоло[4,3-а]азепины

**S. A. Demchenko, N. M. Chalenko, T. A. Bukhtiarova, L. S. Bobkova,
N. M. Seredinska, O. E. Yadlovskiy, A. M. Demchenko**

Synthesis and analgesic activity of 6,7,8,9-tetrahydro-5H-[1,2,4]triazoles[4,3-a]azepines

Pain is among the main reasons (11–40 %) for requesting the medical care, but current pharmacotherapy of pain syndrome is not sufficiently effective and safe. Therefore the search for new effective analgesic drugs remains an important medical task.

The aim of the study was to synthesize new derivatives of 6,7,8,9-tetrahydro-5H-[1,2,4]triazolo [4,3-a]azepine and to research their analgesic activities in comparison with diclofenac sodium at the stage of primary pharmacological screening.

The [3-] and [3,3']-substituted 6,7,8,9-tetrahydro-5H-[1,2,4]triazolo[4,3-a]azepines were synthesized. The synthesis was carried out by the interaction of equimolar amounts of 2-methoxy-3,4,5,6-tetrahydro-7H-azepine with hydrazide of monocarboxylic acids. The new derivatives of 6,7,8,9-tetrahydro-5H-[1,2,4]triazolo[4,3-a]azepine were obtained by the reaction of 2-methoxy-3,4,5,6-tetrahydro-7H-azepine with the corresponding dihydrazide of dicarboxylic acids in ethanol with the release of 63–81 %. The structure and purity of all substances were confirmed by the data of ¹H NMR spectroscopy. The new derivatives of 6,7,8,9-tetrahydro-5H-[1,2,4]triazolo[4,3-a]azepine revealed high analgesic activity at the «hot plate» test and under «writhing» caused by acetic acid.

New synthesized compounds have significant analgesic potential and are superior/not inferior to the reference drug diclofenac sodium. The data obtained substantiate the expediency of further study of 6,7,8,9-tetrahydro-5H-[1,2,4]triazolo[4,3-a]azepine derivatives as new potential analgesic agents.

Key words: analgesic, diclofenac sodium, 6,7,8,9-tetrahydro-5H-[1,2,4]triazolo[4,3-a]azepines

Надійшла: 28 серпня 2018 р.

Контактна особа: Демченко С. А., ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ, буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03680. Тел.: + 38 0 44 456 42 56.

А. І. Дуб, І. М. Кліщ, Л. В. Вронська, І. П. Стечишин

Вплив нової фітокомпозиції на спектр ліпідів крові на моделі гіперліпідемії в щурів

Державний вищий навчальний заклад «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України»

Ключові слова: гіполіпідемічна дія, шовковиця біла (*Morus alba* L.), квасоля звичайна (*Phaseolus vulgaris* L.), чорниця звичайна (*Vaccinium myrtillus* L.), фітокомпозиція

Порушення обміну ліпідів і дисліпопротеїдемії відіграють провідну роль у патогенезі серцево-судинних захворювань, у тому числі атеросклеротичних ускладнень цукрового діабету (ЦД), у разі яких дисліпопротеїдемія поєднується з гіперглікемією.

Діабетична (атерогенна) дисліпопротеїдемія (ДЛП) характеризується гіпертриацилгліцеролемією з низьким рівнем холестеролу ліпопротеїнів високої щільності (ХС ЛПВЩ) та підвищеною концентрацією холестеролу ліпопротеїнів низької щільності (ХС ЛПНЩ) [1]. Атерогенний ліпідний профіль хворих на ЦД типу 2 робить вагомий внесок у розвиток атеросклерозу та його ускладнень, а сама наявність ЦД у пацієнта забезпечує йому категорію дуже високого кардіоваскулярного ризику [2]. Зроблено припущення щодо асоціації ліпідного співвідношення триацилгліцеролів (ТГ)/ХС ЛПВЩ з інсулінорезистентністю через гіперглікемію. Імовірно, що моніторування цього співвідношення дозволить дати оцінку змінам чутливості тканин до інсуліну в разі проведення гіполіпідемічних втручань [3].

Сучасна медикаментозна тактика боротьби з ДЛП представлена засобами синтетичного походження: статини, фібрати, нікотинова кислота, секвестранти жовчних кислот. Однак низка побічних ефектів і протипоказань обмежують їхнє широке клінічне застосування [4]. Тому перспективним може бути створення засобів на основі лікарських рослин, які проявляють поліва-

лентну дію, що дозволяє одночасно вирішувати декілька завдань за мінімального ризику ускладнень [5]. Особливу увагу з огляду на це привертає рослинна сировина, що містить біофлавоноїди. Саме завдяки властивостям флавоноїдів регулювати процеси вільнорадикального окиснення в клітинах ці сполуки можуть вважатися засобами патогенетичної терапії метаболічних порушень [6]. З цієї метою нами було створено нову фітокомпозицію на основі рослинної сировини, багатой на флавоноїди, а саме: листя шовковиці білої, пагони чорниці звичайної та стулки квасолі звичайної. Окремі складові запропонованої фітокомпозиції відомі своїми гіпоглікемічними, антиоксидантними та гіполіпідемічними властивостями [6–9].

Мета дослідження – вивчити гіполіпідемічну активність нової фітокомпозиції (комбінація сухих екстрактів листя шовковиці білої *Morus alba* L., стулок квасолі звичайної *Phaseolus vulgaris* L., пагонів чорниці звичайної *Vaccinium myrtillus* L.) на моделі гіперліпідемії в щурів.

Матеріали та методи. Експеримент проводили на білих нелінійних щурах-самцях масою 280–320 г. Моделювання гіперліпідемії здійснювали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням детергенту твін-80 у дозі 200 мг/100 г маси тіла тварини [10]. Цю модель використовують для проведення скринінгових досліджень гіполіпідемічної активності нових речовин, введення твін 80 призводить до швидкого (через 8–10 год) збільшення рівня ліпідів у крові (особливо ТГ) та зниження альфа-ХС [10].

Піддослідних тварин було поділено на 4 групи (n = 6): інтактний контроль; група контрольної патології – тварини

з моделлю гіперліпідемії; референс група – тварини отримували препарат порівняння – кислоту нікотинову в дозі 25 мг/кг маси тіла тварини [11], яку обрано тому, що її застосовують за всіх видів гіперліпідемії, у тому числі за умов ЦД [12], та у зв'язку з очікуваним механізмом дії компонентів досліджуваного фітозасобу [11]; дослідна група – тварини, які отримували нову фітокомпозицію (комбінацію сухих екстрактів листя шовковиці білої *Morus alba* L., стулок квасолі звичайної *Phaseolus vulgaris* L., пагонів чорниці звичайної *Vaccinium myrtillus* L.) з розрахунку 100 мг/кг сухого екстракту листя шовковиці білої*.

Тварини дослідної та референтної груп отримували досліджувані засоби внутрішньошлунково за допомогою тонкого металевого атравматичного зонду щодня протягом 10 днів у ранковій годині 1 раз на 1 добу в об'ємі, розрахованому виходячи з маси тіла щура [13]. Останнє введення проводили разом з внутрішньоочеревинним введенням детергенту. Тварини інтактною групи та групи контрольної патології отримували відповідний об'єм води для ін'єкцій. На період дії твін-80 тварин залишали голодними. Через 9 год тварин виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг) [14] і проводили забір крові для біохімічних досліджень.

Кров центрифугували та відділяли сироватку, в якій визначали спектрофотометричним методом такі показники: уміст загальних ліпідів (ЗЛ), загального холестеролу (ЗХС), ХС ЛПВЩ і ТГ за допомогою стандартного набору реактивів фірми «Філісит діагностика» (Україна). Також обраховували концентрацію ХС ЛПНЩ й дуже низької щільності (ХС ЛПДНЩ) і коефіцієнт атерогенності (КА).

Концентрацію ХС ЛПНЩ обраховували з концентрації ЗХС, ХС ЛПВЩ і ТГ за формулою W. T. Friedewald [3]:

$$\text{ХС ЛПНЩ} = \text{ЗХС} - (\text{ХС ЛПВЩ} + \text{ТГ}/2,22),$$

де ТГ/2,22 – уміст у сироватці крові ХС ЛПДНЩ.

КА розраховували за формулою А. М. Клімова [3]:

$$\text{КА} = (\text{ЗХС} - \text{ХС ЛПВЩ})/\text{ХС ЛПВЩ}.$$

Усі маніпуляції були проведені відповідно до загальних етичних принципів експериментів на тваринах, регламентованих положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes, Страсбург, 1986 р., зі змінами, 1998 р.) та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (від 15.12.2009 № 1759-VI).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили методами варіаційної статистики з використанням U-критерію Манна-Уїтні та критерію Стюдента за допомогою комп'ютерних програм IBM SPSS Statistica v.10.1 та MS Excel 2010 і представляли у вигляді порівняльних таблиць з результатами різних груп. Для оцінки вірогідності отриманих результатів приймали рівень значимості $p \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. У результаті дослідження ліпідного спектра крові тварин за умов моделювання гіперліпідемії було встановлено вірогідне підвищення рівня всіх оцінюваних показників порівняно з інтактним контролем (таблиця). Зокрема, рівень ЗЛ збільшувався відносно групи інтактного контролю на 24,44 %, рівень ЗХС – на 84,76 %, ХС ЛПВЩ – на 33,85 %, ХС ЛПНЩ – на 195,00 %, ХС ЛПДНЩ – на 140,00 %, ТГ – на 143,18 %. Разом з тим, відсоткова частка ХС ЛПВЩ у ЗХС у групі інтактного контролю складала 61,90 %, а в групі контрольної патології – 44,84 %, що на 17,06 % менше й свідчить про зниження вмісту ХС ЛПВЩ. Такі зміни спектра ліпідів крові призводили до збільшення показника КА у групі контрольної патології відносно групи інтактного контролю на 98,39 % (рисунок).

У разі застосування нікотинової кислоти концентрації ЗЛ, ЗХС, ХС ЛПНЩ,

*Дозу встановлено експериментально в попередніх дослідженнях.

Показники спектра ліпідів у сироватці крові за умов експериментальної гіперліпідемії, застосування фітокомпозиції та референтного препарату ($M \pm m$)

Експериментальна група	Концентрація ліпідів					
	ЗЛ, г/л	ЗХС, ммоль/л	ХС ЛПВЩ, ммоль/л	ХС ЛПНЩ, ммоль/л	ХС ЛПДНЩ, ммоль/л	ТГ, ммоль/л
Інтактний контроль	8,02 ± 0,18	1,05 ± 0,36	0,65 ± 0,03	0,20 ± 0,03	0,20 ± 0,01	0,44 ± 0,02
Гіперліпідемія (контрольна патологія)	9,98 ± 0,15	1,94 ± 0,72	0,87 ± 0,02	0,59 ± 0,06	0,48 ± 0,01	1,07 ± 0,03
	$p_1 \leq 0,001$	$p_1 \leq 0,001$	$p_1 \leq 0,001$	$p_1 \leq 0,001$	$p_1 \leq 0,001$	$p_1 \leq 0,001$
Гіперліпідемія + кислота нікотина (референс група)	8,84 ± 0,17	1,32 ± 0,88	0,68 ± 0,01	0,29 ± 0,09	0,35 ± 0,01	0,78 ± 0,02
	$p_1 \leq 0,01$	$p_1 \leq 0,05$	$p_1 > 0,10$	$p_1 > 0,10$	$p_1 \leq 0,001$	$p_1 \leq 0,001$
	$p_2 \leq 0,001$	$p_2 \leq 0,001$	$p_2 \leq 0,001$	$p_2 \leq 0,05$	$p_2 \leq 0,001$	$p_2 \leq 0,001$
Гіперліпідемія + фітокомпозиція (дослідна група)	8,41 ± 0,12	1,29 ± 0,58	0,69 ± 0,01	0,30 ± 0,04	0,31 ± 0,01	0,68 ± 0,02
	$p_1 > 0,10$	$p_1 \leq 0,01$	$p_1 > 0,10$	$p_1 \leq 0,10$	$p_1 \leq 0,001$	$p_1 \leq 0,001$
	$p_2 \leq 0,001$	$p_2 \leq 0,001$	$p_2 \leq 0,001$	$p_2 \leq 0,01$	$p_2 \leq 0,001$	$p_2 \leq 0,001$
	$p_3 < 0,10$	$p_3 > 0,10$	$p_3 > 0,10$	$p_3 > 0,10$	$p_3 \leq 0,05$	$p_3 \leq 0,01$

Примітка. p_1 – достовірність щодо групи інтактного контролю; p_2 – достовірність щодо групи контрольної патології; p_3 – достовірність порівняно з референс групою. Кількість тварин у кожній групі (n) = 6.

ХС ЛПДНЩ знижувалися на 11,42 %, 31,96 %, 50,85 %, 27,08 %, показник КА – на 23,58 % відповідно порівняно з показниками в групі контрольної патології. І лише концентрації ХС ЛПВЩ, ХС ЛПНЩ під впливом введення кислоти нікотинової достовірно не відрізнялися від інтактного контролю.

Також було встановлено, що в дослідній групі тварин, які отримували фітокомпозицію, усі показники були досто-

вірно нижчими порівняно з групою контрольної патології, а концентрація ЗЛ, ХС ЛПДНЩ і ТГ нижчою від показників референс групи. Разом з тим, фітозасіб сприяв нормалізації показників ЗЛ і ХС ЛПВЩ.

Заслужовує на увагу й те, що показник КА, який відображає співвідношення між проатерогенними та неатерогенними ліпопротеїнами та є маркером атеросклеротичних уражень, у дослідній групі був нижчим на 29,27 % порівняно з групою контрольної патології та не був достовірно відмінним від референс групи.

Таким чином, встановлено, що нова фітокомпозиція справляє позитивний вплив на ліпідний спектр крові в тварин з експериментальною гіперліпідемією та за ефективністю не поступається препарату порівняння. Наявність у його складі природних компонентів, кожен з яких окремо відомий своїми гіпоглікемічними, антиоксидантними та гіполіпідемічними властивостями, вказує на перспективність застосуван-



Рисунок. Коефіцієнт атерогенності в експериментальних групах

Примітка. *1 – $p \leq 0,05$ порівняно з групою інтактного контролю; *2 – $p \leq 0,05$ порівняно з групою контрольної патології.

ня нового фітозасобу для профілактики та лікування ДЛП, у тому числі діабетичної.

Висновки

1. Встановлено, що нова фітокомпозиція (комбінація сухих екстрактів листя шовковиці білої *Morus alba* L., стулок квасолі звичайної *Phaseolus vulgaris* L., пагонів чорниці звичайної *Vaccinium myrtillus* L.) за умов внутрішньошлункового введення справляє позитивний вплив на ліпідний спектр крові в тварин з експериментальною гіперліпідемією, достовірно зменшуючи вміст загальних

ліпідів, загального ХС та ТГ, призводячи до нормалізації показників ЗЛ і ХС ЛПВЩ, зменшення коефіцієнта атерогенності на 29,27 % порівняно з групою контрольної патології.

2. За гіполіпідемічною активністю нова фітокомпозиція не поступається препарату порівняння – кислоті нікотинівій, а за ступенем зниження вмісту ЗЛ, ХС ЛПДНЩ і ТГ перевершує її. Отримані результати вказують на перспективи подальших досліджень щодо можливості застосування нового фітозасобу для профілактики та лікування ДЛП, у тому числі за умов ЦД.

1. Сергієнко В. О. Дисліпопротеїнемії при цукровому діабеті 2 типу: основні напрями лікування (огляд літератури та власних досліджень) / В. О. Сергієнко // Журнал НАМН України. – 2012. – Т. 18, № 2. – С. 205–216.
2. Чернишов В. А. Дисліпідемія у хворих на цукровий діабет 2 типу: перспективи застосування комбінованої гіполіпідемічної терапії / В. А. Чернишов // Український терапевтичний журнал. – 2012. – № 1. – С. 111–118.
3. Чернишов В. А. Деякі особливості вторинної дисліпідемії у пацієнтів з високим кардіометаболічним ризиком / В. А. Чернишов, О. В. Чирва, І. А. Валентинова // Український терапевтичний журнал. – 2016. – № 1. – С. 50–60.
4. Мухаммед А. А. Исследование гиполлипидемических свойств веществ природного происхождения на основе чеснока, растительных масел и пищевых волокон (экспериментальное исследование) : автореф. дисс. на соискание ученой степени канд. фарм. наук: спец. 14.03.06 «фармакология, клиническая фармакология» / А. А. Мухаммед; Научно-исследовательский институт фармации, Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова. – Волгоград, 2014. – 26 с.
5. Савич А. О. Фармакологічне та фітохімічне обґрунтування використання антидіабетичного рослинного збору в терапії цукрового діабету: дис. канд. фарм. наук: 14.03.05 – фармакологія / Савич Альона Олександрівна. – Харків, 2017. – 209 с.
6. Стечишин І. П. Антиоксидантна та гіпоглікемічна активність біофлавоноїдів за цукрового діабету II типу / І. П. Стечишин, А. І. Дуб // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2017. – № 6. – С. 15–22.
7. Вивчення складу флавоноїдів і гіпоглікемічної дії сухих екстрактів стулок квасолі / Л. В. Вронська, А. І. Дуб, І. М. Кліщ, А. Є. Демид // Український біофармацевтичний журнал. – 2018. – № 2. – С. 62–69.
8. Barret M. L. A proprietary alpha-amylase inhibitor from white bean (*Phaseolus vulgaris*): A review of clinical studies on weight loss and glycemic control / M. L. Barret, J. K. Udani // Nutrition Journal. – 2011. – № 10. – С. 24–33.
9. Рибак В. А. Фармакологічне вивчення нових лікарських препаратів на основі густого екстракту квасолі для лікування цукрового діабету 2-го типу : дис. докт. біол. наук: 14.03.05 – фармакологія / Рибак Вікторія Анатоліївна. – Одеса, 2018. – 378 с.
10. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – Москва : Гриф и К, 2012. – 944 с.
11. Клеванова В. С. Гіпоглікемічна та гіполіпідемічна дія екстракту підземних органів чорноголовника родовикового (*Poterium sanguisorba* L.): дис. канд. фарм. наук: 14.03.05 – фармакологія / Клеванова Вікторія Сергіївна. – Запоріжжя, 2016. – 171 с.
12. Мохорт Т. В. Дислипидемия и сахарный диабет: новые данные / Т. В. Мохорт // Медицинские новости. – 2012. – № 9. – С. 49–55.
13. Фармакологическая коррекция экспериментальной гиперлипидемии комбинированным применением препаратов магния оротата и розувастатина / Е. Б. Артюшкова, Г. С. Маль, О. А. Хорунжая [та ін.] // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2015. – № 1. – С. 72–77.
14. Aqueous leaf extract of *Ocimum gratissimum* improves haematological parameters in alloxan induced diabetic rats via its antioxidant properties / S. T. Shittu, W. A. Oyeyemi, T. J. Lasisi [et al.] // International journal of applied and basic medical research. – 2016. – № 6. – С. 96–100.

Вплив нової фітокомпозиції на ліпідний спектр крові на моделі гіперліпідемії в щурів

Порушення обміну ліпідів і дисліпопротеїдемії відіграють провідну роль у патогенезі серцево-судинних захворювань, у тому числі атеросклеротичних ускладнень цукрового діабету (ЦД), у разі яких дисліпопротеїдемія поєднується з гіперглікемією. Наявність у деяких фітопрепаратів поряд з гіпоглікемічною активністю антиоксидантних властивостей і коригуючого впливу на ліпідний спектр крові дає значні переваги перед існуючими синтетичними препаратами для лікування ЦД та його ускладнень. З огляду на це, актуальним завданням фармакології та фармацевтичної науки є розробка препаратів гіполіпідемічної дії на основі рослинної сировини, які поєднували би зазначені види активності за мінімальних токсичних проявів.

Мета дослідження – вивчити гіполіпідемічну активність нової фітокомпозиції (комбінація сухих екстрактів листя шовковиці білої *Morus alba* L., стюлок квасолі звичайної *Phaseolus vulgaris* L., пагонів чорниці звичайної *Vaccinium myrtillus* L.) на моделі гіперліпідемії в щурів.

Експеримент проводили на білих нелінійних щурах-самцях масою 280–320 г. Моделювання гіперліпідемії здійснювали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням детергенту твін-80 у дозі 200 мг/100 г маси тіла тварини. З метою попередження розвитку гіперліпідемії тварини отримували внутрішньошлунково щодня протягом 10 днів новий фітозасіб або референтний препарат – кислоту нікотину. Через 9 год після останнього введення досліджуваних засобів проводили забір крові для біохімічних досліджень. У сироватці крові визначали: загальні ліпіди, загальний холестерол, холестерол ліпопротеїнів високої щільності та триацилгліцероли. Також обраховували концентрацію холестеролу ліпопротеїнів низької та дуже низької щільності та коефіцієнт атерогенності. Проводили статистичну обробку отриманих результатів.

У результаті було встановлено, що в тварин з групи модельної патології спостерігалось вірогідне підвищення рівня всіх оцінюваних показників порівняно з інтактним контролем. За умов введення фітозасобу досліджувані показники були достовірно нижчими, ніж у групі контрольної патології, коефіцієнт атерогенності знижувався на 29,27 %. Більшість показників не відрізнялися від таких за умов застосування референтного препарату, а за ступенем зниження вмісту ЗЛ, ХС ЛПДНЩ і ТГ перевершували його.

Таким чином, встановлено, що нова фітокомпозиція за умов 10-разового внутрішньошлункового введення справляє позитивний вплив на ліпідний спектр крові в тварин з експериментальною гіперліпідемією. За гіполіпідемічною активністю новий фітозасіб не поступається препарату порівняння – кислоті нікотинівій, а за ступенем зниження вмісту ЗЛ, ХС ЛПДНЩ і ТГ перевершує її. Отримані результати вказують на перспективи подальших досліджень щодо можливості застосування нової фітокомпозиції для профілактики та лікування дисліпопротеїдемії, у тому числі за умов ЦД.

Ключові слова: гіполіпідемічна дія, шовковиця біла (*Morus alba* L.), квасоля звичайна (*Phaseolus vulgaris* L.), чорниця звичайна (*Vaccinium myrtillus* L.), фітокомпозиція

Влияние новой фитокомпозиции на липидный спектр крови на модели гиперлипидемии у крыс

Нарушение обмена липидов и дислипидемии играют ведущую роль в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе атеросклеротических осложнений при сахарном диабете, в случае которых дислипидемия сочетается с гипергликемией. Наличие у некоторых фитопрепаратов, наряду с гипогликемической активностью, антиоксидантных свойств и корригирующего влияния на липидный спектр крови имеет значительные преимущества по сравнению с существующими синтетическими препаратами для лечения сахарного диабета и его осложнений. Учитывая это, актуальной задачей фармакологии и фармации является разработка препаратов гиполлипидемического действия на основе растительного сырья, которые соединяли бы указанные виды активности при минимальных токсических проявлениях.

Цель исследования – изучить гиполлипидемическую активность новой фитокомпозиции (комбинация сухих экстрактов листьев шелковицы белой (*Morus alba* L.), створок фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.), побегов черники обыкновенной (*Vaccinium myrtillus* L.) на модели гиперлипидемии у крыс.

Эксперимент проводили на белых нелинейных крысах-самцах массой 280–320 г. Модель гиперлипидемии воспроизводили внутрибрюшинным введением детергента твин-80 в дозе 200 мг/100 г массы тела. С целью предупреждения развития гиперлипидемии животные получали внутрижелудочно ежедневно в течение 10 дней новую композицию или референтный препарат – кислоту никотиновую (25 мг/кг). Через 9 ч после последнего введения исследуемых препаратов животных выводили из эксперимента и проводили забор крови для биохимических исследований. В сыворотке крови спектрофотометрически определяли: общие липиды, общий холестерин, холестерин липопротеинов высокой плотности и триацилглицеролов. Также рассчитывали концентрацию холестерина липопротеинов низкой и очень низкой плотности, коэффициент атерогенности. Проводили статистическую обработку полученных результатов.

В результате исследования было установлено, что у животных группы модельной патологии наблюдалось достоверное увеличение уровня всех оцениваемых показателей по сравнению с интактным контролем. При введении фитосредства исследуемые показатели были достоверно ниже, чем в группе контрольной патологии, коэффициент атерогенности при этом снижался на 29,27 %. Важно отметить, что большинство показателей не отличались от таковых в референс группе, а по степени снижения содержания ОЛ, ХС ЛПОНП и ТГ превосходили эффект препарата сравнения.

Таким образом, установлено, что новая фитокомпозиция при 10-дневном внутрижелудочном введении оказывает положительное влияние на спектр липидов в сыворотке крови животных с экспериментальной гипергликемией. По гиполипидемической активности новое фитосредство не уступает препарату сравнения – кислоте никотиновой, а по степени снижения содержания ОЛ, ХС ЛПОНП и ТГ превосходит его. Полученные результаты указывают на перспективу дальнейших исследований относительно возможности использования новой фитокомпозиции для профилактики и лечения дислипидотеинемии, в том числе при СД.

Ключевые слова: гиполипидемическое действие, шелковица белая (*Morus alba* L.), фасоль обыкновенная (*Phaseolus vulgaris* L.), черника обыкновенная (*Vaccinium myrtillus* L.), фитокомпозиция

A. I. Dub, I. M. Klishch, L. V. Vronska, I. P. Stechyshyn

An influence of new phytocomposition on the blood lipid spectrum under the model of hyperlipidemia in rats

Disturbance of lipid metabolism and dyslipoproteinemia play a leading role in the pathogenesis of cardiovascular diseases, including atherosclerotic complications in diabetes mellitus, in which dyslipoproteinemia is combined with hyperglycemia. The presence of antioxidant properties and corrective effect on the lipid spectrum of blood in some phytopreparations, in addition to hypoglycemic activity, has significant advantages over existing synthetic drugs for the treatment of diabetes and its complications. Taking this into account, the actual task of pharmacology and pharmacy is the development of lipid-lowering drugs on the basis of plant raw materials, which would combine these types of activity with minimal toxic manifestations.

The purpose of the study was to investigate the lipid-lowering activity of a new phytocomposition (combination of dry extracts of white mulberry (*Morus alba* L.) leaves, common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) shells and blueberry sprouts (*Vaccinium myrtillus* L.) in a model of hyperlipidemia in rats. The experiment was performed on white non-linear male rats weighing 280–320 g. The hyperlipidemia model was reproduced by intraperitoneal injection of the detergent Tween-80 at a dose of 200 mg/100 g of body mass. In order to prevent the development of hyperlipidemia, animals received intragastric daily for 10 days a new phytocomposition or reference drug – nicotinic acid (25 mg/kg). 9 h after the last administration of the test preparations, the animals were withdrawn from the experiment and blood was taken for biochemical studies. Serum levels of total lipids, total cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol and triacylglycerols were determined spectrophotometrically. A concentration of low and very low density lipoprotein cholesterol, a coefficient of atherogenicity were calculated. Statistical processing of the results was carried out.

As a result of the study, it was found that in the animals of the group of model pathology, there were significant increase in the level of all evaluated parameters in comparison with the intact control. When phytocomposition was administered, the parameters were significantly lower than in the control pathology group, the atherogenic coefficient decreased by 29,27 %. It is important to note that most of the indices did not differ from those in the reference group, and phytocomposition exceeded the effect of comparison drug in terms of decrease in total lipids, cholesterol of very low density lipoprotein and triacylglycerols levels.

Thus, it has been established that a new phytocomposition under condition of its 10-day intragastric administration has a positive effect on the serum lipid spectrum of animals with experimental hyperglycemia. According to lipid-lowering activity, the new phytocomposition is not inferior to the comparison drug – nicotinic acid and exceeds it in terms of decrease in total lipids, cholesterol of very low density lipoprotein and triacylglycerols levels.

The results obtained point to the prospect of further research on the possibility of new phytocomposition use for the prevention and treatment of dyslipoproteinemia, including those under diabetes mellitus.

Key words: hypolipidemic action, mulberry white (*Morus alba* L.), bean common (*Phaseolus vulgaris* L.), blackberry common (*Vaccinium myrtillus* L.), phytocomposition

Надійшла: 18 червня 2018 р.

Контактна особа: Дуб А. І., асистент, кафедра управління та економіки фармації з технологією ліків, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України», буд. 1, майдан Волі, м. Тернопіль, 46001. Тел.: + 38 0 352524492.
Електронна пошта: dub_aih@tdmu.edu.ua

В. В. Рогозін¹, С. П. Завертіленко², О. О. Хавич¹, Н. І. Шарикіна¹

Протипухлинна активність похідного хіназоліну – 2-(3-аліл-4-оксо-3,4-дигідро-хіназолін-2-ілсульфаніл)-N-(2,6-дихлорофеніл)-ацетаміду на гетеротрансплантатах недрібноклітинного раку легенів людини

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

²Київський міський онкологічний центр

Ключові слова: гетеротрансплантати недрібноклітинного раку легенів людини, підкапсульний тест, похідне хіназоліну – 2-(3-аліл-4-оксо-3,4-дигідро-хіназолін-2-ілсульфаніл)-N-(2,6-дихлорофеніл)-ацетамід

Як відомо, традиційна хіміотерапія злоякісних новоутворень недостатньо диференціює впливи на нормальні та злоякісні клітини, що зумовлює її значні токсичні ефекти щодо організму, його органів і систем, особливо з високим рівнем проліферативної активності.

Сучасний прогрес у розумінні клітинних, молекулярних і генетичних аспектів пухлинного росту дозволив знайти та клінічно оцінити більш специфічні підходи до можливих впливів на злоякісний ріст [1]. Ці підходи ґрунтуються на особливостях злоякісних пухлин – дерегуляції проліферативних процесів, гіперекспресії факторів росту та їхніх рецепторів, мутаціях певних генів, що дозволяє визначити можливі мішені для спрямованої терапії [1–3]. Для більшості злоякісних пухлин епітеліального походження характерна активація факторів росту та їхніх рецепторів. Враховуючи цей феномен, саме рецептор епідермального фактора росту, його каскад передачі мітогенних сигналів стали первинною мішенню протипухлинної терапії [4–8]. Одним з перших таргетних препаратів стало похідне хіназоліну Ерлотиніб – інгібітор експресії рецептора епідермального фактора росту (EGFR), його тирозинкінази [2]. Застосування Ерлотинібу в клінічній практиці дозволило подвоїти виживання пацієн-

тів з недрібноклітинним раком легенів за особливого генетичного варіанту цієї форми злоякісного росту [9].

У ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» здатність похідного хіназоліну Празозину гальмувати пухлинний ріст була відмічена в 1990-і роки [10]. У цей час в Інституті створено значну кількість похідних хіназоліну, необхідних для пошуку вітчизняного препарату з активністю за недрібноклітинного раку легенів людини, що не поступається за протипухлинною ефективністю Ерлотинібу [6]. У процесі досліджень відмічено сполуку 2-(3-аліл-4-оксо-3,4-дигідро-хіназолін-2-ілсульфаніл)-N-(2,6-дихлорофеніл)-ацетамід [11], яка має протипухлинну дію [9]. Цей ефект сполуки вищий ніж в Ерлотинібу на лінії недрібноклітинного раку легенів людини (A-549, Lg IC₅₀ складає: –5,1 у разі аналогічного показника Ерлотинібу: –4,4 [12].

Мета дослідження – визначити протипухлинну активність похідного хіназоліну на ксенографтах недрібноклітинного раку легенів людини в підкапсульному тесті (клінічний матеріал).

Матеріали та методи. Гетеротрансплантацію клінічного пухлинного матеріалу проводили під капсулу нирок мишей лінії СВА за методом А. Е. Vorden [13]. Маса тварин – 20,0–22,0 г, самці. Кількість тварин у дослідних групах – 7, у контролі – 32. Клінічний матеріал одержували з Київського міського клінічного онкологічного центру з гістологічною верифікацією діагнозу (недрібноклітинний рак легенів людини). Після резекції пухлини поміщали в

15 мл середовища 199 для зберігання й обробки, розрізали на фрагменти масою 1 мг. Досліджуваних тварин вводили в наркоз кетаміном (5 % розчин) з розрахунку 5 мг/кг маси тіла тварини, внутрішньоочередовинно [15]. На лівому боці миші видаляли шерсть, дезинфікували шкіру та проводили розріз від задньої кінцівки до передньої, шматочки пухлин трансплантували під капсулу нирки, рану заклеювали клеєм БФ-6. Через 3 доби перевіряли наявність пухлин, після чого починали введення сполуки *per os* (29,3 мг/кг), що еквімолярна відповідній дозі Ерлотинібу, протягом трьох днів. Сполуку розчиняли в крохмальному клейстері з попереднім додаванням DMSO, об'єм введення – 0,5 мл.

Ефективність похідного хіназоліну оцінювали через 7 днів після гетеротрансплантації пухлинних фрагментів. Регресію пухлин розраховували за співвідношенням маси пухлини в дослідній і контрольній групах. Пухлину вважали чутливою до сполуки, якщо її маса зменшувалася на 25,0 % і більше порівняно з масою пухлин у контрольних тварин.

Визначення чутливості пухлини до БАР за методом А. Е. Bogden [13] використовують для оцінки традиційних цитостатиків, які здатні впливати на пухлинні клітини, що вже діляться. Ми вперше спробували використати цей метод щодо таргетної сполуки, яка за механізмами дії порушує передачу мітогенних сигналів на геном і запобігає вступу пухлинних клітин у мітотичний

цикл [16]. Доцільність зробити таку спробу зумовила здатність активної таргетної сполуки давати виражений протипухлинний ефект на епідермоїдній карциномі легенів Льюїс (миші лінії C 57BL/6), яка використовується для оцінки протипухлинної дії традиційних цитостатиків [16]. Гальмування росту пухлини на 7 добу, коли відбувається оцінка ефекту за методом А. Е. Bogden, становить $\geq 25,00\%$. Одержані від клініцистів пухлини від 4 пацієнтів були додатково верифіковані в патогістологічному дослідженні як недрібноклітинний рак легенів людини. Одержані результати оброблено за допомогою MS Excel 2007 (Microsoft Office, США) з використанням *t*-критерію Стьюдента [14].

Результати та їх обговорення. Дані щодо впливу сполуки на ксенографти недрібноклітинного раку легенів людини наведено в таблиці.

Здатність сполуки гальмувати ріст ксенографтів недрібноклітинного раку легенів людини відмічено в трьох хворих (пухлина № 1 – 25,0 %, пухлина № 3 – 25,0 %, пухлина № 4 – 34,8 %). Ці показники відповідають критерію значущості ($\geq 25,0\%$ гальмування росту пухлини), що дозволяє прогнозувати активність сполуки за умов клініки. Щодо пухлини № 2, то показник активності був значно нижчим за критерій значущості (11,7%). Зазначені результати відмічені в разі проведення досліджень з пухлинами в день їхнього забору під час операції в хворих, у яких

Таблиця

Протипухлинна дія похідного хіназоліну на гетеротрансплантах недрібноклітинного раку легенів людини (підкапсульний тест), $M \pm m$

Група тварин	Пухлина № 1, мг		Пухлина № 2, мг			Пухлина № 3, мг		Пухлина № 4, мг		
	день операції	1 доба	день операції	1 доба	3 доба	день операції	1 доба	день операції	1 доба	3 доба
Дослідні групи, n = 7	1,85 ± 0,18	2,10 ± 0,13	2,05 ± 0,27	1,75 ± 0,18	2,32 ± 0,12	1,76 ± 0,21	1,57 ± 0,18	1,61 ± 0,09	1,77 ± 0,19	1,83 ± 0,02
Контроль, n = 32	2,47 ± 0,08	2,47 ± 0,08	2,47 ± 0,08	2,47 ± 0,08	2,47 ± 0,08	2,47 ± 0,08	2,47 ± 0,08	2,47 ± 0,08	2,47 ± 0,08	2,47 ± 0,08
Гальмування, %	25,0*	14,9*	11,7*	29,1*	6,0*	25,0*	36,0*	34,8*	28,3*	35,2*

Примітка. *Статистично значущі відмінності з інтактним контролем ($p < 0,05$).

діагностували недрібноклітинний рак легенів, що було підтверджено також нами в патогістологічних дослідженнях. Одержані дані свідчать про доцільність продовження досліджень цієї спрямованості для одержання матеріалу від більшої кількості хворих. Проведення досліджень у день одержання клінічного матеріалу має технічні труднощі (одержання післяопераційного матеріалу, доставка в ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», проведення трансплантацій). Ми спробували використати післяопераційний матеріал через 1, 3 доби після його зберігання в поживному середовищі.

Одержані наступні результати. У першого хворого (пухлина № 1) протипухлинний ефект сполуки значно знизився (з 25,0 до 14,9 %). У третього хворого спостерігали певне підвищення рівня протипухлинної дії (25,0 до 36,0 %). У другого хворого (пухлина № 2), де спостерігався слабкий протипухлинний ефект після пересадки ксенографтів у день операції (11,7 %), протипухлинна дія виросла до критерію значущості (1 доба – 29,1 %) з подальшим нівелю-

ванням (3 доба – 6,0 %). У четвертого хворого (пухлина № 4) протипухлинні ефекти відповідно до термінів пересадки ксенографтів були близькими: у день операції – 34,8 %, 1 доба – 28,3 %, 3 доба – 35,2 %). Одержані дані свідчать про необхідність на даний момент додержуватись рекомендацій методу: пересадка ксенографтів у день операції, орієнтуватись саме на цей ефект. Висновки щодо можливості пролонгування часу з моменту операції на 1 і 3 доби можна буде зробити за одержання більшого об'єму трансплантацій і морфологічної верифікації пухлин, що знаходились у поживному середовищі 1 і 3 доби.

Висновки

Одержані дані свідчать про високу протипухлинну активність 2-(3-аліл-4-оксо-3,4-дигідро-хіназолін-2-ілсульфаніл)-N-(2,6-дихлорофеніл)-ацетаміду в трьох хворих на недрібноклітинний рак легенів (пухлини в підкапсульному тесті, ефект вище критерію значущості: $\geq 25,0$ % гальмування пухлинного росту).

1. В фокусе внимания опухоли. Антагонисты РЭФР в лечении рака // Медицина світу. – 2008. – № 8. – К.-С. 1–14.
2. Harari P. M. Epidermal growth factor receptor inhibition strategies in oncology / P. M. Harari // Endocrine-Related Cancer. – 2004. – № 11. – P. 689–705.
3. Targeted therapy for localized non-small-cell lung cancer: a review / N. Paleiron, O. Bylickt, M. Andre [et al.] // Onco Targets and Therapy. – 2016. – P. 4099–4104.
4. Cohen Ph. Protein Kinases – The Major Drug Targets of Twenty First Century / Ph. Cohen // Nature reviews. – 2012. – V. 1. – P. 309.
5. Трансдукція мітогенних сигналів як основа створення протипухлинних таргетних препаратів. Частина I / Н. І. Шарикіна, Н. О. Мешкова, О. В. Міщенко [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2014. – № 4–5. – С. 3–10.
6. Таргетні препарати в фармакології / Н. І. Шарикіна, І. Г. Кудрявцева, О. О. Хавич [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2013. – № 1. – С. 94–97.
7. Клиническое значение рецепторов эпидермального фактора роста в злокачественных опухолях / О. Н. Костылева, Е. С. Герштейн, Р. Р. Антипова [и др.] // Вестник ТГУ. – 2014. – Т. 19. – С. 21–35.
8. Garden G. Untangling the ERB B Signalling Network / G. Garden, M. X. Slowkowski // Naure Review. Molecular Cell Biology. – 2001. – V. 25. – P. 127–137.
9. Лечение препаратом Тарцева практически удваивает выживаемость без прогрессирования при особом генетическом варианте немелкоклеточного рака легких // Онкология. – 2013. – № 2. – С. 305–306.
10. Вплив стану нейромедіаторних систем на пухлинний ріст і ефективність протипухлинних та антиметастазних засобів / Н. І. Шарикіна, В. М. Овруцький, Л. О. Громов [та ін.] // Державний комітет України з питань науки і технологій, Державний фонд фундаментальних досліджень. Конкурсні проекти науково-дослідних робіт 1994–1995 рр. Анотація. Розділ 5 (5.3/313 «Біологія»). – Київ, 1995.
11. Пат. 111432 UA, МПК (2016.01) A61K 31/517, A61P 35/00, C07D 239/72, C07D 243/34. 2-(3-аллїл-4-оксо-3,4-дигідрохіназолін-2-їл-сульфонїл)-N-(2,6-дихлорфенїл)-ацетамїд, що має протипухлинну дію / Шарикіна Н. І., Демченко А. М., Бобкова Л. С., Мешкова Н. О., Кельш Я. П., Міщенко О. В. ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України». – № а 2015 00282; заявл. 15.01.2015; опубл. 25.04.2016, Бюл. № 8.
12. Цитостатична дія α -адреноблокаторів – похідних хіназоліну / Н. О. Мешкова, О. В. Міщенко, Н. І. Шарикіна [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2015. – № 4–5. – С. 65–68.

-
13. Bogden A. E. The subrenal capsule assay (SRCA) and its predictive value in oncology / A. E. Bogden // *Annales Chirurgiae et Gynaecologiae. Supplementum*. – 1985. – V. 199. – P. 12–27.
 14. Урбах В. Ю. Математическая статистика для биологов и медиков / В. Ю. Урбах. – Москва : Изд. АН СССР, 1963. – 324 с.
 15. Руководство по анестезиологии; под ред. А. А. Бунятяна. – Москва : Медицина, 1994. – 656 с.
 16. Противоопухолевая активность α -адреноблокаторов – производных хиназолина / Н. О. Мешкова, О. В. Мищенко, Н. И. Шарыкина, С. И. Пенделюк // *Експериментальна та клінічна медицина*. – 2015. – № 3. – С. 26–29.

В. В. Рогозін, С. П. Завертіленко, О. О. Хавич, Н. І. Шарикіна
Протипухлинна активність похідного хіназоліну – 2-(3-аліл-4-оксо-3,4-дигідро-хіназолін-2-ілсульфаніл)-N-(2,6-дихлорофеніл)-ацетаміду на гетеротрансплантатах недрібноклітинного раку легенів людини

Уперше проведено дослідження таргетного (молекулярно спрямованого) похідного хіназоліну за методом А. Е. Bogden, який раніше використовували для оцінки протипухлинної дії традиційних цитостатиків.

Показано, що таргетна сполука 2-(3-аліл-4-оксо-3,4-дигідро-хіназолін-2-ілсульфаніл)-N-(2,6-дихлорофеніл)-ацетамід має протипухлинну дію в підкапсульному тесті (ксенографти недрібноклітинного раку легенів людини під капсулою нирки мишей лінії СВА). Ця активність була на рівні або вище критерію значущості ($\geq 25\%$ гальмування пухлинного росту) відносно до пухлин трьох пацієнтів. Отримані дані свідчать про перспективу використання цього підходу для прогнозування активності сполуки в хворих на недрібноклітинний рак легенів.

Ключові слова: гетеротрансплантати недрібноклітинного раку легенів людини, підкапсульний тест, похідне хіназоліну – 2-(3-аліл-4-оксо-3,4-дигідро-хіназолін-2-ілсульфаніл)-N-(2,6-дихлорофеніл)-ацетамід

В. В. Рогозин, С. П. Завертиленко, О. А. Хавич, Н. И. Шарыкина
Противоопухолевая активность производного хиназолина – 2-(3-алил-4-оксо-3,4-дигидро-хиназолин-2-илсульфанил)-N-(2,6-дихлорофенил)-ацетамида на гетеротрансплантатах немелкоклеточного рака легких человека

Впервые проведено исследование таргетного (молекулярно направленного) производного хиназолина по методу А. Е. Bogden, который ранее использовали для оценки противоопухолевого действия традиционных цитостатиков. Показано, что 2-(3-алил-4-оксо-3,4-дигидро-хиназолин-2-илсульфанил)-N-(2,6-дихлорофенил)-ацетамид обладает противоопухолевым действием в подкапсульном тесте (ксенографты немелкоклеточного рака легких человека под капсулой почки мышей линии СВА). Эта активность была на уровне или выше критерия значимости ($\geq 25\%$ торможения опухолевого роста) по отношению к опухолям трех пациентов. Полученные данные свидетельствуют о перспективе использования этого подхода для прогнозирования активности соединения в условиях клиники (больные с немелкоклеточным раком легких).

Ключевые слова: гетеротрансплантаты немелкоклеточного рака легких человека, подкапсульный тест, производное хиназолина – 2-(3-алил-4-оксо-3,4-дигидро-хиназолин-2-илсульфанил)-N-(2,6-дихлорофенил)-ацетамид

V. V. Rogozin, S. P. Zavertilenko, O. O. Khavych, N. I. Sharykina
Antitumor activity of quinazoline derivative – 2-(3-allyl-4-oxo-3,4-dihydro-quinazolin-2-ilsulfanyl)-N-(2,6-dichlorophenyl)acetamide on heterotransplants of human non-small cell lung cancer

Previously A. E. Bogden method was used to evaluate the antitumor effects of traditional cytostatics. We first conducted research of target (molecularly directed) quinazoline derivative by this method. It has been shown that the target compound 2-(3-allyl-4-oxo-3,4-dihydro-quinazolin-2-ilsulfanyl)-N-(2,6-dichlorophenyl)-acetamide has antitumor activity in the subcapsule tests (xenografts of non-small cell lung cancer of the human under the capsule of the kidney of the mice line CBA). This activity was at the level or above the significance criterion ($\geq 25\%$ of tumor growth inhibition) as to the tumors of three patients. The data obtained indicate the prospect of using this approach for predicting the activity of the compound in patients with non-small cell lung cancer.

Key words: heterotransplants of non-small cell lung cancer of the human, subcapsule test, quinazoline derivative – 2-(3-allyl-4-oxo-3,4-dihydro-quinazolin-2-ilsulfanyl)-N-(2,6-dichlorophenyl)-acetamide

Надійшла: 30 серпня 2018 р.

Контактна особа: Рогозін В. В., ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ, буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03680. Тел.: + 38 0 67 910 53 91.

Л. О. Чайка¹, Т. В. Деєва¹, Н. С. Нікітіна¹, О. В. Тимченко¹,
В. В. Лібіна¹, Т. В. Андріанова¹, О. П. Безугла²

Експериментальне дослідження фармакологічної активності назального спрею мометазону з оксиметазоліном

¹Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції», м. Харків

²Державна наукова установа «Науково-технологічний комплекс "Інститут монокристалів" Національної академії наук України», м. Харків

Ключові слова: мометазон, оксиметазолін, спрей назальний, гострий риніт, хронічний риніт, протизапальна активність, аденоміметична активність

Алергічний риніт – запальний процес слизової оболонки носа внаслідок IgE-залежної алергії – належить до числа найпоширеніших захворювань, на яке страждає 20–30 % населення [1, 2]. Для його лікування застосовують місцеві глюкокортикоїдні препарати, що впливають на основні ланки патогенезу захворювання завдяки їхній анти-алергічній і протизапальній активності, створюючи адекватні концентрації в слизовій носа й забезпечуючи контроль симптомів алергічного риніту з мінімальним ризиком системних побічних ефектів [3–8]. Один з топічних глюкокортикоїдів для лікування алергічного риніту – мометазону фуруат, інноваційний препарат якого Назонекс®, спрей назальний дозований («Schering-Plough Labo N. V.») включений до Державного Формуляра лікарських засобів України [9–11]. Терапію певних форм алергічних ринітів доповнюють місцевими α_2 -адреноміметиками (деконгестантами) [12, 13] для більш значного зменшення набряку слизової та закладеності носа в результаті синергізму вазоконстрикторного ефекту деконгестантів і глюкокортикоїдів, який в останніх опосередкований як через адренергічні механізми впливу на гладенькі м'язи, так і через вплив на вазоактивні медіатори запалення (простагландини, брадікінін) [14].

Мета дослідження – вивчення протизапальної та аденоміметичної активності комбінованого назального спрею мометазону з оксиметазоліном.

Матеріали та методи. Дослідження виконане в зимовий період на 49 білих щурах-самцях масою 220–330 г і 6 кролях масою 1,6–3,2 кг, яких утримували на стандартному раціоні за умов вільного доступу до питної води, за постійної вологості та температурного режиму відповідно до «Науково-практичних рекомендацій з утримання лабораторних тварин» [15].

Дослідження, схвалені Комітетом з біоетики ДП «ДНЦЛЗ», виконували відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» [16] та Європейської конвенції щодо захисту тварин, які використовуються для наукових цілей [17].

У дослідженні використовували розроблений у Лабораторії технології і аналізу лікарських засобів ДНУ «НТК «ІМК» НАНУ» спрей назальний дозований, який містить мометазону фуруат (50 мкг/100 мкл = 50 мкг/доза) й оксиметазоліну гідрохлорид (50 мкг/100 мкл = 50 мкг/доза).

Для порівняння використовували Назонекс®, спрей назальний («Schering-Plough Labo N.V.») і Називін, краплі назальні («Merck KGaA»), що містять такі самі концентрації активних речовин.

Досліджувані препарати вводили щурам інтраназально у вигляді розчинів, що становлять уміст відповідних спрею/крапель, за допомогою шприца, що забезпечувало індивідуальне дозу-

вання лікарських речовин відповідно до маси тіла кожної експериментальної тварини.

Статистичну обробку результатів проводили загальноприйнятими в фармакології методами [18, 19].

Протизапальну активність порівнюваних препаратів оцінювали за впливом на гістоструктуру слизової носових ходів щурів на моделях катаральних ринітів: гострого формалін-індукованого [20] і хронічного декстран-індукованого з алергічним компонентом [21]. Контролем були інтактні (загальний контроль) і неліковані щури з патологією.

Гострий формалін-індукований риніт викликали одноразовим введенням в кожну ніздрю 0,02 мл 7,5 % розчину формаліну. Щурам дослідних груп відразу після індукції патології вводили в кожну ніздрю по 0,02 мл розчину препаратів «Мометазон з оксиметазоліном» і «Назонекс®», 1 раз/добу протягом 7 днів. На 8 добу експерименту проводили евтаназію щурів усіх груп, виділяли верхньобокові ділянки носової порожнини разом з перегородками, які піддавали гістологічному дослідженню згідно з [22]. Світлооптичне дослідження мікропрепаратів проведення з використанням мікроскопа Magnum-TPL і цифрової камери для мікроскопа SIGETA. Для перегляду, збереження та обробки статичних зображень камери для мікроскопа використовували програмне забезпечення TourView. Оскільки характерною ознакою катарального запалення слизової носа є зростання числа келихоподібних клітин в епітеліальних шарах [23, 24], підраховували число келихоподібних клітин у респіраторно-му епітелії в полі зору.

Хронічний декстран-індукований риніт з алергічним компонентом викликали в щурів введенням в кожну ніздрю 0,02 мл 6 % розчину декстрану 1 раз/добу на 2, 3, 4, 8, 9 і 10 добу експерименту. Щурам дослідних груп на тлі введення декстрану вводили в кожну ніздрю по 0,02 мл розчину препаратів «Мометазон з оксиметазоліном» і «Назонекс®», 1 раз/добу з 2 доби експерименту. На 18 добу проводили евтаназію щурів усіх груп, виділяли

верхньобокові ділянки носової порожнини разом з перегородками. Зразки для гістології готували та вивчали, як описано вище.

Адренергічну активність порівнюваних препаратів оцінювали за збільшенням діаметра зіниці (мідріаз) кролів після інстиляції одноразово в кожне око по 0,06 мл (= 2 краплі), який реєстрували за допомогою виміральної шкали на щільній лампі ШЛ-2Б [25]: до початку дослідження (вихідний рівень) і через 15, 30, 45 хв, 1, 2, 3, 4, 5 і 6 год після інстиляції. Мідріатичний ефект розраховували в кожного кроля за формулою: $(D_t - D_0)/D_t \cdot 100\%$, де D_0 і D_t – діаметри зіниці до інстиляції (вихідний рівень) і в певний час t після інстиляції. Розраховували сумарний мідріатичний ефект препаратів як площу під кривою «час-ефект» методом трапецій.

Результати та їх обговорення.

Протизапальна активність за гострого формалін-індукованого риніту в щурів

Інтактний контроль. Пристінок носа вистелено багатшаровим плоским зроговілим епітелієм. Роговий шар тонкий, компактний, ядра епітеліоцитів лежать, як правило, у 2–3 ряди. Тонка власна пластинка містить незначну кількість судин і залоз (рис. 1а). Дистальніше від ороговілого епітелію лежить невисокий кубічний респіраторний мікрворсинчастий епітелій (перехідний) без війчастих клітин з невеликим числом келихоподібних клітин та слизових включень (рис. 1б). Кубічний респіраторний мікрворсинчастий епітелій поступово переходить у багаторядний циліндричний війчастий з добре вираженою облямівкою та достатнім вмістом келихоподібних клітин ($5,26 \pm 0,28$ екз.; табл. 1), рівномірно розподілених по всій довжині епітеліального пласта (рис. 1в). Сполучна тканина містить численні залози з помірно функціональною активністю, протоки вистелені кубічними клітинами, просвіти вільні.

Строма помірно інфільтрована лейкоцитами, судини рідко містять кров. Дорсальна поверхня носової перетинки вистелена нюховим епітелієм з

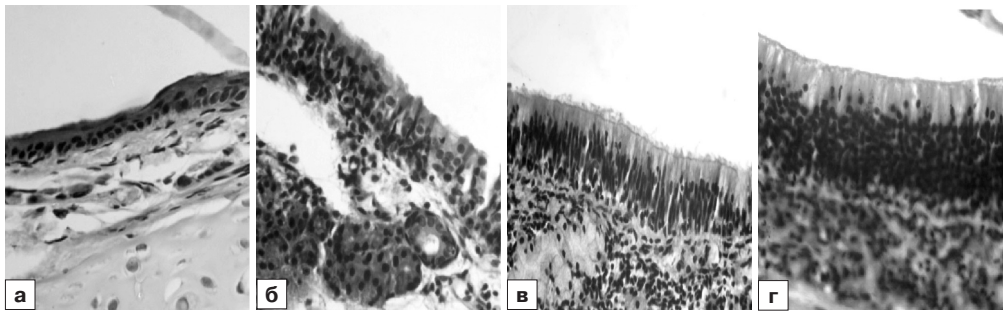


Рис. 1. Ділянки носових ходів інтактних щурів. Зроговілий епітелій пристінка носа (а). Кубічний мікрворсинчастий епітелій з незначним вмістом келихоподібних клітин (б). Респіраторний епітелій з вираженою облямівкою (в). Нюховий епітелій (г). Гематоксилін/еозин, $\times 400$

декількома рядами густо розташованих ядер (рис. 1г). У власній пластинці визначаються Боуменові залози. Таким чином, носові ходи інтактних щурів не мають мікроскопічних ознак запалення.

Нелікований контроль. Інтраназальне введення щурам 7,5 % розчину формаліну викликає зміни морфологічної структури носових ходів, характерні для катарального риніту. Перш за все, достовірно зростає число ($18,08 \pm 1,10$) екз., або в 3,5 разу вище, ніж в інтактному контролі (табл. 1) і активність келихоподібних клітин, які починають переважати на деяких ділянках респіраторного епітелію; останній ослизнюється, втрачає вертикальну анізоморфність будови (рис. 2а). Зростає також активність залоз строми, секреторні відділи яких втрачають впорядкованість будови, їхні протоки розтягнуті, вистелені сплосченим епітелієм, просвіти містять секрет. Результатом

гіперсекреції слизу келихоподібними клітинами й залозами є формування слизових кіст (рис. 2б), що на деяких ділянках призводить до оголення строми, так як епітелій «сповзає» разом зі слизом (рис. 2в).

Гіперпродукція слизу супроводжується зниженням числа війчастих клітин, вогнищевою редукцією та злипанням війок, що порушує кліренс носової порожнини (рис. 2а, 3в). У відповідь розвивається запальна реакція. Лейкоцитарні інфільтрати (переважно нейтрофіли) визначаються повсюдно: у вигляді гнійних мас – у просвіті носової порожнини (рис. 3); у вигляді груп з 3–4 клітин – інтраепітеліально (рис. 3б); дифузно або у вигляді скупчень у кістозних розширеннях на місці залоз – у стромі (рис. 3б). Інстиляція формаліну викликає також варіабельні порушення структури перехідного, безвійчастого кубічного епітелію. Вогнищево відзначається слизова метаплазія з появою

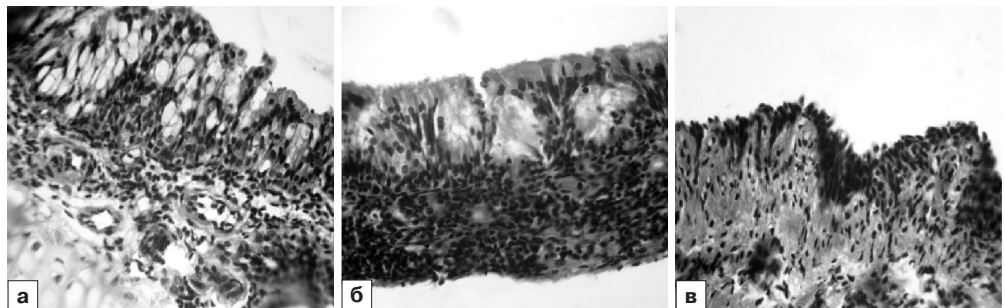


Рис. 2. Ділянки носових ходів щурів з гострим формалін-індукованим ринітом (нелікований контроль). Значне збільшення числа келихоподібних клітин у респіраторному епітелії, втрата анізоморфності, облямівка відсутня (а). Слизові кісти в респіраторному епітелії (б). «Сповзання» епітелію й оголення строми (в). Гематоксилін/еозин, $\times 400$

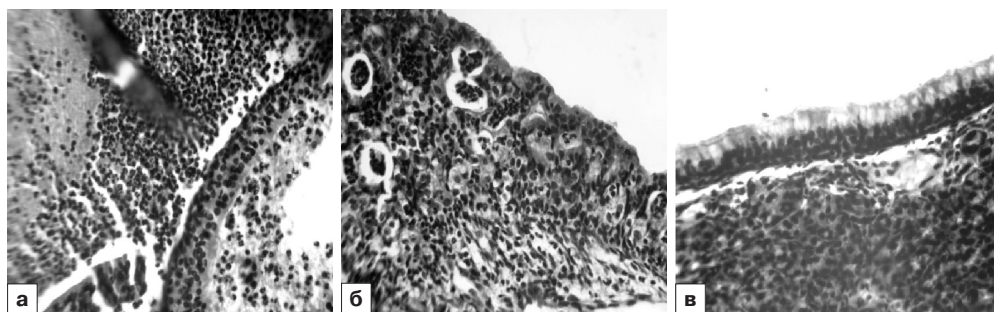


Рис. 3. Ділянки носових ходів щурів з гострим формалін-індукованим ринітом (нелікований контроль). Густі нейтрофільні інфільтрати субепітеліально й у порожнині носа (а). Невеликі скупчення нейтрофілів інтра- та субепітеліально (б). Слизова метаблазія кубічного миготливого епітелію (в). Гематоксилін/еозин, $\times 400$

великого число келихоподібних клітин, які в нормі відсутні чи поодинокі (рис. 3в).

На невеликих ділянках епітелії піддається плоскоклітинній метаблазії – на апікальній поверхні пласта з'являються сплюснені клітини з горизонтальними ядрами (рис. 4а).

Плоский зроговілий епітелій сильно гіперплазований за рахунок збільшення рядності клітин і потовщення рогового шару, крім того збільшується товщина власної пластинки слизової. В епітеліоцитах зустрічаються фігури мітозу та відзначаються дистрофічні зміни – перинуклеарна вакуолізація (рис. 4б). Інтраназальне введення формаліну не порушує структуру нюхового епітелію.

Назальний спрей мометазону з оксиметазоліном. Інтраназальні інстиляції щурам з гострим формаліновим ринітом назального спрею мометазону з оксиметазоліном чинять виразний протизапальний ефект: знижуються лейкоцитарна

інфільтрація та число келихоподібних клітин до інтактного рівня (табл. 1), нормалізується функціональна активність слизових залоз, вистилаючий епітелій має характерну структуру, облямівка зберігає цілісність протягом усього епітеліального пласта (рис. 5а, б). Вакуольна дистрофія клітин зроговілого епітелію ще зустрічається, але в поодиноких клітинах (рис. 5в).

Назонекс[®], спрей назальний. Повторні інтраназальні інстиляції щурам з формалін-індукованим ринітом препарату порівняння також чинять протизапальний ефект, подібний за виразністю до назального спрею мометазону з оксиметазоліном, який полягає в значному зменшенні порушень структури носових ходів тварин (рис. 6) і достовірному зниженні числа келихоподібних клітин до рівня інтактних щурів і без достовірних відмінностей з групою щурів, які отримували назальний спрей мометазону з оксиметазоліном (табл. 1).

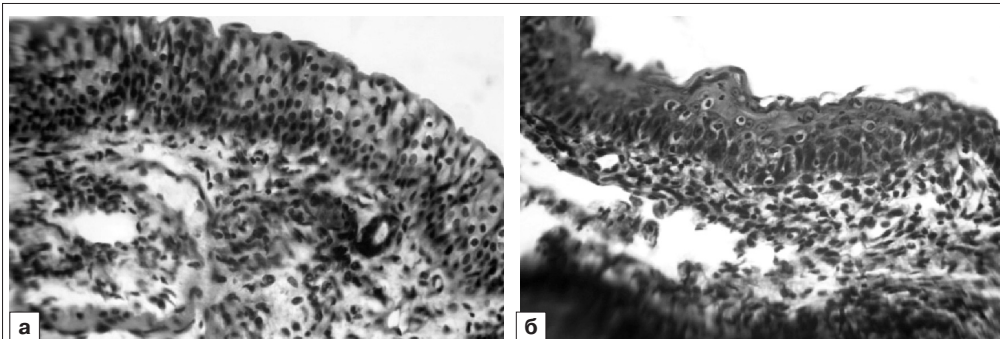


Рис. 4. Ділянки носових ходів щурів з гострим формалін-індукованим ринітом (нелікований контроль). Плоскоклітинна метаблазія епітелію (а). Гіперплазія зроговілого епітелію, вакуольна дистрофія епітеліоцитів (б). Гематоксилін/еозин, $\times 400$

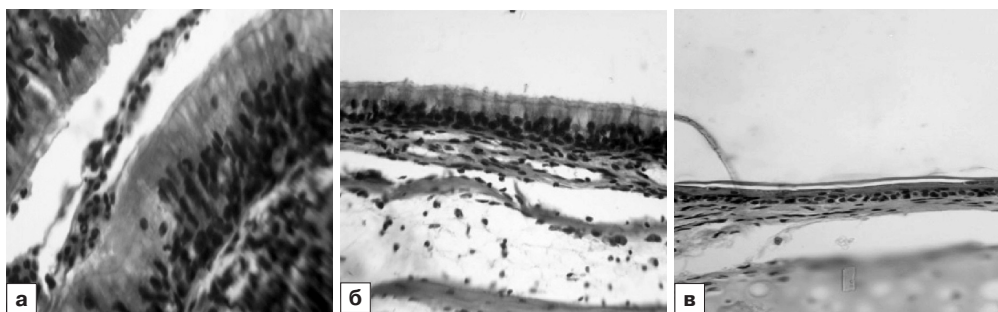


Рис. 5. Ділянки носових ходів щурів з гострим формалін-індукованим ринітом, лікованих назальним спреєм мометазону з оксиметазоліном. Респіраторний епітелій нормальної будови зі збереженою облямівкою, незначна лейкоцитарна інфільтрація на поверхні епітелію (а). Кубічний епітелій з низьким вмістом келихоподібних клітин (б). Нормальна будова плоского зроговілого епітелію (в). Гематоксилін/еозин, $\times 400$

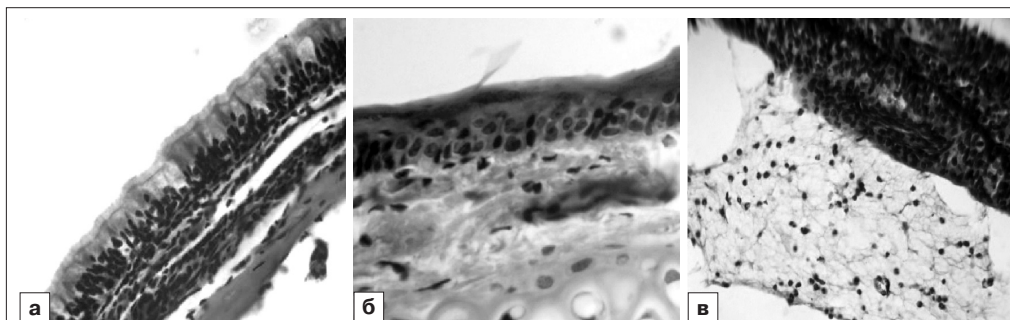


Рис. 6. Ділянки носових ходів щурів з гострим формалін-індукованим ринітом, лікованих назальним спреєм Назонекс®. Наближена до норми будова респіраторного (а) та плоского зроговілого (б) епітелію. Незначні лейкоцитарні інфільтрати в порожнині носа (в). Гематоксилін/еозин, $\times 400$

Протизапальна активність за хронічного декстран-індукованого риніту з алергічним компонентом

Нелікований контроль. Інтраназальне введення щурам 6 % розчину декстрану викликає зміни структури носових ходів, характерні для хронічного алергічного риніту. Спостерігаються гіперпродукція слизу, зумовлена підвищенням числа келихоподібних клітин у покривному епітелії ($12,11 \pm 0,89$) екз., або в 2,3 рази вище, ніж в інтактному контролі (табл. 2) і гіпертрофією залоз власної пластинки, слизовою метаплазією миготливого та

перехідного епітелію, який у нормі містить незначну кількість слизових клітин. Як наслідок, епітелій сильно ослизнюється, збільшується у висоту, втрачає характерні ознаки будови. Формуються інтра- і субепітеліальні слизові кісти (рис. 7). Кровоносні судини власної пластинки слизової часто розширені, заповнені плазмою (рис. 7а).

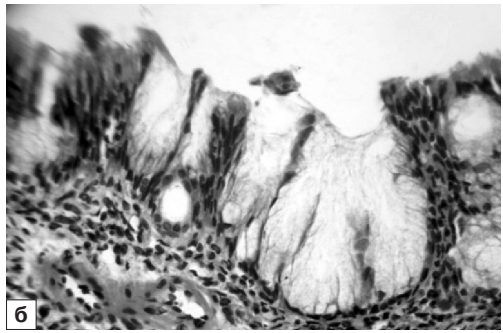
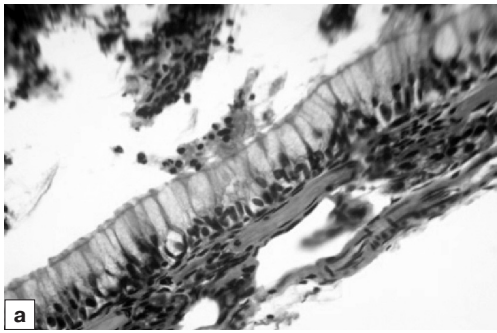
Залози нормальної будови зустрічаються рідко, знаходяться в стані дисбалансу. Вони або різко розширені, вистелені низьким епітелієм, їхні проsvіти заповнені секретом (рис. 8а), або,

Таблиця 1

Число келихоподібних клітин у респіраторному епітелії щурів з гострим формалін-індукованим катаральним ринітом за впливу назальних спреїв мометазону з оксиметазоліном і Назонекс®, $M \pm m$

Інтактний контроль	Нелікований контроль (патологія)	Мометазон з оксиметазоліном	Назонекс®
$5,26 \pm 0,28$	$18,08 \pm 1,10^*$	$6,54 \pm 0,44^{**}$	$6,37 \pm 0,39^{**}$

Примітка. Тут і в табл. 2: * $p \leq 0,05$ порівняно з інтактним контролем, ** $p \leq 0,05$ порівняно з нелікованим контролем.



а

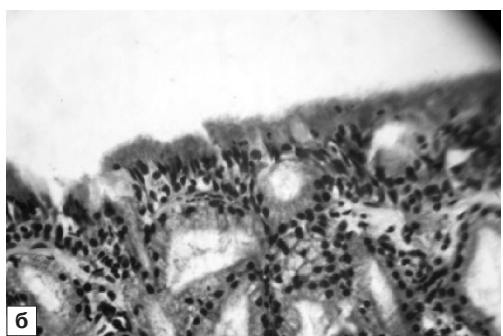
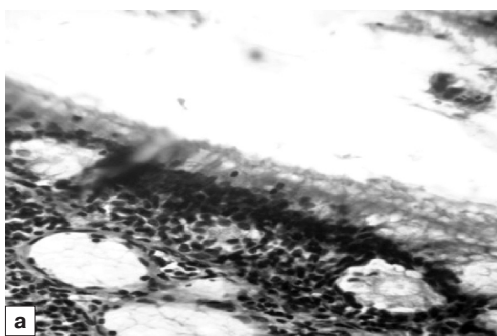
б

Рис. 7. Ділянки носових ходів щурів з хронічним декстран-індукованим ринітом (нелікований контроль). Слизова метаплазія кубічного безвійчастого епітелію, розширені й заповнені плазмою судини (а). Ослизнення респіраторного епітелію, порушення типової будови, формування слизових кіст, лімфоїдна інфільтрація власної пластинки (б). Гематоксилін/еозин, $\times 400$

навпаки, гіперактивні, вистелені високими епітеліоцитами (рис. 8б). І те, й інше сприяє набряку та набуханню слизової оболонки.

Строма інфільтрована лімфоцитами й еозинофілами. Лімфоцити визначаються також у просвіті носової

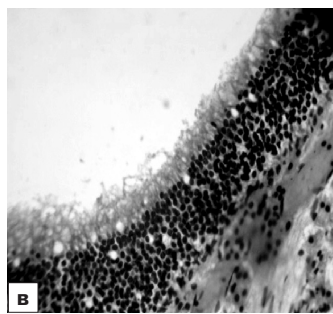
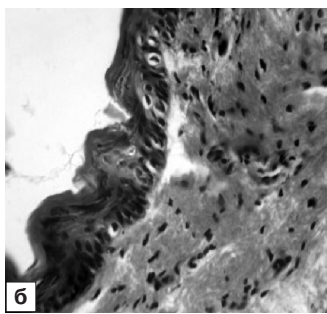
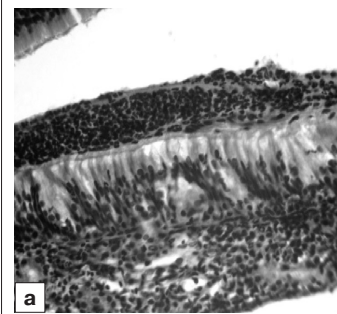
порожнини у вигляді поодиноких клітин і щільного скупчення на поверхні епітелію, облямовка якого місцями виражена нечітко або відсутня (рис. 8а, 9а). Зроговілий епітелій збільшує рядність клітин, зроговіває сильніше, ніж у нормі. Клітини базального ряду



а

б

Рис. 8. Ділянки носових ходів щурів з хронічним декстран-індукованим ринітом (нелікований контроль). Залози розтягнуті, вистелені сплюсненим епітелієм, у просвіті – секрет. Строма густо інфільтрована лімфоцитами, війки місцями склеєні (а). Залози вистелені високим активним епітелієм, просвіти зяють, облямовку не видно (б). Гематоксилін/еозин, $\times 400$



а

б

в

Рис. 9. Ділянки носових ходів щурів з хронічним декстран-індукованим ринітом (нелікований контроль). Густа лімфоїдна інфільтрація на поверхні респіраторного епітелію та субепітеліально (а). Гіперплазія плоского епітелію та вакуольна дистрофія його епітеліоцитів (б). Розпушення апікальної поверхні нюхового епітелію (в). Гематоксилін/еозин, $\times 400$

піддаються гідропічній дистрофії (рис. 9б). Спостерігається пошкодження й нюхового епітелію, апікальна поверхня якого є сильно розпушеною (рис. 9в).

Назальний спрей мометазону з оксиметазоліном. Інтраназальні інстиляції щурам з хронічним декстрановим ринітом назального спрею мометазону з оксиметазоліном чинять виразний протизапальний ефект, значною мірою попереджаючи патологічні процеси, викликані декстраном. Знижується число келихоподібних клітин (табл. 2) і слизу, що секретується ними, порівняно з нелікованим контролем; слизові кісти в миготливого епітелію не формуються. У залозах відсутні ознаки гіперфункції або застою. Мікросудини, як правило, мають нормальні розміри та помірне кровонаповнення. Війки миготливого епітелію місцями ще склеєні, але облямівка є добре вираженою протягом усього пласта (рис. 10а). Більш низький, кубічний епітелій також має

практично нормальну будову з невисоким вмістом слизових клітин, без ознак дистрофії (рис. 10б). Поодинокі клітини плоского зроговілого епітелію ще з ознаками вакуольної дистрофії, але рядність наближається до нормальної (рис. 11а). Нюховий епітелій також відновлюється, його апікальна поверхня є компактною (рис. 11б). Лімфоїдна інфільтрація стромы знижена порівняно з нелікованим контролем, але є більш помітною, ніж в інтактному контролі.

Назонекс®, спрей назальний. Повторні лікувально-профілактичні інтраназальні інстиляції щурам з декстран-індукованим ринітом назального спрею Назонекс® чинять протизапальний ефект, подібний за виразністю до назального спрею мометазону з оксиметазоліном, що полягає в значному зниженні порушень структури носових ходів тварин (рис. 12), у тому числі зменшенні числа келихоподібних клітин (табл. 2).

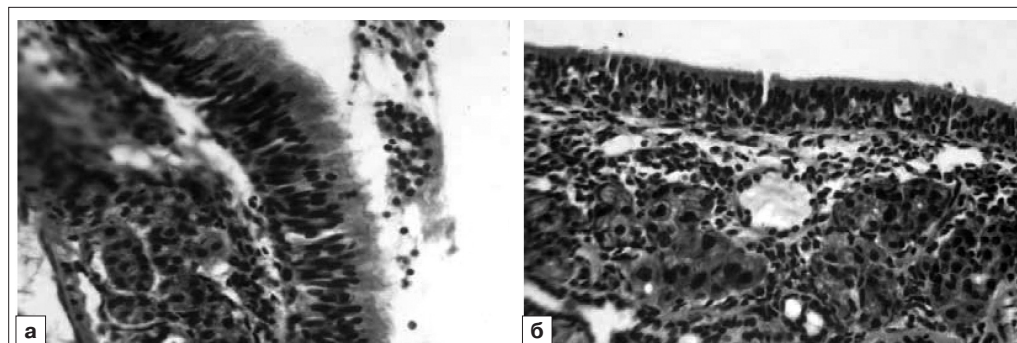


Рис. 10. Ділянки носових ходів щурів з хронічним декстран-індукованим ринітом, лікованих назальним спреєм мометазону з оксиметазоліном. Респіраторний епітелій нормальної будови, з вираженою облямівкою. Незначне скупчення лімфоцитів на поверхні епітелію (а). Нормальна будова кубічного епітелію й залоз (б). Гематоксилін/еозин, $\times 400$

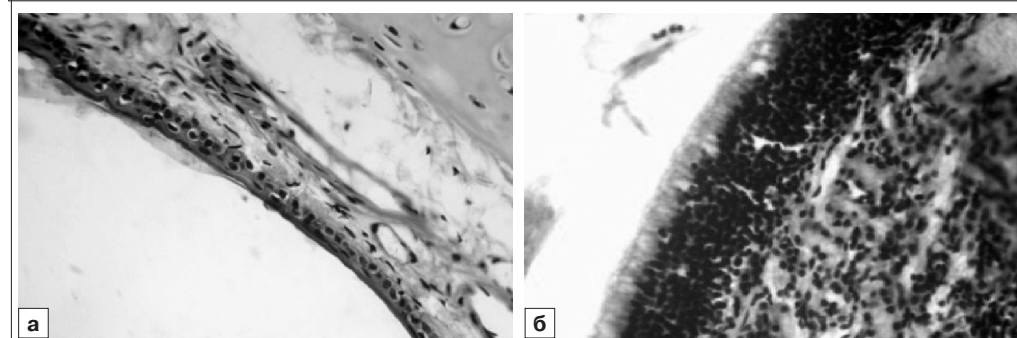


Рис. 11. Ділянки носових ходів щурів з хронічним декстран-індукованим ринітом, лікованих назальним спреєм мометазону з оксиметазоліном. Зроговілий епітелій нормальної товщини та будови, у деяких клітинах – вакуольна дистрофія (а). Нюховий епітелій нормальної будови (б). Гематоксилін/еозин, $\times 400$

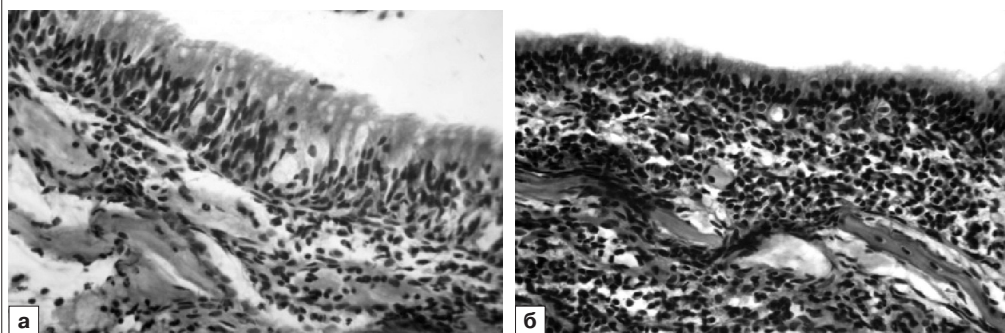


Рис. 12. Ділянки носових ходів щурів з хронічним декстран-індукованим ринітом, лікованих назальним спреєм Назонекс®. Нормальна будова респіраторного епітелію (а). Кубічний епітелій нормальної будови, посилена лімфоїдна інфільтрація строми (б). Гематоксилін/еозин, $\times 400$

Таблиця 2

Число келихоподібних клітин у респіраторному епітелії щурів з хронічним декстран-індукованим катаральним ринітом за впливу назальних спреїв мометазону з оксиметазоліном і Назонекс®, $M \pm m$

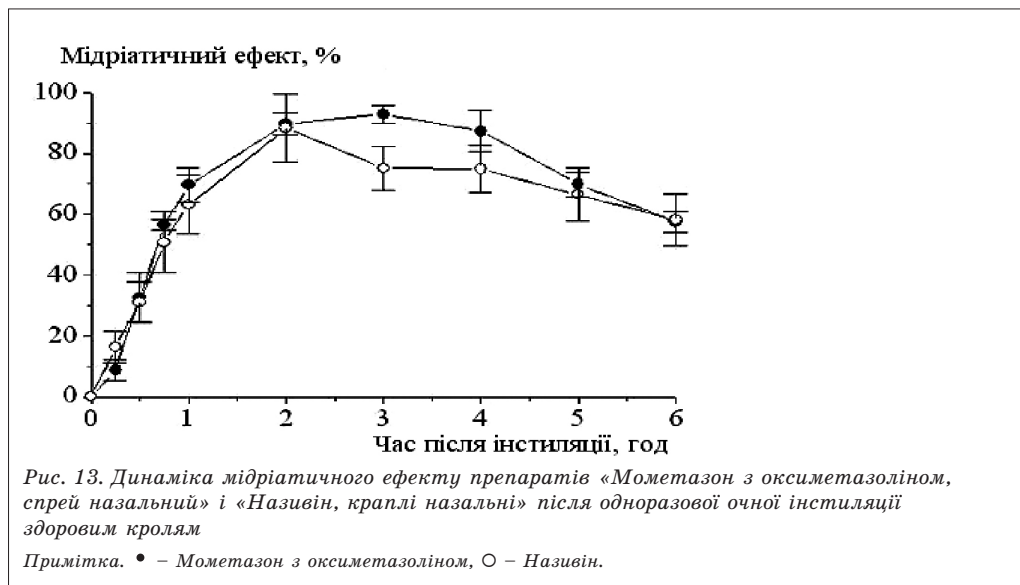
Інтактний контроль	Нелікований контроль (патологія)	Мометазон з оксиметазоліном	Назонекс®
$5,26 \pm 0,28$	$12,11 \pm 0,89^*$	$6,41 \pm 0,40^{**}$	$6,46 \pm 0,32^{**}$

Адреноміметична (мідріатична) активність

Вихідний (до інстиляції препаратів) розмір зіниці в кролів обох груп склав 5,38–5,53 мм (рис. 13). Очні інстиляції порівнюваних назальних спреїв мометазону з оксиметазоліном і Називін викликають розширення зіниці в результаті скорочення радіальних м'язів райдужної оболонки, зумовлене дією α_2 -адреноміметика оксиметазоліна

[26, 27]. Мідріатичний ефект препаратів «Мометазон з оксиметазоліном» і «Називін» проявлявся через 0,25 год після інстиляції, склавши відповідно 8,3 і 16,7 % (рис. 13), далі достовірно зростав до 32,5 і 31,0 % через 0,5 год, 56,4 і 50,7 % через 0,75 год, 69,5 і 63,1% через 1,0 год.

Максимальний ефект в групі мометазон з оксиметазоліном (92,8 %) спостерігався через 3 год, у групі Називіну



(88,3 %) – через 2 год. Надалі виразність мідріатичного ефекту препаратів знижується, склавши: через 4 год – 87,2 і 74,8%, 5 год – 69,7 і 66,4 %, 6 год – 57,3 і 58,1 %. Дещо більший мідріатичний ефект назального спрею мометазону з оксиметазоліном порівняно з краплями Називін на 3–4 год реєстрації вочевидь зумовлений синергізмом адренергічної дії його активних речовин. Сумарний мідріатичний ефект склав: Мометазон з оксиметазоліном – 435,8 % · год, Називін – 397,6 % · год. Загалом за виразністю мідріатичного ефекту порівнювані препарати суттєво не розрізняються.

Висновки

1. Назальний спрей мометазону з оксиметазоліном чинить виразні проти-запальний і адреноміметичний ефекти, що мають патогенетичну спрямованість за умов експериментального алергічного риніту та подібні за кількісною динамікою до ефектів препаратів «Назонекс®», спрей назальний» і «Називін, краплі назальні».
2. Комбіноване застосування глюкокортикоїдів і деконгестантів в одній лікарській формі може підвищити ефективність, зручність і комплаєнтність інтраназальної терапії алергічних ринітів.

1. Юрочко Ф. Алергічний риніт: шість кроків разом із пацієнтом / Ф. Юрочко // Медицина світу. Український медичний портал. – 2007. – № 2. – Режим доступу: <http://msvitu.com/archive/2007/february/article-5.php>
2. Туровский А. Б. Аллергический ринит. Диагностика и лечение / А. Б. Туровский, Н. А. Мирошниченко // Русский мед. журнал. – 2011. – № 6. – С. 3–11.
3. Алергічний риніт [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://empendium.com/ua/chapter/B27.II.17.3>.
4. Ушкалова Е. А. Интраназальные кортикостероиды в терапии аллергического ринита / Е. А. Ушкалова // Трудный пациент. – 2005. – № 6. – С. 18–23.
5. Mode of action of intranasal corticosteroids / N. Mygind, L. Nielsen, H. Hoffmann [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2001. – V. 108. – P. 16–25.
6. Mygind N. The rationale for use of topical corticosteroids in allergic rhinitis / N. Mygind, R. Dahl // Clin. Exp. Allergy. – 1996. – V. 26. – P. 2–10.
7. Туровский А. Б. Аллергический ринит: новое решение старой проблемы / А. Б. Туровский // Медицинский совет. – 2016. – № 6. – С. 44–50.
8. Лопатин А. С. Кортикостероидная терапия в лечении заболеваний носа / А. С. Лопатин // Consilium Medicum. – 2004. – Т. 6, № 4.
9. Сидоренко И. В. Опыт применения назонекса у больных аллергическим ринитом / И. В. Сидоренко, Т. В. Захаржевская // Рос. ринол. – 1999. – № 1. – С. 53–56.
10. Эффективность назонекса в лечении аллергического ринита и хронического полипозного риносинусита / А. С. Лопатин, И. В. Сидоренко, Т. В. Захаржевская [и др.] // Вестник оториноларингологии. – 2000. – № 4. – С. 60–63.
11. Державний Формуляр лікарських засобів. Вип. 10. – 2018. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.dec.gov.ua/index.php/ua/informatsijno-poshukova-sistema-elektronnij-formulyar>
12. Рязанцев С. В. Аллергический ринит – этиология, патогенез, особенности фармакотерапии. Методические рекомендации / С. В. Рязанцев. – Санкт-Петербург, 2006. – 28 с.
13. Протокол надання медичної допомоги хворим на алергічний риніт [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://www.google.com/search?q=%D0%9F%D1%80%D0%BE%D1%82%D0%BE%D0%BA%D0%BE%D0%BB+%D0%BB%D1%96%D0%BA%D1%83%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%BD%D1%8F+%D0%B0%D0%BB%D0%BB%D0%B5%D1%80%D0%B3%D1%96%D1%87%D0%BD%D0%BE%D0%B3%D0%BE+%D1%80%D0%B8%D0%BD%D1%96%D1%82%D1%83&ie=utf-8&oe=utf-8&client=firefox-b>
14. Ullian M. E. The role of corticosteroids in the regulation of vascular tone / M. E. Ullian // Cardiovascular Res. – 1999. – V. 41, Issue 1. – P. 55–64. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: [https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(98\)00230-2](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(98)00230-2)
15. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якин, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – Київ: Авіцена, 2002. – 156 с.
16. Біоетична експертиза доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах. Методичні рекомендації / О. Г. Резніков, А. І. Соловійов, Н. В. Добреля, О. В. Стефанов // Вісник фармакології та фармації. – 2006. – № 7. – С. 47–61.
17. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідницьких або інших наукових цілей від 18.03.1986: Верховна Рада України, офіційний веб-портал: Міжнародні документи (Рада Європи) [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/main?find=1&sp=i&user=c393&text=%F2%E2%E0%F0%E8%ED&x=10&y=5>.

18. Лапач С. Н. Статистические методы в биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – Киев : МОРИОН. – 2000. – 320 с.
19. Урбах В. Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях / В. Ю. Урбах. – Москва : Медицина, 1975. – 295 с.
20. Экспериментальная модель острого риносинусита у крыс для оценки терапевтической эффективности препаратов / С. В. Ходько, М. Н. Макарова, В. Г. Макаров [и др.] // Профилактическая и клиническая медицина. – 2013. – № 1. – С. 57–62.
21. Тимченко М. Д. Вибір оптимального флогогену при створенні моделі хронічного катарального риніту у щурів / М. Д. Тимченко // Фізика живого. – 2010. – Т. 18, № 3. – С. 106–112.
22. Меркулов Г. А. Курс патологистологической техники / Г. А. Меркулов. – Москва : Медицина, 1969. – 423 с.
23. Быкова В. П. Динамика катарального воспаления: автореф. дисс. на соискание ученой степени докт. мед. наук / В. П. Быкова. – Москва, 1975. – 34 с.
24. Пискунов С. З. Функциональная диагностика и лечение различных форм ринита: диссертация докт. мед. наук / С. З. Пискунов. – Москва, 2000. – 369 с.
25. Экспериментальное изучение безвредности и фармакологической активности глазных лекарственных средств. Методические рекомендации / Л. А. Чайка, О. Г. Ципкун, Т. Б. Гайдамака [и др.]. – Киев : МЗ Украины, Государственный фармакологический центр, 2003. – 43 с.
26. α -Adrenoceptor agonists induce midriasis in the cat by an action within the central nervous system / T. Berridge, B. Gadie, A. Rouch [et al.] // Brit. J. Pharmacol. – 1983. – V. 78. – P. 507–515.
27. Ocular Pharmacology / In: Goodman & Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics. 9th Ed. – P. 1619–1645.

**Л. О. Чайка, Т. В. Деева, Н. С. Нікітіна, О. В. Тимченко, В. В. Лібіна,
Т. В. Андріанова, О. П. Безугла**
**Експериментальне дослідження фармакологічної активності назального
спрею мометазону з оксиметазоліном**

Алергічний риніт – запальний процес слизової носа – одне з найпоширеніших захворювань, яким страждають 20–30 % населення. Для його лікування застосовують місцеві глюкокортикоїди й α_2 -адреноміметики (деконгестанти) для більш значного зменшення набряку слизової носа завдяки синергізму вазоконстрикторного ефекту деконгестантів і глюкокортикоїдів, який у останніх опосередкований як через адренергічні механізми впливу на гладенькі м'язи, так і через вплив на вазоактивні медіатори запалення (простагландини, брадікінін).

Мета дослідження – вивчення протизапальної та адреноміметичної активності комбінованого назального спрею мометазону з оксиметазоліном.

Встановлено, що інтраназальне введення спрею мометазону з оксиметазоліном щурам з гострим формалін-індукованим ринітом і з хронічним декстран-індукованим ринітом з алергічним компонентом має виразний протизапальний ефект, попереджаючи запально-алергічне ушкодження гістоструктури слизової носа. Очна інстиляція кролям назального спрею мометазону з оксиметазоліном викликає характерний для α_2 -адреноміметиків мідріатичний ефект, що проявлявся через 0,25 год, зростав до 0,5 год, досягав максимуму через 3,0 год і дещо знижувався до 6,0 год після інстиляції.

Протизапальний й адреноміметичний ефекти назального спрею мометазону з оксиметазоліном мають патогенетичну спрямованість, і їхнє комбіноване застосування в одній лікарській формі підвищить ефективність, зручність і комплаєнтність інтраназальної терапії алергічних ринітів.

Ключові слова: мометазон, оксиметазолін, спрей назальний, гострий риніт, хронічний риніт, протизапальна активність, адреноміметична активність

**Л. А. Чайка, Т. В. Деева, Н. С. Никитина, О. В. Тимченко, В. В. Либина,
Т. В. Андрианова, Е. П. Безуглая**
**Экспериментальное исследование фармакологической активности
назального спрея мометазона с оксиметазолином**

Аллергический ринит – воспалительный процесс слизистой носа – одно из самых распространенных заболеваний, которым страдают 20–30 % населения. В его лечении применяют местные глюкокортикоиды и α_2 -адреномиметики (деконгестанты) для более значительного уменьшения отека слизистой носа благодаря синергизму вазоконстрикторного эффекта деконгестантов и глюкокортикоидов, который у последних опосредован как через адренергические механизмы воздействия на гладкие мышцы, так и через влияние на вазоактивные медиаторы воспаления (простагландины, брадикинин).

Цель исследования – изучение противовоспалительной и адреномиметической активности комбинированного назального спрея мометазона с оксиметазолином.

Установлено, что интраназальное введение назального спрея мометазона с оксиметазолином крысам с острым формалин-индуцированным ринитом и с хроническим декстран-индуцированным ринитом с аллергическим компонентом оказывает выраженный противовоспалительный эффект,

предупреждая воспалительно-аллергическое повреждение гистоструктуры слизистой носа. Глазная инстилляционная кроля назального спрея мометазона с оксиметазолином вызывает характерный для α_2 -адреномиметиков мидриатический эффект, который проявлялся через 0,25 ч, возрастал к 0,5 ч, достигал максимума через 3,0 ч и несколько снижался к 6,0 ч после инстилляционной.

Противовоспалительный и адреномиметический эффекты назального спрея мометазона с оксиметазолином имеют патогенетическую направленность, и их комбинированное применение в одной лекарственной форме повысит эффективность, удобство и комплаентность интраназальной терапии аллергических ринитов.

Ключевые слова: мометазон, оксиметазолин, спрей назальный, острый ринит, хронический ринит, противовоспалительная активность, адреномиметическая активность

L. Chaika, T. Deeva, N. Nikitina, O. Tymchenko, V. Libina, T. Andrianova, O. Bezugla
Experimental study of the pharmacological activity of nasal spray with mometasone and oxymetazoline

Allergic rhinitis – an inflammatory process of the nasal mucosa is one of the most common diseases that affects 20–30 % of the population. For its treatment local glucocorticoids and α_2 -adrenomimetics (decongestants) are used for a more significant reduction in the edema of the nasal mucosa due to the synergism of the vasoconstrictive effect of decongestants and glucocorticoids, which in the latter is mediated both through adrenergic mechanisms of action on the smooth muscles and through the influence on the vasoactive mediators of inflammation (prostaglandins, bradykinin).

The aim of the study was to investigate the anti-inflammatory and adrenomimetic activity of the combined nasal spray of mometasone and oxymetazoline.

It was found that the intranasal application spray of mometasone and oxymetazoline to rats with acute formalin-induced rhinitis and chronic dextran-induced rhinitis with allergic component has a pronounced anti-inflammatory effect, preventing inflammatory and allergic hystostructure damage the nasal mucosa. The ocular instillation to rabbits of the spray of mometasone and oxymetazoline causes the midriatic effect characteristic of the α_2 -adrenomimetics, which manifested itself after 0,25 h, increased to 0,5 h, peaked at 3,0 h, and decreased fall slightly to 6,0 h after instillation.

The anti-inflammatory and adrenomimetic effects of the spray of mometasone and oxymetazoline have a pathogenetic orientation and their combined application in one dosage form will increase the efficacy, convenience and compliance of intranasal therapy for allergic rhinitis.

Key words: mometasone, oxymetazoline, nasal spray, acute rhinitis, chronic rhinitis, anti-inflammatory activity, adrenomimetic activity

Надійшла: 18 червня 2018 р.

Контактна особа: Чайка Л. О., кандидат медичних наук, лабораторія загальної фармакології, ДП «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції», буд. 33, вул. Астрономічна, м. Харків, 61085. Тел.: +38 0 50 595 11 02, + 38 0 67 755 51 51. Електронна пошта: lachaika@ukr.net

L. B. Bondarenko, G. M. Shayakhmetova, V. M. Kovalenko

Effects of two antituberculosis agents compositions on DNA fragmentation in Wistar albino male rats*SI «Institute of Pharmacology and Toxicology National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv*

Key words: DNA fragmentation, testes, epididymises, rat

The pharmacotherapy of tuberculosis by various combinations of antibiotics is always associated with the possibility of serious undesirable consequences development. Moreover, even knowing the long-term consequences of each individual medicines use does not allow us to foresee with confidence their effects in combination with other antituberculosis agents. On the other hand, the severity of this pathology and the duration of treatment require the most possible optimizing of the used means choice.

The aim of investigation was a comparative primary assessment of two antituberculosis medicines combinations (ATM) possible long-term consequences for male reproductive function. For this purpose, we estimated the DNA fragmentation level in rat testis and epididymises as a marker of apoptosis [1].

Material and methods. Wistar albino male rats, body weight (b.w.) of 150 g to 170 g, were used in the study. They were kept under a controlled temperature (from 22 °C to 24 °C), relative humidity of 40 % to 70 %, lighting (12 h light-dark cycle), and on a standard pellet feed diet («Phoenix» Ltd., Ukraine). The study was performed in accordance with the recommendations of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes and approved by the Institutional Animal Care and Use Committee.

Ethambutol (EMB), isoniazid (INH), pyrazinamide (PZA), rifampicin (RMP) were supplied by the SIC «Borzhagovsky Chemical-Pharmaceutical Plant» CJSC, Ukraine. ATM suspended in 1 % starch

gel were given by gavage in DOTs (directly observed treatment, short-course) regimen at maximal doses used in clinic [2] EMB – 155,0 mg/kg B.W./day, RMP – 74,4 mg/kg B.W./day, INH – 62,0 mg/kg B.W./day, PZA – 217,0 mg/kg B.W./day – for 60 days (duration of spermatogenesis process and time of germ cell maturation in epididymis [3]). Streptomycin (STR) dose was 14 mg/kg B.W./day. STR (supplied by the SIC «Borzhagovsky Chemical-Pharmaceutical Plant» CJSC, Ukraine) was dissolved in novocain solution produced by SIC «Darnitsa», series: 10111 and injected intramuscularly also for 60 days. The coefficient for conversion of human doses to animal equivalent doses based on body surface area was taken into account [4].

Animals were divided into 3 groups (8 rats in each):

Group 1: control – administration of 1 % starch gel;

Group 2: co-administration administration of INH, RMP, PZA and EMB for 60 days (combination 1);

Group 3: co-administration of INH, RMP, PZA and STR for 60 days (combination 2).

At the terminal phase of the experiments, rats were euthanised by decapitation under diethyl ether anesthesia. The ether concentration was 80 ml per liter of container volume; exposure time was approximately 5 min. Removed testes and epididymises were stored in liquid nitrogen till further investigation.

To determine the degree of DNA fragmentation the specimens (frozen in liquid nitrogen) were homogenized and genomic DNA was obtained [5].

Tissue was homogenized and digested in digestion buffer (100 mM NaCl; 10 mM Tris-HCl; 25 mM EDTA, pH 8; and 0,5 % SDS) and freshly added 0,1 mg/mL

proteinase K (Sigma-Aldrich, Ink., USA) (1:1,2 mg/ml) with shaking at 50 °C for 15 h. RNA was degraded by incubation of the samples with 1–100 mg/mL thermostable RNase H for 1,5 h at 37 °C. DNA was extracted with an equal volume of phenol-chloroform-isoamyl alcohol (25:24:1) and centrifuged for 10 min at 1700 x g. The DNA was precipitated by adding 0,5 vol 7,5 M ammonium acetate and 2 vol 100 % ethanol to the aqueous layer; samples were separated by centrifugation at 1700 x g for 5 min, rinsed with 70 % ethanol, and air-dried. The pellet was dissolved in TBE buffer (10 mM Tris-HCl and 1 mM EDTA, pH 8); and then were fractionated through 2 % agarose gels (50–60 V; 3,5 h). After electrophoresis gels were stained with ethidium bromide and visualized under a UV transilluminator (BIORAD, USA). Electrophoresis data analysis was carried out with Quantity One Software (USA).

Results. The effects of two ATM combinations on DNA fragmentation in rat testes and epididymises were investigated.

Figure 1 demonstrates that in the testes of control animals was present only a slight fragmentation of DNA (2 fractions in the area of 20–100 b.p.).

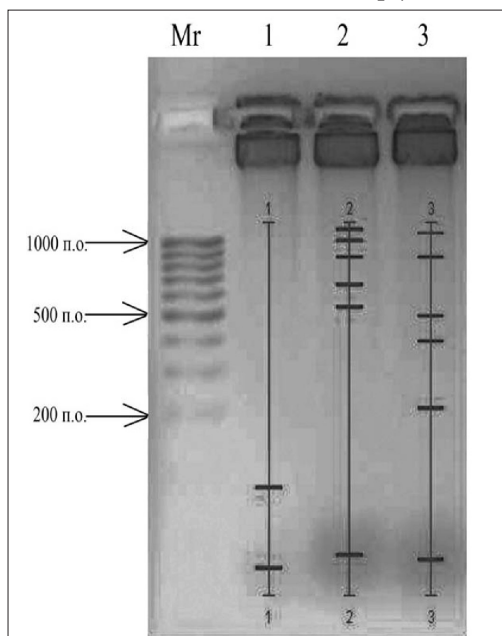


Figure 1. DNA fragmentation in rat testes (*Mr* – DNA marker; 1 – control; 2 – combination 1; 3 – combination 2). Analysis conducted using the software Quantity One

The administration of combination 1 enhanced testes DNA fragmentation and resulted in the formation of 6 major fractions of DNA fragments. The first fraction was represented by relatively high-molecular fragments – 1200 b.p., the second – 850 b.p., the third – 650 b.p. and the fourth – 550 b.p. The fifth fraction consists of low molecular weight fragments of DNA (40–30) b.p. According to peak intensity data, the first and fifth fractions of DNA were the largest (Figure 1).

The combination 2 also caused formation of 6 main fractions of DNA fragments: the first – with lengths exceeding 1000 b.p., the second – 850 b.p., the third – 500 b.p., the fourth – 400 b.p., the fifth – 200 b.p. and the sixth – 40–30 b.p. The largest of them was a fraction containing DNA strands in the range 40–30 b.p. According to the peak intensity data it was 1,5 times greater than others.

It has been established that the relative content of DNA fragments in the testes of rats receiving two different combinations of ATMs increased by 3–4 times compared with control (Table).

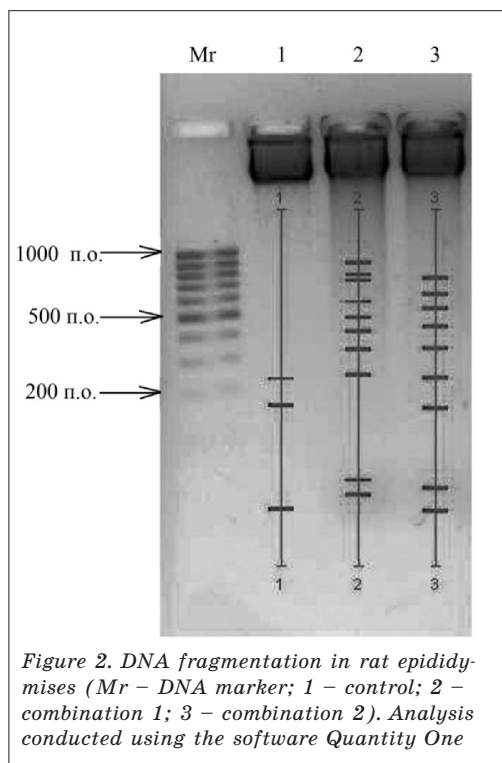
A slightly different picture was observed in the study of rat epididymises DNA fragmentation (Fig. 2).

In case of only starch gel administration (control), there was a slight fragmentation of DNA to 3 main fractions (the first – 250 b.p., the second – 150 b.p. and the third – 20 b.p.). According to the peak intensity data the second and third fractions of DNA were the largest.

Combination 1 administration enhanced fragmentation in epididymises and resulted in the formation of 10 major DNA fractions. The first fraction was represented by relatively high-molecular fragments of 900 b.p., the second – 800 b.p., the third – 750 b.p., the fourth – 550 b.p., the fifth – 500 b.p., the sixth – 400 b.p., the seventh – 350 b.p., the eighth – 250 b.p. The ninth and tenth fractions were represented by low molecular weight fragments of DNA – 30 and 40 b.p. According to peak intensity data, the first, sixth and eighth fractions of DNA were the largest (Figure 2).

Relative content of DNA fragments of different molecular weights in the testes and epididymises of rats receiving two combinations of ATM

Group	% of DNA fragmentation from total DNA content	
	testes	epididymises
Control	6,51	6,53
Combination 1	22,22	46,81
Combination 2	28,29	36,54



When combination 2 was administered to experimental animals, in their epididymises 9 major fractions of DNA fragments were detected in the range from 20 b.p. up to 800 b.p. According to peak intensity data these fractions had approximately equal peaks intensity.

Relative contents of DNA fragments in rats epididymises with administration of ATM combinations 1 and 2 were greater than that in control by 7 and 5, 6 times, respectively (Table).

Discussion. DNA is an important molecular target for antituberculosis agents toxic effects [6], which induced endonucleases for its lethally splitting. Among this such compounds could inhibit

it processes of DNA repair by nuclear DNA-polymerases. Level and character of DNA fragmentation are markers of apoptotic processes in organism [1].

In our experiments, obviously, in testes and epididymises, the toxic effects of the ATMs combinations were realized irrespective of STR or EMB presence. Although certain features of their effects were discovered. The combination with EMB more strongly stimulated the processes of DNA fragmentation in epididymises, whereas the use of a combination with STR – in testes. Certain differences in the fragmentation of DNA between epididymises and testes may be associated with different nucleases sets in various tissues.

The results obtained are in good correspondence with our previous data on changes of DNA fragmentation processes in hepatocytes and testes of rats with administration of EMB, INH, PZA and RMP alone or in combination [7–10] and with results of other authors, which established antituberculosis agents negative effects on liver DNA methylation state [11], and inhibition of normal DNA synthesis in spermatogonia of male rabbits [12]. Dysregulation of physiological germ cells apoptosis, which could cause male infertility [13], may be a result of external disturbances such as exposure to certain chemotherapeutic agents [14]. Differences in DNA-fragmentation processes between control and ATM combinations groups could be caused by changes in effectiveness DNA-fragmentation processes [1]. The comparatively high level of DNA fragmentation in testes of ATM-treated male rats is an evidence of germ cells apoptotic death intensification [15].

1. Wang X. Induction of cytochrome P450 2E1 increases hepatotoxicity caused by Fas agonistic Jo2 antibody in mice / X. Wang, Y. Lu, A. I. Cederbaum // *Hepatology*. – 2005. – T. 42, № 2. – C. 400–410.

2. *Donate J. M. B.* Treatment of tuberculosis / J. M. B. Donate // Business briefing: European Pharmacotherapy. – MWL Print Group Ltd. – 2006. – С. 1–4.
3. *Boekelheide K.* Male reproductive toxicology / K. Boekelheide, R. Chapin // Current protocols in toxicology. – 2005. – Т. 26, № 1. – С. 16.0.1–16.0.2.
4. Guidance for Industry and Reviewers Estimating the Safe Starting Dose in Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers US. of Department of Health and Human Services, FDA, CDER and CBER. [Електронний ресурс]. – режим доступу: <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>
5. *Hayes A. W.* Principles and methods of toxicology. – Crc Press, 2007. – 1887 p.
6. Epigenetic changes in the rat livers induced by pyrazinamide treatment / V. M. Kovalenko, T. V. Bagnyukova, O. V. Sergienko [et al.] // Toxicology and applied pharmacology. – 2007. – Т. 225, № 3. – С. 293–299.
7. Pyrazinamide potential effects on male rats DNA fragmentation, bone type I collagen amino acid composition, reproductive capability and posterity antenatal and postnatal development / L. Bondarenko, G. Shayakhmetova, T. Byshovets, V. Kovalenko // Acta Pol. Pharm. – 2012. – Т. 69. – С. 843–850.
8. Induction of CYP2E1 in testes of isoniazid-treated rats as possible cause of testicular disorders / G. M. Shayakhmetova, L. B. Bondarenko, A. K. Voronina [et al.] // Toxicology letters. – 2015. – Т. 234, № 2. – С. 59–66.
9. Repeated administration of ethambutol in therapeutic dose causes testes alteration and spermatogenesis disruption in Wistar rats / G. M. Shayakhmetova, L. B. Bondarenko, A. K. Voronina [et al.] // Human & experimental toxicology. – 2017. – Т. 36, № 5. – С. 520–533.
10. *Shayakhmetova G.* Damage of testicular cell macromolecules and reproductive capacity of male rats following co-administration of ethambutol, rifampicin, isoniazid and pyrazinamide / G. Shayakhmetova, L. Bondarenko, V. Kovalenko // Interdisciplinary toxicology. – 2012. – Т. 5, № 1. – С. 9–14.
11. DNA methylation in the rat livers induced by low dosage isoniazid treatment / B. Zhang, S. Sun, L. Shen [et al.] // Environmental toxicology and pharmacology. – 2011. – Т. 32, № 3. – С. 486–490.
12. *Bürgin H.* Assessment of DNA damage in germ cells of male rabbits treated with isoniazid and procarbazine / H. Bürgin, B. Schmid, G. Zbinden // Toxicology. – 1979. – Т. 12, № 3. – С. 251–257.
13. Lactate inhibits germ cell apoptosis in the human testis / K. Erkkilä, H. Aito, K. Aalto [et al.] // Molecular human reproduction. – 2002. – Т. 8, № 2. – С. 109–117.
14. *Aitken R. J.* Origins and consequences of DNA damage in male germ cells / R. J. Aitken, G. N. De Iulius // Reproductive biomedicine online. – 2007. – Т. 14. – № 6. – С. 727–733.
15. Measurement of apoptosis by DNA fragmentation / D. Matassov, T. Kagan, J. Leblanc // Apoptosis Methods and Protocols. – Humana Press, 2004. – С. 1–17.

L. B. Bondarenko, G. M. Shayakhmetova, V. M. Kovalenko

Effects of two antituberculosis agents compositions on DNA fragmentation in Wistar albino male rats

The pharmacotherapy of tuberculosis by various combinations of antibiotics is always associated with the possibility of serious undesirable consequences development. Moreover, even knowing the long-term consequences of each medicine use does not allow us to foresee with confidence their effects in combination with other antituberculosis agents. On the other hand, the severity of this pathology and the duration of treatment require the most possible optimizing of the used means choice. *The aim of investigation* was a comparative primary assessment of two antituberculosis medicines' combinations (ATM) possible long-term consequences for male reproductive function. For this purpose, we estimated the DNA fragmentation level in rat testis and epididymises as a marker of apoptosis. Animals were divided into 3 groups (8 rats in each): Group 1: control – administration of 1 % starch gel; Group 2: concomitant administration of isoniazid, rifampicin, pyrazinamide and ethambutol for 60 days (combination 1); Group 3: co-administration of isoniazid, rifampicin, pyrazinamide and streptomycin for 60 days (combination 2). In our experiments, obviously, in testes and epididymises, the toxic effects of the ATMs combinations were realized irrespective of streptomycin or ethambutol presence. Although certain features of their effects were discovered. The combination with ethambutol more strongly stimulated the processes of DNA fragmentation in epididymises, whereas the use of a combination with streptomycin – in testes. Certain differences in the fragmentation of DNA between epididymises and testes may be associated with different nucleases sets in various tissues. The comparatively high level of DNA fragmentation in testes of ATM-treated male rats is an evidence of germ cells apoptotic death intensification.

Key words: DNA fragmentation, testes, epididymises, rat

Л. Б. Бондаренко, Г. М. Шаяхметова, В. М. Коваленко

Вплив двох композицій протитуберкульозних засобів на фрагментацію ДНК у щурів-самців лінії Вістар

Фармакотерапія туберкульозу різними комбінаціями антибіотиків завжди пов'язана з можливістю розвитку серйозних небажаних наслідків. Більше того, навіть знаючи про довготривалі наслідки використання кожного лікарського засобу, ми не можемо з упевненістю передбачити їхні наслідки в

поєднанні з іншими протитуберкульозними агентами. З іншого боку, тяжкість цієї патології та тривалість лікування вимагають максимально можливої оптимізації вибору використовуваних засобів.

Мета дослідження – порівняльна первинна оцінка можливих довготермінових наслідків щодо чоловічої репродуктивної функції двох комбінацій протитуберкульозних лікарських засобів. З цією метою оцінено рівні фрагментації ДНК у сім'яниках та епідидимісах щурів як маркери апоптозу. Тварин поділяли на 3 групи (по 8 щурів у кожній): група 1 – контроль – введення 1 % крохмалю; група 2 – одночасне застосування ізоніазиду, рифампіцину, піразинаміду та етамбутолу протягом 60 днів (комбінація 1); група 3 – одночасне застосування ізоніазиду, рифампіцину, піразинаміду та стрептомицину протягом 60 днів (комбінація 2). У наших експериментах, очевидно, у сім'яниках та епідидимісах токсичні ефекти комбінацій протитуберкульозних засобів реалізовувалися незалежно від наявності стрептомицину або етамбутолу, хоча були виявлені певні особливості їхніх наслідків. Комбінація з етамбутолом сильніше стимулювала процеси фрагментації ДНК в епідидимісах, тоді як застосування комбінації з стрептомицином – у сім'яниках. Деякі відмінності в рівнях фрагментації ДНК між епідидимісами та сім'яниками можуть бути пов'язаними з різними наборами нуклеаз у даних тканинах. Порівняно високий рівень фрагментації ДНК у сім'яниках самців, що пройшли лікування протитуберкульозними засобами, є свідченням інтенсифікації в них апоптотичної загибелі статевих клітин.

Ключові слова: фрагментація ДНК, сім'яники, епідидиміси, щури

Л. Б. Бондаренко, А. М. Шаяхметова, В. Н. Коваленко

Влияние двух композиций противотуберкулезных средств на фрагментацию ДНК у крыс-самцов линии Вистар

Фармакотерапия туберкулеза различными комбинациями антибиотиков всегда связана с возможностью развития серьезных нежелательных последствий. Более того, даже зная о долговременных последствиях использования каждого лекарственного средства, мы не можем с уверенностью предсказать их последствия в сочетании с другими противотуберкулезными агентами. С другой стороны, тяжесть этой патологии и продолжительность лечения требуют максимально возможной оптимизации выбора используемых средств.

Цель исследования – сравнительная первичная оценка возможных долгосрочных последствий относительно мужской репродуктивной функции двух комбинаций противотуберкулезных лекарственных средств. С этой целью мы оценили уровни фрагментации ДНК в семенниках и эпидидимисах крыс в качестве маркеров апоптоза. Животных разделяли на 3 группы (по 8 крыс в каждой): группа 1 – контроль – введение 1 % крахмала; группа 2 – одновременное применение изониазида, рифампицина, пиразинамида и этамбутола в течение 60 дней (комбинация 1); группа 3 – одновременное применение изониазида, рифампицина, пиразинамида и стрептомицина в течение 60 дней (комбинация 2). В наших экспериментах в семенниках и эпидидимисах токсические эффекты комбинаций противотуберкулезных средств, очевидно, реализовывались независимо от наличия стрептомицина или этамбутола, хотя были выявлены определенные особенности последствий их введения. Комбинация с этамбутолом сильнее стимулировала процессы фрагментации ДНК в эпидидимисах, тогда как применение комбинации со стрептомицином – в семенниках. Некоторые различия в уровнях фрагментации ДНК между эпидидимисами и семенниками могут быть связаны с различными наборами нуклеаз в данных тканях. Сравнительно высокий уровень фрагментации ДНК в семенниках самцов, прошедших лечение противотуберкулезными средствами, является свидетельством интенсификации в них апоптической гибели половых клеток.

Ключевые слова: фрагментация ДНК, семенники, эпидидимисы, крысы

Надійшла: 25 червня 2018 р.

Контактна особа: Бондаренко Л. В., ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03680. Тел.: + 38 0 44 456 42 56.

Г. В. Зайченко¹, О. А. Покотило¹, Н. С. Нікітіна²

Вивчення гострої токсичності крему з наночастинками церію діоксиду за різних шляхів введення

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

²Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції», м. Харків

Ключові слова: наночастинки церію діоксиду, доклінічні дослідження, гостра токсичність, нашкірне нанесення, внутрішньошлункове введення

Сьогодні глобальною проблемою медицини є меланома та немеланомні злоякісні новоутворення шкіри [1]. За даними Національного канцер-реєстру України станом на 2016 рік захворюваність на дані патології становила 7,6 і 42,5 на 100 тис. населення, а смертність за рік – 2,6 і 1,4 на 100 тис. населення відповідно [2].

Одним з основних етіологічних факторів розвитку меланоми, плоскоклітинного та базальноклітинного раку є ультрафіолетове (УФ) опромінення [3]. Канцерогенному впливу даного чинника запобігає застосування фотопротекторів – засобів, здатних переважно поглинати (органічні фільтри), або розсіювати чи відбивати (неорганічні фільтри) УФ промені [4]. Перевага неорганічних фільтрів полягає в меншій взаємодії з УФ, а отже, менш інтенсивному утворенню активних форм кисню [5].

Неорганічний УФ фільтр нового покоління – наночастинки церію діоксиду (НЦД) – має подвійний механізм дії: поєднує фотопротекторну активність (відбивання та розсіювання УФ променів) з антиоксидантним ефектом (нейтралізація вільних радикалів) [6, 7]. Останній обумовлює відсутність фотокаталітичної дії, а, отже, кращий профіль безпеки НЦД порівняно з широко вживаними титану діоксидом і цинку оксидом [4].

Розширення арсеналу заходів профілактики УФ уражень, зокрема, зло-

якісних новоутворень шкіри, можна досягти шляхом впровадження в медичну практику сонцезахисних кремів з НЦД. Розробка таких засобів передбачає проведення комплексу доклінічних досліджень з фармакології безпеки. НЦД мають прийнятний профіль безпеки, підтверджений експериментами *in vitro* та *in vivo* [8], однак дана проблема вимагає подальшого вивчення, адже кожна синтезована субстанція наночастинок має власний унікальний набір характеристик, що зумовлюють фармакологічну активність і токсикологічні властивості [9].

Мета дослідження – вивчити гостру токсичність крему з НЦД.

Матеріали та методи. Стандартизовані НЦД розміром 6–15 нм синтезовані в ТОВ «НаноМедТех», лікарська форма – дермальний крем з 0,25 % НЦД – розроблена в НТК «Інститут монокристалів» НАН України.

Експеримент проводили на 30 білих щурах самках лінії Wistar масою 150–240 г, віком 2,5–3,0 міс. Тварин розподілили на 3 групи по 10 особин у кожній: 1) група одноразового нашкірного нанесення крему з НЦД, спостереження протягом 14 діб; 2) група одноразового нашкірного нанесення крему з НЦД, спостереження протягом 30 діб; 3) група одноразового внутрішньошлункового введення крему з НЦД, спостереження протягом 14 діб.

Дослідження проведено з дотриманням положень Європейської конвенції про захист тварин, які використовуються для наукових цілей (Страсбург, 1986 р.), наказу МОЗ України від 14 грудня 2009 р. № 944 «Про затвердження Порядку проведення доклініч-

ного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів», Закону України від 21 лютого 2006 р. № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження».

План експерименту схвалений комісією з питань етики Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, усі пов'язані з гуманним поводженням з тваринами процедури дотримані. Щурів виводили з експерименту під хлороформним наркозом.

Дослідження гострої токсичності (вибір доз, тварин і шляхів введення) проведене згідно з методичними рекомендаціями [10]. Внутрішньошлунковий шлях введення обраний як такий, що забезпечує системну дію досліджуваної речовини, а також враховує можливість випадкових ситуацій, які спричиняють отруєння.

Крем з 0,25 % НЦД наносили на шкірно в дозі 5,0 г/кг, після попереднього вистригання шерсті на спині й боках (площа ділянки для аплікації становила 50 % поверхні тіла) або вводили внутрішньошлунково в дозі 5,0 г/кг. Таким чином, щури отримували НЦД у дозі 12,5 мг/кг.

Токсичність оцінювали за клінічною картиною інтоксикації, виживаністю тварин, споживанням корму та води, динамікою зміни маси тіла (0, 3, 7, 14 і 30 доба), біохімічними показниками сироватки крові (уміст загального білка та альбуміну, тимолова проба), макроскопічною структурою та коефіцієнтами маси внутрішніх органів (головний мозок, серце, легені, печінка, селезінка та нирки).

Біохімічні показники визначали з застосуванням стандартних наборів для клініко-діагностичних і біохімічних лабораторій виробництва ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика» (м. Дніпро) після відбору крові з хвостової вени на початку експерименту та через 14 і 30 діб. Оптичну густину розчинів вимірювали за допомогою фотоелектроколориметра КФК-3 (ВАТ «Загорський оптико-механічний завод», РФ) та спектрофотометра СФ-46 (ВАТ «Ломо», РФ). Уміст загального білка визначали за біуретовою реакцією, альбуміну – за реакцією

з бромкрезоловим зеленим, показник тимолової проби – за методом осадових проб [11, 12].

На 14 добу (групи 1 і 3) і 30 добу (група 2) проводили евтаназію щурів, після розтину здійснювали макроскопічний огляд внутрішніх органів (розміри, забарвлення, форма, взаємне розташування) і вилучали головний мозок, серце, легені, печінку, селезінку та нирки. Після відокремлення жирової тканини органи промивали у фізіологічному розчині натрію хлориду з подальшим прибиранням надлишкової вологи за допомогою фільтрувального паперу та зважували. На основі абсолютних значень маси органів розраховували коефіцієнти маси у відсотках.

Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою програми IBM SPSS Statistics v.23 (IBM, США). Нормальність розподілу визначали за W-критерієм Шапіро-Уїлка. Надалі проводили однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA з post-hoc порівняннями з застосуванням HSD-критерію Тьюкі (коефіцієнти маси внутрішніх органів) або парний двовибірковий t-тест для середніх (динаміка зміни маси тіла, біохімічні показники сироватки крові). Відмінності показників вважали статистично значущими в разі $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Після одноразового нашкодного нанесення крему з НЦД у щурів спостерігали звичайний характер рухів, нормальне дихання та реакцію на звукові й тактильні подразники. Відмічали легку гіперемію носа, яка зникала протягом однієї доби. До кінця експерименту зовнішній вигляд, загальний стан і поведінка щурів, споживання корму та води знаходилися в межах норми. На місці нанесення крему не відмічали ознак дермальної токсичності, що вказувало на відсутність місцевоподразнюючої дії.

Внутрішньошлункове введення крему з НЦД також не призводило до розвитку інтоксикації. Загальний стан і поведінка щурів, їхній зовнішній вигляд, споживання корму та води не змінювалися.

Загибелі тварин протягом експерименту не спостерігали.

Аналіз динаміки зміни маси тіла тварин показав, що за умов нашкірного нанесення даний показник зростає на 7 і 30 добу на 2,0 і 4,6 % відповідно, а за внутрішньошлункового введення – не змінювався протягом експерименту, що вказує на безпеку лікарської форми (табл. 1).

За одноразового нашкірного нанесення щурам крему з НЦД на 14 добу експерименту відмічали зниження вмісту альбуміну на 12,3 % та підвищення значення тимолової проби на 51,6 %, однак на 30 добу показники поверталися до вихідних значень, що вказує на нетривалість і зворотність можливого токсичного ефекту досліджуваної лікарської форми (табл. 2). На 30 добу спостерігали зниження на 5,8 % умісту загального білка, але значення не виходило за межі фізіологічної норми [13].

У групі внутрішньошлункового введення крему з НЦД щурам відмічали зниження вмісту альбуміну на 13,2 % на 14 добу, однак показник відповідав нормі для даного виду тварин [13].

Патоморфологічне дослідження, проведене через 14 діб (групи 1 і 3) і через 30 діб (група 2) після застосування крему з НЦД, включало в себе автопсію, макроскопічне дослідження внутрішніх органів щурів. За результатами зовнішнього огляду та розтину не виявлено відхилень від норми: шерсть – блискуча, охайна, лімфатичні вузли не збільшені, шкіра в місцях нанесення препарату без слідів розчісувань, виразок і лущення, видимі слизові оболонки блискучі, блідо-рожеві, гладкі. Усі макроскопічно досліджені органи (головний мозок, серце, легені, печінка, селезінка, нирки) мали звичайні розміри, колір і консистенцію.

Таблиця 1

Динаміка зміни маси тіла щурів після одноразового нашкірного нанесення або внутрішньошлункового введення крему з наночастинками церію діоксиду ($M \pm m$)

Шлях введення	Період спостереження	Маса тіла тварини, г	n
Нашкірний	вихідне значення	204,53 $\pm$ 1,57	20
	3 доба	204,01 $\pm$ 1,94	20
	7 доба	208,54 $\pm$ 1,83*	20
	14 доба	202,00 $\pm$ 2,60	20
	30 доба	214,02 $\pm$ 2,92*	10
Внутрішньошлунковий	вихідне значення	210,04 $\pm$ 4,18	10
	3 доба	213,02 $\pm$ 4,64	10
	7 доба	218,03 $\pm$ 4,64	10
	14 доба	217,02 $\pm$ 5,15	10

Примітка. Тут і в табл. 2: n – розмір вибірки; *p < 0,05 порівняно з вихідним значенням.

Таблиця 2

Біохімічні показники крові щурів після одноразового нашкірного нанесення або внутрішньошлункового введення крему з наночастинками церію діоксиду ($M \pm m$)

Шлях введення	Період спостереження	Загальний білок, г/л	Альбумін, г/л	Тимолова проба, од. S-H	n
Нашкірний або внутрішньошлунковий	вихідне значення	76,40 $\pm$ 1,66	35,79 $\pm$ 1,16	1,26 $\pm$ 0,10	30
Нашкірний	14 доба	73,53 $\pm$ 3,91	31,38 $\pm$ 0,49*	1,91 $\pm$ 0,25*	20
Нашкірний	30 доба	71,98 $\pm$ 2,05*	34,02 $\pm$ 0,90	1,72 $\pm$ 0,37	10
Внутрішньошлунковий	14 доба	78,38 $\pm$ 2,93	31,07 $\pm$ 0,60*	1,72 $\pm$ 0,35	10

Коефіцієнти маси внутрішніх органів щурів після одноразового нашкірного нанесення або внутрішньошлункового введення крему з наночастинками церію діоксиду ($n = 10$; $M \pm m$)

Орган	Коефіцієнт маси органів, %		
	нашкірне нанесення, 14 доба	нашкірне нанесення, 30 доба	внутрішньошлункове введення, 14 доба
Головний мозок	$0,88 \pm 0,02$	$0,80 \pm 0,01^*$	$0,83 \pm 0,05$
Серце	$0,38 \pm 0,02$	$0,40 \pm 0,0$	$0,42 \pm 0,01$
Легені	$0,86 \pm 0,07$	$0,78 \pm 0,03$	$0,78 \pm 0,03$
Печінка	$3,79 \pm 0,14$	$3,71 \pm 0,08$	$3,73 \pm 0,06$
Селезінка	$0,54 \pm 0,04$	$0,48 \pm 0,03$	$0,53 \pm 0,05$
Нирки	$0,37 \pm 0,02$	$0,41 \pm 0,01$	$0,45 \pm 0,01^*$

Примітка. n – кількість тварин у групі, $*p < 0,05$ порівняно з групою одноразового нашкірного нанесення крему, спостереження протягом 14 діб.

У разі оцінки коефіцієнтів маси внутрішніх органів загалом не виявлено розбіжностей між групами (табл. 3). У групі нашкірного нанесення крему з НЦД на 30 добу відмічали зменшення відносної маси головного мозку на 9,1 % порівняно з 14 добою, а в групі внутрішньошлункового введення – збільшення відносної маси нирок на 21,6 % порівняно з щурами, яким крем наносили нашкірно. Незважаючи на виявлені зміни, значення показників знаходились у межах фізіологічної норми [14].

За даними В. А. Rzigalinski та співавт. і R. A. Yokel та співавт., НЦД різного розміру за внутрішньошлункового введення в дозах до 5 г/кг зазвичай добре переносяться щурами через погану абсорбцію в ШКТ [15, 16]. Крім цього, згідно з В. Gulson та співавт., неорганічні фільтри не потрапляють у системний кровообіг через інтактну шкіру [17]. Таким чином, отримані в даному дослідженні дані щодо безпеки крему з НЦД узгоджуються з відомостями літератури стосовно низької токсичності цих наночастинок за вказаних шляхів застосування.

Отримані результати відкривають перспективи проведення подальших доклінічних досліджень крему з НЦД як ефективного та безпечного фотопротектора.

Висновки

1. За одноразового нашкірного нанесення крему з 0,25 % НЦД у дозі 5 г/кг білим щурам лінії Wistar протягом 30 діб не відмічали випадків загибелі, змін у загальному стані та поведінці тварин, споживанні корму та води, негативної динаміки зміни маси тіла, значних змін біохімічних показників сироватки крові, макроскопічної структури та коефіцієнтів маси внутрішніх органів. На місці нанесення крему не відмічали ознак дермальної токсичності, що вказувало на відсутність місцевоподразнюючої дії.
2. Безпека крему з НЦД у дозі 5 г/кг за одноразового внутрішньошлункового введення щурам підтверджена відсутністю значущих змін у зовнішньому вигляді та поведінці тварин, динаміці зміни маси тіла, біохімічних показників сироватки крові, параметрах патоморфологічного дослідження.

1. Skin cancer: epidemiology, disease burden, pathophysiology, diagnosis, and therapeutic approaches / Z. Apalla, D. Nashan, R. B. Weller [et al.] // Dermatol. Ther. (Heidelb). – 2017. – V. 7, Suppl. 1. – P. 5–19.
2. Бюлетень Національного канцер-реєстру № 19 – «Рак в Україні, 2016–2017»; під ред. О. О. Колесник / З. П. Федоренко, Ю. Й. Михайлович, Л. О. Гулак [та ін.]. – Київ : Національний інститут раку, 2018. – 136 с.

3. Photocarcinogenesis and skin cancer prevention strategies: an update / M. C. Martens, C. Seebode, J. Lehmann [et al.] // *Anticancer Res.* – 2018. – V. 38, № 2. – P. 1153–1158.
4. Stiefel C. Photoprotection in changing times – UV filter efficacy and safety, sensitization processes and regulatory aspects / C. Stiefel, W. Schwack // *Int. J. Cosmet. Sci.* – 2015. – V. 37, № 1. – P. 2–30.
5. Particulate products: tailoring properties for optimal performance; ed. H. G. Merkus, G. M. H. Meesters. – Springer International Publishing Switzerland, 2014. – 469 p.
6. Синтез и биомедицинские применения нанодисперсного диоксида церия / А. Б. Щербаков, О. С. Иванова, Н. Я. Спивак [и др.]. – Томск : Издательский дом Томского государственного университета, 2016. – 476 с.
7. Cerium oxide nanoparticles, combining antioxidant and UV shielding properties, prevent UV-induced cell damage and mutagenesis / F. Caputo, M. De Nicola, A. Sienkiewicz [et al.] // *Nanoscale.* – 2015. – V. 7, № 38. – P. 15643–15656.
8. Recent advances (2010–2015) in studies of cerium oxide nanoparticles' health effects / Y. Li, P. Li, H. Yu [et al.] // *Environ. Toxicol. Pharmacol.* – 2016. – V. 44. – P. 25–29.
9. Chen B. H. Various physicochemical and surface properties controlling the bioactivity of cerium oxide nanoparticles / B. H. Chen, B. Stephen Inbaraj // *Crit. Rev. Biotechnol.* – 2018. – V. 38, № 7. – P. 1003–1024.
10. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації; під ред. О. В. Стефанова. – Київ : Авіцена, 2001. – 528 с.
11. Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods; ed. R. A. McPherson, M. R. Pincus. – [22-nd ed.]. – Philadelphia : Elsevier/Saunders, 2011. – 1568 p.
12. Sunheimer R. L. Clinical laboratory chemistry / R. L. Sunheimer, L. Graves. – Upper Saddle River : Pearson, 2011. – 688 p.
13. Справочник. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных; под ред. В. Г. Макарова, М. Н. Макаровой / Т. В. Абрашова, Я. А. Гуцин, М. А. Ковалева [и др.]. – Санкт-Петербург : Издательство «Лема», 2013. – 116 с.
14. Marino D. J. Age-specific absolute and relative organ weight distributions for Fischer 344 rats / D. J. Marino // *J. Toxicol. Environ. Health A.* – 2012. – V. 75, № 24. – P. 1484–1516.
15. Rzigalinski B. A. Cerium oxide nanoparticles in neuroprotection and considerations for efficacy and safety / B. A. Rzigalinski, C. S. Carfagna, M. Ehrich // *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.* – 2017. – V. 9, № 4. – P. 1–17.
16. The Yin: an adverse health perspective of nanoceria: uptake, distribution, accumulation, and mechanisms of its toxicity / R. A. Yokel, S. Hussain, S. Garantzios [et al.] // *Environ. Sci. Nano.* – 2014. – V. 1, № 5. – P. 406–428.
17. A review of critical factors for assessing the dermal absorption of metal oxide nanoparticles from sunscreens applied to humans, and a research strategy to address current deficiencies / B. Gulson, M. J. McCall, D. M. Bowman [et al.] // *Arch. Toxicol.* – 2015. – V. 89, № 11. – P. 1909–1930.

Г. В. Зайченко, О. А. Покотило, Н. С. Нікітіна

Вивчення гострої токсичності крему з наночастинками церію діоксиду за різних шляхів введення

Мета дослідження – вивчити гостру токсичність крему з наночастинками церію діоксиду (НЦД).

Здійснювали одноразове нашкірне нанесення чи внутрішньошлункове введення крему з 0,25 % НЦД у дозі 5 г/кг щурам самкам лінії Wistar; оцінку токсичності проводили протягом 14 або 30 діб за клінічною картиною інтоксикації, виживаністю тварин, споживанням корму та води, динамікою зміни маси тіла, біохімічними показниками сироватки крові, макроскопічною структурою та коефіцієнтами маси внутрішніх органів.

За умов одноразового нашкірного нанесення крему з НЦД у дозі 5 г/кг щурам протягом 30 діб не відмічали випадків загибелі, змін у загальному стані та поведінці тварин, споживанні корму та води, негативної динаміки зміни маси тіла, значних змін біохімічних показників сироватки крові, макроскопічної структури та коефіцієнтів маси внутрішніх органів. Безпеку крему з НЦД у дозі 5 г/кг за одноразового внутрішньошлункового введення щурам підтверджено відсутністю значних змін у зовнішньому вигляді й поведінці тварин, динаміці зміни маси тіла, біохімічних показниках сироватки крові, параметрах патоморфологічного дослідження.

Таким чином, крем з 0,25 % НЦД за одноразового внутрішньошлункового введення та нашкірного нанесення білим щурам лінії Wistar у дозі 5 г/кг є безпечним, на що вказують результати аналізу таких параметрів, як виживаність тварин, споживання корму та води, динаміка зміни маси тіла, біохімічні показники сироватки крові, макроскопічна структура та коефіцієнти маси внутрішніх органів.

Отримані результати відкривають перспективи проведення подальших доклінічних досліджень крему з НЦД як ефективного та безпечного фотопротектора.

Ключові слова: наночастинки церію діоксиду, доклінічні дослідження, гостра токсичність, нашкірне нанесення, внутрішньошлункове введення

А. В. Зайченко, О. А. Покотило, Н. С. Никитина

Изучение острой токсичности крема с наночастицами диоксида церия при различных путях введения

Цель исследования – определить острую токсичность крема с наночастицами диоксида церия (НДЦ).

Проводили однократное накожное нанесение или внутрижелудочное введение крема с 0,25 % НДЦ в дозе 5 г/кг крысам самкам линии Wistar; оценку токсичности осуществляли в течение 14 или 30 дней по клинической картине интоксикации, выживаемости животных, потреблению корма и воды, динамике изменения массы тела, биохимическим показателям сыворотки крови, макроскопической структуре и коэффициентам массы внутренних органов.

При однократном накожном нанесении крема с НДЦ в дозе 5 г/кг крысам в течение 30 дней не отмечали случаев гибели, изменений в общем состоянии и поведении животных, потреблении корма и воды, негативной динамики изменения массы тела, значительных изменений биохимических показателей сыворотки крови, макроскопической структуры и коэффициентов массы внутренних органов. Безопасность крема с НДЦ в дозе 5 г/кг при однократном внутрижелудочном введении крысам подтверждена отсутствием значительных изменений во внешнем виде и поведении животных, динамике изменения массы тела, биохимических показателях сыворотки крови, параметрах патоморфологического исследования.

Таким образом, крем с 0,25 % НДЦ при однократном внутрижелудочном введении и накожном нанесении белым крысам линии Wistar в дозе 5 г/кг является безопасным, на что указывают результаты анализа таких параметров, как выживаемость животных, потребление корма и воды, динамика изменения массы тела, биохимические показатели сыворотки крови, макроскопическая структура и коэффициенты массы внутренних органов.

Полученные результаты открывают перспективы проведения дальнейших доклинических исследований крема с НДЦ как эффективного и безопасного фотопротектора.

Ключевые слова: наночастицы диоксида церия, доклинические исследования, острая токсичность, накожное нанесение, внутрижелудочное введение

G. V. Zaychenko, O. A. Pokotylo, N. S. Nikitina

Acute toxicity testing of the cream with cerium dioxide nanoparticles at various routes of administration

The aim of the study was to determine the acute toxicity of the cream with cerium dioxide nanoparticles (CDN).

A single cutaneous application or oral administration of the cream with 0,25 % CDN in the dose of 5 g/kg in female Wistar rats were performed, an evaluation of toxicity was done during 14 or 30 days based on clinical signs of intoxication, mortality, consumption of food and water, body mass dynamics, serum biochemical indices, and macroscopic structure and mass coefficients of internal organs.

The results of the study showed that there were no cases of mortality, as well as changes in overall condition and behavior of animals, consumption of food and water, negative body mass dynamics, and drastic changes in serum biochemical indices and macroscopic structure and mass coefficients of internal organs after a single cutaneous application of the cream with CDN at the dose of 5 g/kg in rats during 30 days. The safety of the cream with CDN at the dose of 5 g/kg after a single oral administration in rats was confirmed by an absence of significant changes in appearance and behavior of animals, body mass dynamics, serum biochemical indices, and results of morphological study.

Thus, the cream with 0,25 % CDN is considered safe at a single oral administration or cutaneous application in white Wistar rats at dose of 5 g/kg, which is proven by the result of an analysis of such parameters as mortality, consumption of food and water, body mass dynamics, serum biochemical indices, and macroscopic structure and mass coefficients of internal organs.

The results obtained open prospects for further preclinical studies of the cream with CDN, which appears to be an effective and safe sunscreen.

Key words: cerium dioxide nanoparticles, preclinical studies, acute toxicity, cutaneous application, oral administration

Надійшла: 30 серпня 2018 р.

Контактна особа: Покотило Оксана Анатоліївна, аспірант, кафедра фармакології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Тел.: + 38 0 63 975 72 52.
Електронна пошта: oksana.pokotulo@gmail.com

І. М. Білай, О. В. Цис, Є. О. Михайлюк

**Фармакологічна безпека комбінації
аторвастатину з триметазидином за умов
експериментальної гіперліпідемії***Запорізький державний медичний університет*

Ключові слова: фармакологічна безпека, атеросклероз, аторвастатин, триметазидин, експериментальна гіперліпідемія

Незважаючи на широке розмаїття препаратів групи статинів, одним з найвживаніших і відомих препаратів цієї лінії сьогодні є аторвастатин. Механізм дії аторвастатину полягає в тому, що він є селективним конкурентним інгібітором 3-гідрокси-3-метилглутарил коензим А-редуктази – ферменту, що перетворює 3-гідрокси-3-метилглутарил коензим А на мевалонову кислоту, яка є попередником стеролів, включаючи холестерин. Аторвастатин знижує рівень холестерину та ліпопротеїдів у плазмі крові за рахунок пригнічення 3-гідрокси-3-метилглутарил коензим А редуктази і синтезу холестерину в печінці, а також збільшення кількості рецепторів ліпопротеїдів низької щільності на поверхні гепатоцитів, що призводить до посилення захоплення та катаболізму ліпопротеїдів низької щільності. Аторвастатин знижує рівень загального холестерину, ліпопротеїдів низької щільності, аполіпротеїну В і

тригліцеридів, спричиняє підвищення рівня холестерину ліпопротеїдів високої щільності та аполіпопротеїну А. Однак, слід зазначити, що серед основних побічних ефектів аторвастатину виділяють підвищення рівня печінкових трансаміназ, гастроінтестинальні розлади, шкірні висипи, зниження апетиту. Незважаючи на це, профіль безпеки аторвастатину досить високий [1–3].

Протягом десятків років проводилися клінічні дослідження аторвастатину для визначення можливості його застосування за різних клінічних ситуацій. Про найчастіші побічні ефекти аторвастатину свідчать дані, наведені в таблиці 1.

Одним з найширше застосовуваних лікарських засобів у разі серцево-судинних захворювань є метаболіто-тропний препарат триметазидин. Він селективно інгібує 3-кетואцил КоА-тіолазу – ключовий фермент β-окиснення вільних жирних кислот і підвищує активність піруватдегідрогенази – ферменту, який бере участь в окисненні глюкози. Це сприяє відновленню окиснювально-відновного балансу та

Таблиця 1

*Оцінка безпеки статинів за даними міжнародних клінічних досліджень
(побічні ефекти)*

№	Клінічне дослідження	Оцінка безпеки статину
1	TNT (Treating to New Targets)	Підвищення рівня трансаміназ очікувано більш часто спостерігалось в разі використання високих доз аторвастатину (80 мг/добу), але в абсолютних цифрах склало всього 1,2 % проти 0,2 % у групі аторвастатину 10 мг/добу [4]
2	IDEAL (Initiating Dialysis Early and Late)	Більш агресивне лікування супроводжувалося більшою частотою скасування статину через неважкі побічні ефекти, ймовірність розвитку міопатії та рабдоміолізу була низькою [5]

мітохондріального мембранного потенціалу. Оскільки активація перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) може викликати пошкодження клітин і мембран внутрішньоклітинних органел, то зменшення активності ПОЛ за корекції триметазидином зменшує ризик апоптозу [6].

Завдяки різним механізмам впливу на серцево-судинну систему варто дослідити комбінацію метаболіотропного препарату триметазидину та аторвастатину (інгібітор редуктази ГМГ-КоА). Важливим показником у фармакологічному дослідженні лікарських засобів є показник безпеки.

Мета дослідження – оцінити вплив триметазидину на безпеку препарату (побічні прояви) аторвастатину в щурів з гіперліпідемією.

Матеріали та методи. Гіполіпідемічну активність вивчали на білих лабораторних щурах-самцях лінії Вістар масою 180–200 г. Були сформовані 4 групи по 7 лабораторних тварин: 1 група – інтактна (вводили фізіологічний розчин внутрішньощлунково), 2 група – контрольна патологія (експериментальна гіперліпідемія), 3 група – вводили аторвастатин у дозі 17,2 мг/кг (в еквіваленті добової дози 20 мг для людини), 4 група – вводили комбінацію аторвастатину 17,2 мг/кг з триметазидином (дозу розраховували за формулою Ю. Р. Риболовлева – вона склала 0,5 мг на 100 г маси тіла щура в 2 мл 0,9 % розчину NaCl внутрішньощлунково 2 рази на добу, що еквівалентно рекомендованій дозі триметазидину для людини 35 мг 2 рази на добу перорально). Дози досліджуваних препаратів були визначені шляхом міжвидового перерахунку доз, беручи до уваги об'єм внутрішньощлункового введення речовин, виходячи з вимог посібників з доклінічного дослідження лікарських засобів [7].

Для моделювання гіперліпідемії застосовували «вітамінну» модель – перорально вводили холестерин у соняшниковій олії в дозі 40 мг/кг з ергокальциферолом у дозі 350 000 ОД/кг протягом 5 діб [8]. Препарати вводили в лікувально-профілактичному режимі, починаючи з першого дня моде-

лювання патології. У тварин на 6 добу під ефірним наркозом здійснювали забір крові з біфуркації аорти.

Як маркери безпеки аторвастатину в сироватці крові оцінювали рівень ферментів цитолізу (АЛТ, АСТ) за допомогою імуноферментного методу з використанням лабораторних наборів Кармей і визначали коефіцієнт Де Ритиса. Активність креатинфосфокінази (КФК) та лактатдегідрогенази (ЛДГ) (кардіота міофармакобезпека) визначали за методикою Н. У. Bergmeyer [9, 10].

Експеримент виконували з дотриманням рекомендацій Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментів або в інших наукових цілях» (м. Страсбург, 1986 р.), його проведення схвалено комісією з біоетики.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Statistica 7.0. Визначення достовірності міжгрупових відмінностей встановлювали за допомогою t-критерію Стьюдента. Відмінності між групами вважали статистично значимими в разі $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Встановлено, що моделювання гіперліпідемії в щурів за методикою S. K. Y. Jousufzai та M. Siddiqi викликає підвищення рівня загального холестерину в сироватці крові з ($2,05 \pm 0,10$) до ($6,57 \pm 0,24$) ммоль/л, β -ліпопротеїдів – з ($123,1 \pm 16,2$) до ($154,3 \pm 12,8$) у. о.) та одночасне зниження холестерину ліпопротеїдів високої щільності з ($0,92 \pm 0,06$) до ($0,76 \pm 0,01$) ммоль/л.

Застосований метаболічний засіб триметазидин суттєво зменшував токсичні ефекти аторвастатину. Якщо порівняно з інтактною групою активність АЛТ і АСТ зростала на 58,45 і 116,30 % відповідно в разі застосування аторвастатину, то у тварин, що отримували триметазидин з аторвастатином, – лише на 30,95 і на 48,90 % відповідно.

Рівні КФК і ЛДГ у групі контролю підвищувалися майже в 3 рази порівняно з групою інтакту, за введення аторвастатину активність КФК і ЛДГ зменшувалась до 404,00 та 789,43 Од/л відповідно ($p < 0,05$), у разі застосування комбінації аторвастатину та триметазидину показники склали

Активність ферментів (АЛТ, АСТ, КФК і ЛДГ) у сироватці крові щурів з гіперліпідемією ($M \pm m$)

Група тварин	Активність ферментів				Коефіцієнт Де Ритиса
	АЛТ, мкмоль/хв • л	АСТ, мкмоль/хв • л	КФК, Од/л	ЛДГ, Од/л	
Інтактні (n = 7)	30,11 ± 2,12	42,86 ± 4,24	208,71 ± 15,38	415,0 ± 44,36	1,43
Гіперліпідемія (контрольна патологія, n = 7)	42,29 ± 1,81*	74,57 ± 4,66*	618,14 ± 61,36*	1141,43 ± 59,26*	1,76
Гіперліпідемія + аторвастатин (n = 7)	47,71 ± 3,91	92,71 ± 4,81**	404,0 ± 18,63**	789,43 ± 44,88**	1,94
Гіперліпідемія + аторвастатин + триметазидин (n = 7)	39,43 ± 4,17	63,86 ± 3,75 ^Δ	321,0 ± 19,62 ^Δ	622,71 ± 82,92 ^Δ	1,62

Примітка. *Достовірність відмінностей порівняно з групою інтактних тварин, $p < 0,05$,

**достовірність відмінностей порівняно з групою контрольної патології, $p < 0,05$,

^Δдостовірність відмінностей порівняно з групою аторвастатину, $p < 0,05$.

321,00 і 622,71 Од/л відповідно ($p < 0,05$) (табл. 2).

Підводячи підсумки результатів проведеного дослідження, варто зазначити, що застосування триметазидину сумісно з аторвастатином дозволило знизити побічні дії гіполіпідемічного засобу. Це, на нашу думку, пов'язано з цитопротекторними властивостями метаболітоутворюючого препарату. Показники фармакобезпеки сумісного застосування обох препаратів спонукають до подальших фармакологічних досліджень з метою покращення результатів лікування та якості життя хворих з серцево-судинною патологією.

Висновки

1. На моделі гіперліпідемії в щурів показано, що сумісне застосування аторвастатину з триметазидином у

лікувально-профілактичному режимі покращує показники фармакобезпеки гіполіпідемічного засобу. Це відображалось зменшенням активності маркерних ферментів цитолізу АСТ, АЛТ та їхнього співвідношення (коефіцієнт Де Ритиса) порівняно як з показниками групи контрольної патології, так і групи аторвастатину.

2. Показники активності КФК і ЛДГ знижувались у разі застосування комбінації аторвастатину та триметазидину майже в 2 рази порівняно з контрольною групою, а також були достовірно нижчими порівняно з групою аторвастатину.

3. Сумісне застосування вищевказаних препаратів призводить у щурів до зниження побічних проявів аторвастатину завдяки фармакологічним властивостям триметазидину.

1. Гиполипидемическая терапия сегодня: новые задачи и возможности статинов / В. П. Михин, В. В. Воротынцева, Ю. А. Жилева [и др.] // Медицинский совет. – 2018. – № 5. – С. 48–53.
2. Сергиенко И. В. Атеросклероз и дислипидемии: современные аспекты патогенеза, диагностики и лечения / И. В. Сергиенко, А. А. Аншелес, В. В. Кухарчук. – ПатиСС., 2017. – 128 с.
3. ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias / A. L. Catapano, I. Graham, G. De Backer [et al]. // Eur Heart J. – 2016. – V. 37 (39). – P. 2999–3058.
4. Эффективность аторвастатина при профилактике инсульта / О. Д. Остроумова, И. И. Копченков, Т. Ф. Гусева [и др.] // Медицинский совет. – 2015. – № 12. – С. 84–92.
5. Сусеков А. В. Аторвастатин в лечении гиперхолестеринемии и атеросклероза: критерии выбора дозы в различных популяциях пациентов / А. В. Сусеков // Атеротромбоз. – 2014. – № 1. – С. 86–97.
6. Сатурская А. С. Особенности кардиопротекторного эффекта триметазидина при экспериментальном кардиосклерозе у крыс с различной степенью чувствительности к гипоксии / А. С. Сатурская // Вестник ВГМУ. – 2015. – Т. 14, № 1. – С. 34–40.

7. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації; за ред. О. В. Стефанова. – Київ : Авіцена, 2001. – 528 с.
8. Jowsufzai S. Y. K. 3-Hydroxy-3-Methylglutaric Acid and Experimental Atherosclerosis in Rats / S. Y. K. Jowsufzai, M. Siddiqi // Experientia. – 1976. – V. 32, № 8. – P. 1033–1034.
9. Ещенко Н. Д. Определение содержания молочной кислоты в тканях и активности лактат-дегидрогеназы в тканях / Н. Д. Ещенко // Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен); под ред. М. И. Прохоровой. – Ленинград, 1982. – С. 222–226.
10. Bergmeyer H. U. Methoden der enzymatischen Analyse / H. U. Bergmeyer. – Weinheim, 1974. – Bd. 2. – S. 2151–2160.

І. М. Білай, О. В. Цис, Є. О. Михайлюк

Фармакологічна безпека комбінації аторвастатину з триметазидином за умов експериментальної гіперліпідемії

Велику зацікавленість викликають комбінації гіполіпідемічних препаратів, зокрема, засобів з групи статинів (аторвастатин – інгібітор редуктази ГМГ-КоА) з метаболітотропним препаратом триметазидином.

Мета дослідження – оцінити вплив триметазидину на безпеку препарату (побічні прояви) аторвастатину в щурів з гіперліпідемією.

Для вивчення гіполіпідемічної активності використовували білих лабораторних щурів-самців лінії Вістар масою 180–200 г. Було сформовано 4 групи по 7 лабораторних тварин: 1 група – інтактна (вводили фізіологічний розчин внутрішньошлунково), 2 група – контрольна патологія (експериментальна гіперліпідемія), 3 група – тваринам з гіперліпідемією вводили аторвастатин у дозі 17,2 мг/кг (в еквіваленті добової дози 20 мг для людини), 4 група – тваринам з гіперліпідемією вводили комбінацію аторвастатину 17,2 мг/кг з триметазидином. Для моделювання гіперліпідемії застосовували «вітамінну» модель (S. K. Y. Jousufzai, M. Siddiqi, 1976 p.). Як маркери безпеки аторвастатину в сироватці крові оцінювали рівень ферментів цитолізу (АЛТ, АСТ) за допомогою імуноферментного методу з використанням лабораторних наборів Кармей та визначали коефіцієнт Де Ритиса. Активність креатинфосфокінази (КФК) та лактатдегідрогенази (ЛДГ) (маркери кардіо- та міотоксичної дії) визначали за методикою Н. У. Bergmeyer.

Отримані результати свідчать про зменшення під впливом триметазидину проявів токсичності аторвастатину, що відображалось в зниженні активності АСТ, АЛТ, у сироватці крові та їхнього співвідношення (коефіцієнт Де Ритиса) порівняно з контрольною групою та групою аторвастатину. Показники активності КФК і ЛДГ також знижувались в разі застосування комбінації аторвастатину та триметазидину майже в 2 рази порівняно з контрольною групою, а також вигідно вирізнялись порівняно з групою аторвастатину. Сумісне застосування вищевказаних препаратів призводить у щурів до зменшення побічних проявів аторвастатину завдяки цитопротекторним властивостям триметазидину.

Ключові слова: фармакологічна безпека, атеросклероз, аторвастатин, триметазидин, експериментальна гіперліпідемія

І. М. Белай, А. В. Цыс, Е. О. Михайлюк

Фармакологическая безопасность комбинации аторвастатина с триметазидином в условиях экспериментальной гиперлипидемии

Большой интерес вызывают комбинации гиполлипидемических препаратов, в частности средств из группы статинов (аторвастатин – ингибитор редуктазы ГМГ-КоА) с метаболитотропным препаратом триметазидином.

Цель исследования – оценить влияние триметазидина на безопасность препарата (побочные эффекты) аторвастатина у крыс с гиперлипидемией.

Изучение гиполлипидемической активности проводили на белых лабораторных крысах-самцах линии Вистар массой 180–200 г. Были сформированы 4 группы по 7 лабораторных животных: 1 группа – интактная (вводили физиологический раствор внутривентрикулярно), 2 группа – контрольная патология (экспериментальная гиперлипидемия), 3 группа – животным с гиперлипидемией вводили аторвастатин в дозе 17,2 мг / кг (в эквиваленте суточной дозы 20 мг для человека), 4 группа – животным с гиперлипидемией вводили комбинацию аторвастатина 17,2 мг / кг с триметазидином (0,5 мг/100 г). Для моделирования гиперлипидемии применяли «витаминную» модель (S. K. Y. Jousufzai, M. Siddiqi, 1976 г.). В качестве маркеров безопасности аторвастатина в сыворотке крови оценивали уровень ферментов цитолиза (АЛТ, АСТ) с помощью иммуноферментного метода с использованием лабораторных наборов Кармей и определяли коэффициент Де Ритиса. Активность креатинфосфокиназы (КФК) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) (маркеры кардио- и миотоксического действия) определяли по методике Н. У. Bergmeyer.

Полученные результаты свидетельствуют об уменьшении под влиянием триметазидина проявлений токсичности аторвастатина, что отражалось в снижении активности АСТ, АЛТ и их соотношения в сыворотке крови (коэффициент Де Ритиса) по сравнению с контрольной группой и группой аторвастатина. Показатели активности КФК и ЛДГ также снижались в условиях применения комбинации аторвастатина и триметазидина почти в 2 раза по сравнению с контрольной группой, а также

выгодно отличались от группы аторвастатина. Совместное применение вышеуказанных препаратов приводит у крыс к уменьшению побочных эффектов аторвастатина благодаря цитопротекторным свойствам триметазидина.

Ключевые слова: фармакологическая безопасность, атеросклероз, аторвастатин, триметазидин, экспериментальная гиперлипидемия

I. M. Bilai, A. V. Tsys, E. O. Mikhailuk

Pharmacological safety of atorvastatin with trimethazidine combination in experimental hyperlipidemia

Of great interest are combinations of hypolipidemic drugs, particularly those from the group of statins (atorvastatin, a reductase inhibitor of HMG-CoA) with a metabolitotropic drug trimetazidine.

The aim of the study was to evaluate the effect of trimetazidine on the safety (side effects) of atorvastatin in rats with hyperlipidemia.

For the study of hypolipidemic activity, white laboratory male Wistar rats weighing 180–200 g were used. 4 groups of 7 laboratory animals were formed: 1 group – intact (intragastric saline was injected), 2 groups – control pathology (experimental hyperlipidemia), 3 group – hyperlipidemia and atorvastatin which was administered at a dose of 17,2 mg/kg (in the equivalent of a daily dose of 20 mg for humans), group 4 – a combination of atorvastatin 17,2 mg/kg with trimethazidine (0,5 mg/100 g) was administered. For the modeling of hyperlipidemia, a «vitamin» model was used (S. K. Y. Jousufzai, M. Siddiqi, 1976). As the safety markers of atorvastatin the levels of cytolytic enzymes (ALT, AST) in serum were assessed by the immune enzyme method using Karmie's laboratory kits and the De Rithis coefficient was calculated. The activity of creatine phosphokinase (CPK) and lactate dehydrogenase (LDH) (cardio- and myotoxicity markers) was determined by H. U. Bergmeyer's method.

The results obtained indicate that trimethazidine reduced the cytotoxicity of atorvastatin, which was reflected in a decrease the levels of AST, ALT, in rats' serum and their ratios (De Rithis coefficient) compared with the control group and the atorvastatin group. The CPK and LDH activities also decreased with the combination of atorvastatin and trimethazidine by almost 2-fold compared with the control group and also beneficially differed from that of the atorvastatin group. Combination of the above drugs leads to reduction of atorvastatin side effects in rats due to cytoprotective effect of trimetazidine.

Key words: pharmacological safety, atherosclerosis, atorvastatine, trimetazidine, experimental hyperlipidemia

Надійшла: 21 квітня 2018 р.

Контактна особа: Білай Іван Михайлович, доктор медичних наук, професор, кафедра клінічної фармації, фармакотерапії та УЕФ, Запорізький державний медичний університет, буд. 26, просп. Маяковського, м. Запоріжжя, 69035. Тел.: + 38 0 96 795 98 28.
Електронна пошта: belay250455@gmail.com

Є. В. Залигіна, О. А. Подплетня, К. В. Соколова

Визначення вмісту суми флавоноїдів у складі густих екстрактів з незрілих плодів горіха волоського

*Державний заклад «Дніпропетровська медична академія
Міністерства охорони здоров'я України», м. Дніпро*

Ключові слова: екстракти густі з незрілих плодів горіха волоського, флавоноїди, метод УФ-спектрофотометрії, біологічно активні речовини

Флавоноїди – найчисельніша й найвивченіша група рослинних фенолів, це непластидні пігменти рослин жовтого, помаранчевого, червоного, синього та фіолетового кольорів. За ступенем окиснення або відновлення гетероциклічного кільця вони поділяються на шість груп: катехіни, антоціани, лейкоантоціани, флавори, флавонони, флавоноли. Біосинтез флавоноїдів здійснюється шикиматним та ацетатним шляхом [1].

Усі природні флавоноїди малотоксичні, вони виявляють широкий спектр фізіологічної дії на організм людини: беруть участь в окисно-відновних процесах, реакціях імунітету, зумовлюють протизапальну, сенсibilізуючу, протипухлинну, радіозахисну дію. Більшість флавоноїдів, особливо катехіни, мають високий рівень антиоксидантної активності [2].

Нині значну частину природних антиоксидантів виявлено й добре вивчено. Однак сьогодні ідентифікують нові флавоноїди, які можуть бути перспективним джерелом антиоксидантів для людини [3]. Пошук нових джерел флавоноїдів рослинного походження може бути ефективною, екологічно та економічно вигідною альтернативою їхнім синтетичним аналогам.

Нашу увагу привернули густі екстракти з незрілих плодів горіха волоського (ГВ) (*L. Juglans regia*) [4]. Аналізуючи попередні дослідження з безпечності та лікувально-профілактичної дії зазначених екстрактів, видно, що вони вияв-

ляють протимікробну, гастропротекторну та протизапальну активність [5–10].

Враховуючи широкий спектр фармакологічної дії екстрактів з незрілих плодів ГВ та можливі перспективи отримання з них нових лікарських форм, *мета дослідження* – визначення вмісту суми флавоноїдів у складі густих екстрактів з незрілих плодів ГВ.

Матеріали та методи. Сьогодні існує чимало методів визначення кількісного вмісту біологічно активних речовин (БАР) у лікарській рослинній сировині (ЛРС). Серед них – фізико-хімічні методи, такі як гравіметричні (вагові), титриметричні, хромато-денситометричні; електрохімічні методи, до яких відноситься потенціометрія; полярографічні методи, капілярний електрофорез. Нині все більшого поширення отримали різні інструментальні методи аналізу, які здатні швидко й точно виявити навіть незначні кількості БАР. До таких методів належать газова хроматографія та високоефективна рідинна хроматографія. Однак залишається актуальним метод спектрофотометрії у видимій й УФ області спектра. Даний метод досить добре вивчений і доступний, описаний у нормативних документах України та в провідних фармакопеях світу [11–13].

Визначення суми флавоноїдів у перерахунку на рутин у густих екстрактах з незрілих плодів ГВ проводили методом УФ-спектрофотометрії на спектрофотометрі СФ-46, ЛОМО. Для зважування наважки зразків використовувалися аналітичні ваги ANG 200 фірми «AXIZ», Польща.

Результати та їх обговорення. Екстракт густий водний (ЕГВ) та екстракти

густі водно-спиртові з концентрацією екстрагенту – спирту етилового 30, 70 і 96 % (ЕГВС 30, ЕГВС 70, ЕГВС 96, відповідно) були одержані на базі НФаУ під керівництвом професора В. А. Георгіянц, шляхом комплексної переробки незрілих плодів молочно-воскової стиглості ГВ (*Juglans regia* L.).

Нами проведені реакції досліджуваних екстрактів з розчином алюмінію хлориду та записані абсорбційні спектри поглинання отриманих забарвлених розчинів в області 380–500 нм (рисунок). Встановлено, що абсорбційні спектри досліджуваних розчинів характеризуються наявністю максимуму поглинання за довжини хвилі 412 нм, який відповідає максимуму поглинання розчину рутину після реакції взаємодії з розчином алюмінію хлориду в кислому середовищі.

Випробовуваний розчин готували наступним чином: 0,5 г густого екстракту поміщали в колбу на 250 мл, додавали 50 мл спирту етилового 50 %, отриманий розчин охолоджували та фільтрували через паперовий фільтр. 1 мл фільтрату поміщали в мірну колбу на 50 мл, додавали 10 мл спирту етилового 50 %, 2 мл спиртового розчину алюмінію хлориду 50 г/л, через 10 хв додавали 1 мл розчину кислоти оцтової 50 г/л та доводили спиртом етиловим 50 % до позначки.

Розчин порівняння готували за наступною схемою: 0,02 г (точна наважка) стандартного зразка рутину розчиняли в 30 мл 96 % спирту етилового при нагріванні на водяній бані, охолоджували та доводили об'єм розчину тим самим розчинником до 100 мл. До 1 мл отриманого розчину додавали 1 мл розчину алюмінію хлориду і доводили об'єм розчином 5 % кислоти оцтової льодяної в етанолі Р до 25,0 мл.

Для приготування компенсаційного розчину 1 мл фільтрату поміщали в мірну колбу на 50 мл, додавали 10 мл спирту етилового 50 %, 1 мл розчину кислоти оцтової 50 г/л та доводили спиртом етиловим 50 % до позначки.

Далі на спектрофотометрі проводили визначення оптичної густини компенсаційного та випробовуваного розчинів. Оптичну густину випробовуваних роз-

чинів вимірювали не пізніше, ніж через 30 хв після приготування. Оптичну густину отриманих випробовуваних розчинів і розчину стандартного зразка рутину визначали на спектрофотометрі за довжини хвилі 412 нм [13].

Розрахунок умісту суми флавоноїдів у екстрактах у відсотках проводили за формулою:

$$X = \frac{D_1}{D_0} \cdot \left(\frac{m_0 \cdot 1}{100 \cdot 25} \right) \cdot \left(\frac{50 \cdot 50}{m_1 \cdot 1} \right) \cdot \frac{100}{(100 - d)} \cdot \frac{P}{100} \cdot 100,$$

де D_1 – оптична густина розчину досліджуваного екстракту за довжини хвилі 412 нм;

m_1 – маса наважки досліджуваного екстракту для приготування випробовуваного розчину, г;

m_0 – маса наважки стандартної речовини – рутину для приготування стандартного розчину, г;

D_0 – оптична густина розчину стандартної речовини рутину за довжини хвилі 412 нм;

d – втрати в масі за висушування густого екстракту, %;

P – уміст рутину в стандартному зразку, %.

Результати визначення вмісту флавоноїдів у екстрактах наведено в таблиці. За результатами проведених досліджень встановлено, що сумарний уміст флавоноїдів у густих екстрактах з незрілих плодів ГВ становить 0,37–0,51 %, отже видно, що кількісний уміст суми флавоноїдів досліджуваних екстрактів суттєво не відрізняється та не залежить від використаного екстрагенту, а критерієм їхнього вмісту може бути кількість не менше ніж 0,30 %. Спектрофотометричний метод може бути використаний за створення нормативно-технічної документації.

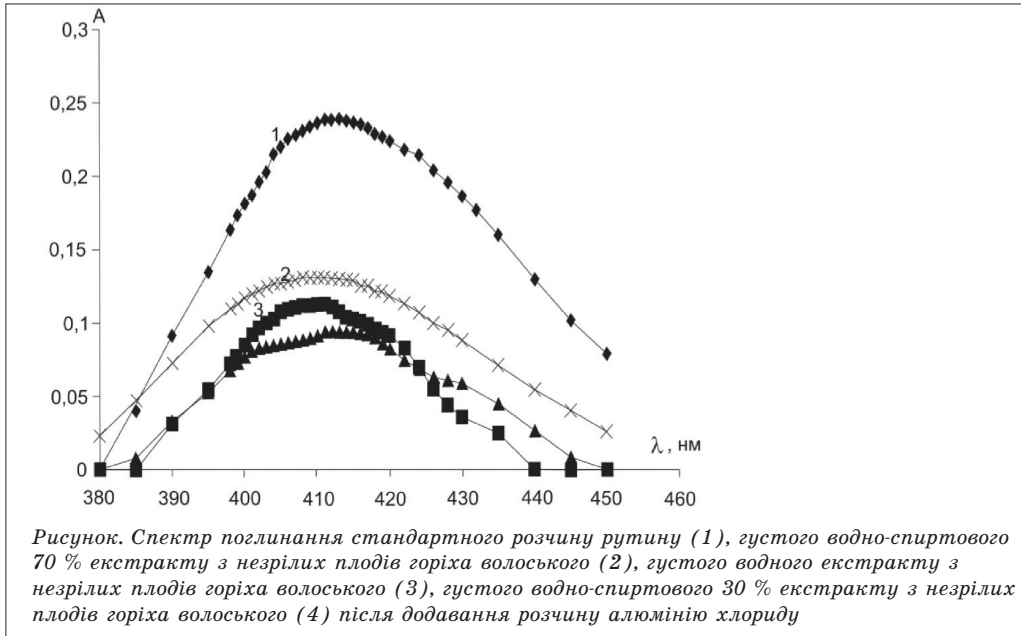
Враховуючи достатній уміст флавоноїдів у досліджуваних екстрактах, вважаємо за доцільне подальше вивчення властивостей густих екстрактів з незрілих плодів ГВ з метою створення потенційного нового ЛЗ.

Висновки

Таким чином, було розроблено методику кількісного визначення вмісту

Результати кількісного визначення вмісту флавоноїдів у густих екстрактах з плодів горіха волоського

Екстракт	$X_{\text{ср}}, \%$
Водний	0,43
Водно-спиртовий (спирт етиловий 30 %)	0,37
Водно-спиртовий (спирт етиловий 70 %)	0,51
Водно-спиртовий (спирт етиловий 96 %)	0,40



суми флавоноїдів у густих екстрактах з незрілих плодів ГВ у перерахунок на рутин з використанням УФ-спектрофотометрії. Методом УФ-спектрофотометрії було визначено суму флавоноїдів у складі всіх досліджуваних густих екстрактів з незрілих плодів

ГВ. Найбільшу кількість флавоноїдів вміщує водно-спиртовий 70 % екстракт (0,51 %), найменшу – водно-спиртовий 30 % (0,37 %). Результати дослідження можуть бути використані для розробки методик контролю якості.

1. Keller R. B. Flavonoids: biosynthesis, biological effects and dietary sources / R. B. Keller. – NY : Nova Science Publishers, 2009. – 388 p.
2. Pokorny J. Application of phenolic antioxidants in food products / J. Pokorny // EJEAF Chem. – 2008. – V. 7. – P. 3320–3324.
3. Pokorny J. Food Preservation Techniques / Eds. P. Zeuthen, L. Bogh-Sorensen. – Cambridge : Woodhead Publishing, UK, 2000. – P. 33–48.
4. Tree Nuts (Walnut polyphenols: structures and functions); Ed. by Toshiyuki Fukuda / Tree Nuts: Composition, Phytochemicals, and Health effects; Ed. by Cesaretin Alasalvar and Fereidoon Shahidi // Nutraceutical Science and Technology; Ed. by Fereidoon Shahidi. – Boca Raton/ London/ New York : CRC Press Taylor & Francis Grup, 2009. – 307 p.
5. Залигіна Є. В. Експериментальне дослідження впливу густого екстракту з незрілих плодів горіха волоського на функціональні показники роботи шлунково-кишкового тракту / Є. В. Залигіна, О. А. Подплетня // 36. матеріалів VIII Національного з'їзду фармацевтів України, 13–16 вересня 2016 р., Харків. – С. 45.
6. Zalygina E. V. Antimicrobial activity of thick aqueous-alcoholic extract of unripe walnut fruits / E.V. Zalygina, I. P. Koshova, E. A. Podpletnyaya // East European Scientific. – 2017. – № 1. – P. 127–134.
7. Залигіна Є. В. Дослідження гострої токсичності та протизапальної дії екстракту густого водно-спиртового з незрілих плодів горіха волоського / Є. В. Залигіна, О. А. Подплетня, В. Ю. Слесарчук // Український біофармацевтичний журнал. – 2017. – № 2 (49). – С. 44–48.

8. 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.
9. Залигіна Є. В. Порівняльне вивчення токсичності густого водно-спиртового екстракту з незрілих плодів горіха волоського та препарату Альтан за повторного введення щурам / Є. В. Залигіна // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2017. – № 6 (56). – С. 72–82.
10. Перспективи створення нових противиразкових лікарських засобів на основі біологічно активних речовин горіха волоського / Є. В. Залигіна, В. Ю. Слесарчук, О. А. Подплетня, Н. Ю. Бабаніна // Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів: матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції (28–29 березня 2018 р.): у 2 т. – Х. 1. – 268 с. – (Серія «Наука»), 2018. ISSN 2412 – 045.
11. Ruhrkrautbluten // Deutsches Arzneimittel Codex. – Stuttgart: Deutsher Apotheker Verlag, 2000.
12. State Pharmacopoeia of Ukraine / State Enterprise «Scientific and Expert Pharmacopoeial Centre». – 1st ed. – Kharkov : RIREN, 2001. – 556 p.
13. State Pharmacopoeia of Ukraine / State Enterprise «Ukrainian scientific Pharmacopoeial center of drugs quality». – 1st ed. – Appendix 3. – Kharkiv : State Enterprise «Ukrainian scientific center pharmacopoeia quality of drugs», 2009. – 280 p.

Є. В. Залигіна, О. А. Подплетня, К. В. Соколова

Визначення вмісту суми флавоноїдів у складі густих екстрактів з незрілих плодів горіха волоського

Флавоноїди – найчисельніша і найвивченіша група рослинних фенольних сполук, які містять у молекулі реакційноздатні фенольні радикали та карбонільну групу. Завдяки цьому вони беруть участь у різноманітних метаболічних процесах, що зумовлює їхню біологічну активність. Усі природні флавоноїди малотоксичні, вони виявляють широкий спектр дії на організм людини. Останнім часом ідентифікують нові флавоноїди, які можуть бути перспективним джерелом антиоксидантів для людини.

Сьогодні найперспективнішим напрямом прикладних досліджень є вивчення антиоксидантних, антибактеріальних, цитотоксичних властивостей флавоноїдів з метою отримання безпечних препаратів природного походження для фармацевтичної промисловості. Пошук нових джерел флавоноїдів рослинного походження може бути ефективною, екологічно та економічно вигідною альтернативою їхнім синтетичним аналогам.

Нашу увагу привернули густі екстракти з незрілих плодів горіха волоського, які виявляють протимікробну, гастропротекторну та протизапальну активність.

Мета дослідження – визначити вміст суми флавоноїдів у складі густих екстрактів з незрілих плодів горіха волоського.

Екстракт густий водний та екстракти густі водно-спиртові з концентрацією спирту етилового 30, 70 і 96 % були одержані на базі НФаУ під керівництвом професора В. А. Георгіянець шляхом комплексної переробки незрілих плодів молочно-воскової стиглості горіха волоського. Визначення суми флавоноїдів у перерахунку на рутин у густих екстрактах з незрілих плодів горіха волоського проводили методом УФ-спектрофотометрії.

У дослідженні виявлено, що випробовувані розчини з екстракту густого водного та екстрактів густих водно-спиртових з концентрацією спирту етилового 30, 70 і 96 % характеризуються наявністю максимуму поглинання за довжини хвилі 412 нм, що є близьким до максимуму поглинання розчину стандартного зразка рутину, приготованого за таких самих умов. Уміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин для водного екстракту склав 0,43 %, а для водно-спиртових (30, 70, 96 %) – 0,37 %, 0,51 %, 0,40 % відповідно.

Таким чином, методом УФ-спектрофотометрії було визначено суму флавоноїдів у складі всіх досліджуваних густих екстрактів з незрілих плодів горіха волоського. Найбільшу кількість флавоноїдів уміщує водно-спиртовий 70 % екстракт (0,51 %), найменшу – водно-спиртовий 30 % (0,37 %).

Ключові слова: екстракти густі з незрілих плодів горіха волоського, флавоноїди, метод УФ-спектрофотометрії, біологічно активні речовини

Е. В. Залигіна, Е. А. Подплетня, К. В. Соколова

Определение содержания суммы флавоноидов в составе густых экстрактов из незрелых плодов ореха грецкого

Флавоноиды – самая многочисленная и наиболее изученная группа растительных фенольных соединений, содержащих в молекуле реакционные фенольные радикалы и карбонильную группу. Благодаря этому они участвуют в различных метаболических процессах, что обуславливает их биологическую активность. Все природные флавоноиды малотоксичны, они проявляют широкий спектр действия на организм человека. В последнее время идентифицируют новые флавоноиды, которые могут быть перспективным источником антиоксидантов для человека.

Наиболее перспективным направлением прикладных исследований является изучение антиоксидантных, антибактериальных, цитотоксических свойств флавоноидов с целью получения безопасных препаратов природного происхождения для фармацевтической промышленности. Поиск

новых источников флавоноидов растительного происхождения может быть эффективной, экологически и экономически выгодной альтернативой их синтетическим аналогам.

Наше внимание привлекли густые экстракты из незрелых плодов ореха грецкого, которые проявляют противомикробное, гастропротекторное и противовоспалительное действие.

Цель исследования – определить содержание суммы флавоноидов в составе густых экстрактов из незрелых плодов ореха грецкого.

Экстракт густой водный и экстракты густые водно-спиртовые с концентрацией спирта этилового 30, 70 и 96 % были получены на базе НФаУ под руководством профессора В. А. Георгиянц путем комплексной переработки незрелых плодов молочно-восковой спелости ореха грецкого. Определение суммы флавоноидов в пересчете на рутин в густых экстрактах из незрелых плодов ореха грецкого проводили методом УФ-спектрофотометрии.

В исследовании выявлено, что испытуемые растворы из экстракта густого водного и экстрактов густых водно-спиртовых с концентрацией спирта этилового 30, 70 и 96 % характеризуются наличием максимума поглощения при длине волны 412 нм, что близко к максимуму поглощения раствора стандартного образца рутина в тех же условиях. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин для водного экстракта составило 0,43 %, а для водно-спиртовых (30, 70 и 96 %) – 0,37 %, 0,51 %, 0,40 % соответственно.

Таким образом, методом УФ-спектрофотометрии была определена сумма флавоноидов в составе всех исследуемых густых экстрактов из незрелых плодов ореха грецкого. Наибольшее количество флавоноидов содержится в водно-спиртовом 70 % экстракте (0,51 %), наименьшее – в водно-спиртовом 30 % (0,37 %).

Ключевые слова: экстракты густые из незрелых плодов ореха грецкого, флавоноиды, метод УФ-спектрофотометрии, биологически активные вещества

I. V. Zalygina, H. A. Podpletnya, K. V. Sokolova

Determination of the flavonoids amount in the composition of thick extracts from immature walnut fruit

Flavonoids are the most numerous and the most studied group of plant phenolic compounds. Flavonoids include in the molecule reactive phenolic radicals and a carbonyl group. Due to this, they participate in various metabolic processes, which cause their biological activity. All natural flavonoids are low toxicity and show a wide range of effects on the human body. Recently there were identified new flavonoids, which can be a promising source of antioxidants for humans.

The most promising area of applied research is the study of the antioxidant, antibacterial, cytotoxic properties of flavonoids in order to obtain safe drugs of natural origin for the pharmaceutical industry. The search for new sources of plant flavonoids can be an effective, environmentally and economically advantageous alternative to their synthetic analogues.

Our attention was attracted by thick extracts from unripe walnut fruit, which show antimicrobial, gastroprotective and anti-inflammatory activity

The purpose of the work is to determine the amount of flavonoids in the composition of thick extracts from immature walnut fruit.

Thick water and water-alcohol extracts with an ethyl alcohol concentration of 30, 70 and 96 % were obtained by means of complex processing of immature fruits of milk-wax ripeness of walnut. The determination of the sum of flavonoids in terms of rutin in thick extracts from immature walnut fruit was carried out by UV spectrophotometry.

It was found out that the test solutions from the thick water extract and the thick water-alcoholic extracts with an ethyl alcohol concentration of 30, 70 and 96 % are characterized by the presence of an absorption maximum at a wavelength of 412 nm, which is close to the maximum absorption of the standard solution under the rutin same conditions. The content of the sum of flavonoids in terms of rutin for water extract was 0,43%, and for water-alcohol (30, 70 and 96 %) – 0,37 %, 0,51 %, 0,40 % .

Thus by the method of UV spectrophotometry, the amount of flavonoids in the composition of all amount studied thick extracts from immature walnut fruit was found. The greatest amount of flavonoids is contained in water-alcohol 70 % extract (0,51%), the lowest – in water-alcohol 30 % (0,37 %).

Key words: thick extracts from immature walnut fruit, flavonoids, UV spectrophotometry method, biologically active substances

Надійшла: 16 травня 2018 р.

Контактна особа: Залигіна Євгенія Володимирівна, 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

М. Г. Левин, В. Н. Брицун, Р. А. Мелешко, О. Н. Терещенко,
А. А. Гуменюк, Н. В. Останина

Современные аспекты нормирования и контроля профиля примесей в лекарственных препаратах

Государственное учреждение «Институт общественного здоровья имени А. Н. Марзеева
Национальной академии медицинских наук Украины», г. Киев

Ключевые слова: лекарственные субстанции, лекарственные препараты, фармакопея, фармацевтический анализ, контроль качества, руководства ICH, профиль примесей

По мере развития комплекса наук о человеке и лекарствах (медицины, биологии, фармакологии, фармации и химии) разумно ужесточаются требования к примесям в лекарственных субстанциях, препаратах и сырье. Чтобы представить перспективы развития столь важной области фармацевтического анализа, как нормирование и контроль профиля сопутствующих примесей в лекарственных субстанциях и препаратах, представляется важным рассмотреть процесс развития нормативных требований к лекарствам в исторической перспективе.

История лекарств начинается с историей человечества. Однако четкие признаки их стандартизации (то есть соответствия системным объективным требованиям) появляются только в начале XIX века. В первых фармакопеях из-за отсутствия каких-либо методов химического анализа препараты, производимые аптекарями, и лекарственное сырье идентифицировали по внешнему виду, запаху или вкусу, или просто рекомендовали получать их из так называемого надежного источника [1].

Этот уровень фармацевтики и химического анализа (как и химии в целом) соответствовал состоянию младенчества [2]. Использовать тогдашние достижения аналитической химии было практически невозможно.

С середины XIX века в первом издании Британской Фармакопеи стали широко использоваться химические

тесты идентификации, предельные тесты и контроль за температурой плавления, растворимостью и плотностью [3]. Проверки под рубрикой «характерные свойства» («Characters») в монографиях этой фармакопеи практически всегда включали испытания для выявления подделки.

Итак, от середины до конца XIX века парадигма фармацевтического анализа состояла в выявлении фальсификата всеми доступными на то время средствами. Эта тенденция отвечала дальнейшему развитию и рутинизации химического анализа.

Следующий этап, длившийся примерно от начала и до середины XX века, характерен тем, что помимо качественной идентификации, для контроля соответствия медицинских препаратов стало применяться количественное определение [4]. Постепенно появлялись и совершенствовались методы контроля особо токсичных элементов (например, мышьяка и свинца), колориметрические тесты для некоторых органических примесей (например, салициловой кислоты в аспирине), начала использоваться тонкослойная хроматография (ТСХ) [4].

Данный уровень отвечал начальной фазе развития гравиметрического и объеметрического количественного химического анализа [2] и способствовал появлению современной системы стандартизации количественных методов, основанной на терминах грамм-моля, молярной и нормальной концентраций, которые впервые были введены в Британскую Фармакопею в 1914 году [4].

Можно утверждать, что парадигмой фармацевтического анализа первой половины XX века была надежная

идентификация с выявлением фальсификации и количественное определение действующих веществ в лекарственных продуктах методами тогдашней аналитической химии, что позволяло оградить потребителя не только от фальсификатов, но и от брака производства, приводившего к неправильной дозировке, и в некоторых случаях от препаратов, которые неправильно и/или слишком долго хранились.

С середины XX века от методики количественного определения стали требовать, чтобы она была достаточно избирательна, то есть, позволяла определять содержание активного компонента при наличии его родственных (структурно близких) соединений и, особенно – продуктов разложения. Такие методы контроля часто основывались на применении спектральных методов химического анализа, в особенности спектрофотометрического, сначала в видимой (колориметрия), а затем и в ультрафиолетовой области спектра [2]. Например, Британская Фармакопея в 1963 году начала использовать инфракрасную спектроскопию для идентификации лекарственных продуктов [3].

Была выработана и получила всеобщее признание концепция аналитической валидации, привнесшая такие термины, как селективность (специфичность) и робастность.

Парадигму этого периода можно сформулировать так: надежная идентификация продукта, правильное и точное количественное определение активного фармацевтического компонента посредством методики, показательной в отношении стабильности, и контроль профиля примесей настолько полно, насколько это технически возможно. Стала использоваться и развиваться химическая метрология.

Если в 1980-х годах философия (как часть парадигмы) построения спецификации для монографии на лекарственный продукт (субстанцию) была такова, что использовалось многообразие аналитических технологий для выявления и контроля примесей, а для теста «количественное определение» активного фармацевтического ингредиента была допу-

стима неселективность по отношению к родственным соединениям, как например, титрование (если родственные соединения титруются совместно с аналитом) или спектрофотометрия (если родственные соединения также имеют аналитический сигнал, например, оптическую плотность на анализируемой длине волны). Но в 1993 году Британская Фармакопея [3] рекомендовала производителям использовать высокочувствительные методики количественного определения, показательные по отношению к стабильности, такие как ВЭЖХ и ГХ. В том же 1993 году Британская Фармакопея включила использование масс-спектрометрии в сочетании с газовой хроматографией с капиллярной колонкой для выполнения предельного теста на сопутствующую примесь – сильнейший токсикант и канцероген 2,3,7,8-тетрахлордibenзо-*p*-диоксин (TCDD) в монографии на гексахлорпропан. Такой подход позволил контролировать содержание этого токсина на уровне 2 миллиардных частей (ppb). Так началась эра широчайшего использования разнообразных видов хроматографии и гибридных методов, в частности, сочетания хроматографии и масс-спектрометрии, в фармацевтическом анализе [3].

В 1993 году Европейская Фармакопея (и все Фармакопеи стран участников Европейской Фармакопеи) анонсировала, что каждая ее новая монография будет указывать все родственные соединения, которые ею определяются, и обеспечивать достаточную полноту контроля всего профиля родственных соединений [5]. Этот подход отразил обеспокоенность фармацевтической общественности тем обстоятельством, что после истечения сроков патентной защиты новые производители могут использовать иные пути синтеза и способы очистки, то есть, тем, что новые технологии получения лекарственных субстанций генерируют профили примесей, отличных от контролируемых монографиями, разработанными, как правило, для технологий оригинальных препаратов.

Построенные на таких основах фармакопейные монографии получили

название «прозрачных» монографий и, как нам представляется, с этого момента возникла современная парадигма фармацевтического анализа. Итак, мы живем в пятом регуляторном периоде. Он начался в конце XX века, когда consistently увеличилась средняя продолжительность жизни, и многие патологические состояния стали требовать длительного или даже пожизненного приема лекарств, что привело к разработке новых подходов к нормированию сопутствующих примесей. Больше внимания начали уделять не просто лечебному действию, то есть пользе, но и побочным действиям лекарств, то есть, соотношению польза/риск. Поэтому стратегия регуляторов и производителей под воздействием общественного мнения все более стала строиться на так называемом управлении рисками. Регуляторные органы для оценки качества лекарственного препарата, кроме идентификации и специфичной методики количественного определения, стали требовать жесткого нормирования сопутствующих примесей в лекарственных субстанциях и препаратах. Более того, для получения рыночной лицензии от заявителя стали требовать полного понимания химии и технологии, связанных с лекарственным продуктом, в частности, полного знания профиля сопутствующих примесей на уровне выше некоторого (достаточно низкого) порога включения в отчет. Обязательной стала глубокая оценка производителем всего комплекса работ по разработке и производству лекарственного препарата с выявлением стадий, несущих максимальные риски, и программы экономически обоснованного понижения этих рисков.

Современная парадигма фармацевтического химического анализа (без затрагивания функциональных тестов) звучит так:

- 1) Надежная идентификация лекарственного препарата;
- 2) Правильное и точное количественное определение активного фармацевтического ингредиента/компонента посредством методики, показательной в отношении стабильности;

- 3) Как можно более полный контроль профиля примесей, основанный на современном уровне развития науки и технологий и обеспечивающий качество и безопасность продукта.

Квинтэссенцией данного подхода стали опубликованные в 1990-е годы и финализированные в начале 2000-х годов Руководства ICH – документы по примесям в новых лекарственных субстанциях [6] и препаратах [7].

ICH – аббревиатура названия международной организации «Международный совет по гармонизации технических требований для лекарств, предназначенных для человека». Участниками этой организации являются США, ЕС и Япония, а выработанные гармонизированные технические требования к лекарствам (субстанциям, препаратам и вспомогательным веществам) обязательны для лекарств, используемых на территории указанных выше участников. Так как Украина является ассоциированным членом ЕС, то эти требования имеют некоторую юридическую силу и у нас, в частности, все Постановления Минздрава и его специализированных органов, касающиеся всех аспектов качества лекарств, как правило, гармонизированы с соответствующими Руководствами ICH. По мере пересмотра старых общих статей и монографий в фармакопеех участников ICH тесты заменяются на гармонизированные в рамках ICH-процесса (то есть, на практически одинаковые), а новые уже, как правило, являются гармонизированными.

Далее под термином лекарственный продукт мы будем понимать как лекарственную субстанцию, так и лекарственный препарат.

Выпуск лекарственных препаратов и субстанций в рамках требований «Надлежащей производственной практики» (GMP, Good Manufacturing Practice) предполагает, что в них не может быть иных примесей, кроме тех, что естественным образом возникают в рамках нормального технологического процесса (так называемые сопутствующие примеси), и не может быть примесей, которые попали случайным образом,

например, из-за плохой отмывки технологического оборудования, так называемые посторонние примеси.

Следует отметить, что принцип «прозрачности» (полной доступности информации) гласит, что все примеси лекарственной субстанции, которые связаны с ее получением, то есть, исходные вещества, побочные и промежуточные продукты, общетехнологические и механические примеси, которые попадают в лекарственный препарат вместе с субстанцией и связующими добавками – известны, легко идентифицируются и контролируются.

Комплекс Руководств по качеству ICH [8] в сочетании со строгим выполнением правил GMP обеспечивает отсутствие на значимых уровнях так называемых посторонних примесей в лекарственных продуктах и гарантирует принцип «прозрачности» методов контроля данного лекарственного продукта. Это означает, что посредством этих методов выявляются и контролируются все примеси, которые попадают в продукт в результате процессов его получения и хранения.

Отметим, что принцип прозрачности методов контроля качества позволяет, в частности, использовать лекарственную субстанцию до тех пор, пока она отвечает спецификации, что чрезвычайно выгодно для фармацевтической промышленности.

Ключевой особенностью руководств ICH является то, что примеси (родственные соединения) в лекарственных препаратах в зависимости от их содержания в продукте и максимальной суточной экспозиции пациента примесью в результате приема лекарственно-

го продукта классифицируются на три категории:

- 1) примеси, включаемые в отчет;
- 2) примеси, для которых требуется идентификация;
- 3) примеси, для которых требуется квалификация.

Согласно современной классификации примесей по содержанию в лекарственных субстанциях и препаратах [6, 7] существуют три концентрационных порога в порядке возрастания: порог включения в отчет, порог идентификации и порог квалификации. Если концентрация сопутствующей примеси превышает первый из них, но меньше второго, то она включается в тот документ, который генерируется в результате тестирования продукта, то есть, учитывается в так называемой сумме примесей; если концентрация примеси превышает порог идентификации, то ее химическое строение должно быть определено, и наконец, если содержание примеси превышает порог квалификации, то должен быть определен некоторый набор ее токсикологических свойств [6]. Более детально эта классификация разъясняется при обсуждении дерева решений для идентификации и квалификации.

Отметим, что отнесение к той или иной категории осуществляется с помощью таблицы 1 (приложение №1, [6]), таблицы 2 (приложение №1, [7]) и дерева решений (приложение № 3, [6]).

Сравним идентичные позиции из таблиц 1 и 2, максимальная суточная доза > 2000 мг (табл. 3).

Как видно, все пороговые содержания для лекарственного препарата

Таблица 1

Пределы содержания примесей для лекарственных субстанций

Максимальная суточная доза ¹	Предел включения в отчет ^{2, 3}	Предел идентификации ³	Предел квалификации ³
≤ 2 г/сутки	0,05 %	0,10 % или 1,0 мг приема в сутки (выбирается то, что меньше)	0,15 % или 1,0 мг приема в сутки (выбирается то, что меньше)
> 2 г/сутки	0,03 %	0,05 %	0,05 %

Примечание. ¹Количество лекарственной субстанции, получаемое пациентом за сутки (в составе лекарственного препарата). ²более высокие пороги включения в отчет должны быть научно обоснованы, ³более низкие пороги могут быть уместны в том случае, если примесь является необычно токсичной.

**Пределы содержания для продуктов деградации
в новых лекарственных препаратах**

Максимальная суточная доза ¹	Предел включе- ния в отчет ^{2, 3}	Предел идентификации ³	Предел квалификации ³
≤ 1 г	0,1 %	-	-
≥ 1 г	0,05 %	-	-
≤ 1 г	-	1,0 % или 5 мкг TDI (выбрать то, которое меньше)	-
1–10 мг	-	0,5 % или 20 мкг TDI (выбрать то, которое меньше)	-
> 10–2000 мг	-	0,2 % или 2000 мкг TDI (выбрать то, кото- рое меньше)	-
> 2000 мг	-	0,1 %	-
≤ 1 мг	-	-	1,0 % или 50 мкг TDI (выбрать то, которое меньше)
1–10 мг	-	-	0,5 % или 200 мкг TDI (выбрать то, которое меньше)
> 10–2000 мг	-	-	0,2 % или 3000 мкг TDI (выбрать то, кото- рое меньше)
> 2000 мг	-	-	0,15 %

Примечание. ¹Количество лекарственной субстанции, получаемое пациентом за сутки (в составе лекарственного препарата), ²пороги для продуктов деградации выражаются или как процент лекарственной субстанции, или как полный суточный прием (Total Daily Intake (TDI) продукта деградации. Более низкие пороги могут быть уместны, если продукт деградации необычно токсичен, ³более высокие пороги включения в отчет должны быть научно обоснованы.

Таблица 3

**Сравнение величин пороговых содержаний примесей для максимальной
суточной дозы более 2000 мг (для лекарственной субстанции и препарата)**

Макси- мальная суточная доза	Порог включения в отчет, %		Предел идентификации, %		Предел квалификации, %	
	субстан- ция	препарат	субстан- ция	препарат	субстан- ция	препарат
> 2000 мг	0,03	0,05	0,05	0,10	0,05	0,15

намного более либеральны. Объяснением этому служат два обстоятельства:
1) продукты разложения, которые контролируются в лекарственном препарате, являются родственными соединениями лекарственной субстанции, то есть, предположительно имеют близкий профиль токсичности с лекарственной субстанцией;

2) продукты разложения, которые контролируются в лекарственном препарате, могут предварительно образоваться уже в субстанции до того, как она попала в препарат, то есть, допустимый уровень продуктов разложения, общих для субстанции и препарата, в препарате может быть, как правило, выше, чем в суб-

станции. Естественно, это не относится к продуктам разложения, специфичным для препарата, например, продуктам взаимодействия лекарственной субстанции и вспомогательных веществ или упаковки.

Древо решений для идентификации и квалификации примесей представлено на рисунке [6].

Из рисунка можно дать следующее представление процесса квалификации примеси: действия по квалификации примеси начинаются, если уровень содержания примеси находится выше порога идентификации. Каждая примесь, содержание которой может находиться на уровне выше порога идентификации, проверяется на наличие рисков для человека (это литературный поиск и поиск с использованием так называемой компьютерной токсикологии [9–11]). Если такой поиск не указывает на потенциальные угрозы, а уровень содержания примеси не превышает порога квалификации, то деятельность прекращается.

Если же уровень содержания примеси выше порога квалификации (и при

этом уровень содержания примеси нельзя понизить так, чтобы он был ниже порога квалификации), то в зависимости от того, какова популяция предполагаемых пациентов и какова продолжительность лечения (и максимальная суточная доза), должны быть проведены соответствующие токсикологические исследования [6].

Таким образом, в руководствах ИСН указывается, что: 1) увеличение порога возможно при надлежащем научном обосновании; 2) уменьшение может потребоваться для примесей с необычно высокой токсичностью.

Такой уровень регуляторных требований соответствует массовому применению и рутинизации хроматографических и электрокинетических методов разделения, таких как высокоэффективная жидкостная и газовая хроматографии (ВЭЖХ и ГХ), масс-спектрометрия, тонкослойная хроматография (ТСХ) и капиллярный электрофорез [2, 12]. То есть, эти методы с конца XX столетия стали постоянно применяться как при разработке, так и контроле качества лекарственных препаратов.



Разработка и использование методик на основе указанных методов получили некоторую формальную основу в виде требований к валидации аналитических методик [13] и их рутинному использованию в рамках надлежащих лабораторных и производственных практик (GLP и GMP соответственно) [14, 15]. В результате появились учебники, посвященные теоретическим основам метода и разработке методик на его основе. Например, в случае ВЭЖХ, нельзя не упомянуть монографии, написанные Л. Снайдером и соавторами [16–18].

Из рисунка видно, что регуляторный подход к нормированию сопутствующих примесей в зависимости от их токсичности (то есть смещение центра тяжести парадигмы от «качества» к «безопасности») постепенно формировался в рамках ИСН. Первый раз в развернутом виде он был представлен в виде Руководства по остаточным растворителям в лекарственных продуктах [19]. Это Руководство, появившееся в виде проекта в середине 1990-х годов и завершенное в 2011 году, дает нормировку для примерно 50 самых распространенных растворителей, которые могут использоваться при производстве лекарственных продуктов, и как следствие, остаточные количества которых в продукте могут подлежать нормированию и контролю.

Руководство [19] подразделяет все органические растворители на три класса в зависимости их токсичности следующим образом:

1) первый класс – растворители, которых следует избегать. К ним отно-

сятся вещества, в отношении которых имеются существенные подозрения в канцерогенности для человека и те соединения, которые представляют большую угрозу для окружающей среды. Если нет возможности избежать применение вещества из этого класса, то его остаточное количество очень жестко регламентируется;

2) второй класс – растворители с умеренной токсичностью, содержание которых в продукте должно быть ограничено;

3) третий класс – соединения с низкой токсичностью.

Для растворителей первых двух классов используются индивидуальные пределы содержания, которые вычисляются на основе предельных суточных экспозиций человека (специфичных для каждого растворителя) и принятой предельной суточной дозы продукта (10 г). Диапазон допустимых концентраций в продукте растворителей первого и второго классов простирается от 2 (бензол) до 3880 (циклогексан) миллионных долей (ppm). Все растворители третьего класса нормируются единообразно, не более 5000 ppm. Всего нормировано 59 растворителей, для 10 указано отсутствие адекватных токсикологических данных. Ограничения концентраций некоторых растворителей приведены в таблицах 4–7 [19].

Фактически руководство [19] заменило тест «потеря в массе при высушивании», позволявший суммарно определять все летучие компоненты, на

Таблица 4

*Растворители класса 1 в лекарственных продуктах
(растворители, которых следует избегать)*

№ п/п	Растворитель	Предел концентрации (ppm)	Причина опасности
1	Бензол	2	Канцероген
2	Четыреххлористый углерод	4	Токсичен и опасен для окружающей среды
3	1,2-Дихлорэтан	5	Токсичен
4	1,1-Дихлорэтан	8	Токсичен
5	1,1,1-Трихлорэтан	1500	Опасен для окружающей среды

Растворители класса 2 в лекарственных продуктах

№ п/п	Растворитель	Предельная суточная экспозиция, мг/сутки	Предел концентрации (ppm)
1	Ацетонитрил	4,1	410
2	Хлорбензол	3,6	360
3	Хлороформ	0,6	60
4	Кумен	0,7	70
5	Циклогексан	38,8	3880
6	1,2-дихлорэтилен	18,7	1870
7	Дихлорметан	6,0	600
8	1,2-Диметоксиэтан	1,0	100
9	N,N-диметилацетамид	10,9	1090
10	N,N-диметилформамид	8,8	880
11	1,4-диоксан	3,8	380
12	2-Этоксиэтанол	1,6	160
13	Этиленгликоль	6,2	620
14	Формаамид	2,2	220
15	Гексан	2,9	290
16	Метанол	30,0	3000
17	2-Метоксиметанол	0,5	50
18	Метилбутилкетон	0,5	50
19	Метилциклогексан	11,8	1180
20	N-метилпирролидон	5,3	530
21	Нитрометан	0,5	50
22	Пиридин	2,0	200
23	Сульфолан	1,6	160
24	Тетрагидрофуран	7,2	720
25	Тетралин	1,0	100
26	Толуол	8,9	890
27	1,1,2-Трихлорэтилен	0,8	80
28	Ксилол	21,7	2170

прямое газохроматографическое определение отдельных остаточных растворителей и их нормирование с учетом токсичности каждого из них.

Отметим, что регуляторный успех Руководства ICH основан на двух аспектах: первый – аналитический, второй – токсикологический.

Аналитический аспект связан с тем, что метод ГХ в варианте использования капиллярных колонок и метода

парофазной экстракции (Head Space) к началу 2000-х годов дал возможность посредством выбора сочетания всего трех процедур пробоподготовки и двух наборов хроматографических условий робастно контролировать практически все возможные примеси остаточных растворителей, представленные в данном Руководстве. Такой подход позволил ввести общие статьи «Остаточные растворители» участниками ICH в свои

Растворители класса 2 в лекарственных продуктах, для которых применяется единый предел концентрации 5000 ppm (0,5%)

№ п/п	Растворитель	№ п/п	Растворитель
1	Уксусная кислота	14	Гептан
2	Ацетон	15	Изобутилацетат
3	Анизол	16	Изопропилацетат
4	1-Бутанол	17	Метилацетат
5	2-Бутанол	18	3-Метил-1-бутанол
6	Бутил ацетат	19	Метилэтилкетон
7	Трет-Бутилметиловый эфир	20	Метилизобутилкетон
8	Диметилсульфоксид	21	2-Метил-1-пропанол
9	Этанол	22	Пентан
10	Этил ацетат	23	1-Пентанол
11	Этиловый эфир	24	1-Пропанол
12	Диэтилформиат	25	2-Пропанол
13	Муравьиная кислота	26	Пропилацетат

Фармакопеи (USP [20], EP [21], JP [22]). Из Европейской Фармакопеи эта статья пришла и в Государственную Фармакопею Украины [23]. Токсикологический аспект обеспечен концепцией ограничения суточной экспозиции человека примесью в результате приема максимальной суточной дозы препарата.

Следующая группа сопутствующих примесей, которая была подвергнута стратификации по токсичности, представляет собой так называемые элементные примеси, которым посвящено Руководство ICH [24]. Этот сборник требований, заверченный в 2014 году, позволил заменить контроль так называемой суммы тяжелых металлов раз-

дельным контролем некоторых химических элементов. Данное Руководство ICH выделяет из всех химических элементов три класса, для которых следует учитывать токсичность. Остальные элементы сознательно выведены из области применения этого руководства.

Первый класс – мышьяк, кадмий, ртуть и свинец (самые токсичные химические элементы из тех, которые реально могут встретиться в лекарственных продуктах).

Элементы второго класса имеют меньший потенциал токсичности и, в свою очередь, делятся на два класса: 2А и 2В. К классу 2А относятся элементы, для которых вероятность попасть в лекарственный продукт отно-

Растворители, для которых не найдено адекватных токсикологических данных

№ п/п	Растворитель	№ п/п	Растворитель
1	1,1-Диэтоксипропан	6	Метилизопропилкетон
2	1,1-Диметоксиметан	7	Метилтетрагидрофуран
3	2,2-Диметоксипропан	8	Петролейный эфир
4	Изооктан	9	Трихлоруксусная кислота
5	Изопропиловый эфир	10	Трифторуксусная кислота

сительно высока (кобальт, никель и ванадий), а к классу 2В – элементы, для которых вероятность попасть в лекарственный продукт относительно низка (серебро, золото, платиновые металлы, селен и таллий).

Элементы третьего класса имеют относительно низкую токсичность, это барий, хром, медь, литий, молибден, сурьма и олово.

Для каждого из элементов 1–3 классов, в зависимости от способа приема препарата, в котором они могут содержаться, даны предельные суточные экспозиции, которые для конкретного препарата можно пересчитать в предельно допустимые концентрации в ppm (мкг/г). В Руководстве ICH представлены результаты такого пересчета на максимальную суточную дозу приема в 10 г (так и в руководстве по остаточным растворителям). Диапазон предельно допустимых концентраций для элементов 1–3 классов весьма широк от 0,1 (Hg, ингаляционно) до 1100 ppm (Cr, орально). Установленные предельные суточные экспозиции для некоторых элементов в зависимости от способа приема представлены в таблице 8 [24].

Появление Руководства ICH [24] связано с тем, что текущий уровень чувствительности и селективности оборудования, качество методологий определения элементов стал приемлемым для разработки робастных рутинных методик контроля элементных примесей в таких сложных смесях, как лекарственные продукты. Несомненным лидером по частоте использования пока что остается атомно-адсорбционная спектроскопия (ААС), но на смену ей в скором будущем, вероятно, придет атомно-эмиссионная с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСИП), а масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой будет доминирующим методом обеспечения исследования и разработки. Отметим, что и в этом направлении имеются превосходные обзоры [25–27] и учебники [28].

Все вышесказанное позволило ввести общие статьи для контроля элементных примесей в Фармакопеи участников ICH (USP [20], <232> Elemental Impurities Limits, <233> elemental

impurities testing, screening and quantification of toxic metals in pharmaceutical products), EP [21] (в виде общих статей, 2.2.23. Atomic absorption spectrometry, 2.2.22. Atomic emission spectrometry, 2.2.57. Inductively coupled plasma-atomic emission, 2.2.58. Inductively coupled plasma-mass spectrometry, 2.4.20. Determination of metal catalyst or metal reagent residues, 5.20. Metal catalyst or metal reagent residues spectrometry), JP [22] (в виде общих статей на методы определения Atomic Absorption Spectrometry, 2.23 и 2.63 Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry and Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry).

В том же 2014 году было завершено Руководство ICH [29], выделяющее группу родственных органических примесей, контролю которых следует уделить особое внимание, так как они вызывают самый опасный вид токсичности – генотоксичность, потенциально ведущий к раку и иным тяжелейшим заболеваниям. Если в случае остаточных органических растворителей и элементных примесей Руководства имеют дело с ограниченными множествами токсикантов (практически для каждого из которых известен профиль токсичности), то в случае генотоксичных примесей – наблюдается более сложная ситуация.

Генотоксичные примеси могут попадать в лекарственный продукт самыми различными путями. Например, быть реактивами, используемыми при получении субстанции или одного из вспомогательных веществ, побочными продуктами синтеза, продуктами деградации лекарственной субстанции или лекарственного препарата, компонентами растительных лекарственных средств [30], токсинами-загрязнителями растительного лекарственного сырья, которые вырабатываются микроорганизмами, микотоксинами (например, афлатоксины [31]). Более того, разные технологии получения одного и того же продукта могут приводить к различным профилям генотоксичных примесей.

Итак, каждая триада (сырье, продукт, технология) может иметь свой

Предельно допустимые суточные экспозиции для элементных примесей

№ п/п	Элемент	Класс	Предельно допустимые суточные экспозиции для различных способов приема препарата, мкг/сутки		
			оральный	парентеральный	ингаляционный
1	Cd	1	5	2	2
2	Pb	1	5	5	5
3	As	1	15	15	2
4	Hg	1	30	3	1
5	Co	2A	50	5	3
6	V	2A	100	10	1
7	Ni	2A	200	20	5
8	Tl	2B	8	8	8
9	Au	2B	100	100	1
10	Pd	2B	100	10	1
11	Ir	2B	100	10	1
12	Os	2B	100	10	1
13	Rh	2B	100	10	1
14	Ru	2B	100	10	1
15	Se	2B	150	80	130
16	Ag	2B	150	10	7
17	Pt	2B	100	10	1
18	Li	3	550	250	25
19	Sb	3	1200	90	20
20	Ba	3	1400	700	300
21	Mo	3	3000	1500	10
22	Cu	3	3000	300	30
23	Sn	3	6000	600	60
24	Cr	3	11000	1100	3

собственный профиль генотоксичных примесей. Для любой генотоксичной примеси (кроме так называемой группы особо опасных веществ [29], к которой относятся афлатоксиноподобные, N-нитрозо-, и алкилазоксисоединения) табулирована не требующая никаких обоснований предельная суточная экспозиция, она составляет 1,5 мкг. Это концептуально соответствует предельным суточным экспозициям для растворителей первого класса (табл. 4) [19] и многих химических элементов (табл. 8) [24].

Вышеупомянутые растворители и элементы – хорошо охарактеризованные химические сущности, для определения которых имеются фармакопейные [20] (Ph. Eur. method 2.4.24 Residual Solvents), иные компендиальные методики [32] или методики, опубликованные в научных журналах [33]. Количество органических растворителей, которые используются при производстве лекарственных субстанций, несколько больше 50, а токсичных химических элементов – примерно в два раза меньше.

Однако количество всевозможных сочетаний лекарственных продуктов и технологий их получения, по нашему мнению, измеряется пятизначными, а то и шестизначными числами, что чревато огромным множеством и широчайшим разнообразием получающихся родственных соединений, многие из которых могут оказаться генотоксинами. Генотоксины, как правило, не имеют пороговой экспозиции, ниже которой их можно считать безопасными, и обладают кумулятивным эффектом. Очевидно, что работа по выявлению, нормированию и контролю генотоксичных примесей качественно более сложна как в методологическом, так и в чисто аналитическом плане, чем аналогичная работа с обычными родственными соединениями, остаточными органическими растворителями и элементными примесями. Авторы считают, что генотоксичные примеси заслуживают рассмотрения в отдельной публикации.

Таким образом, фармацевтам, фармакологам, медикам и химикам, которые работают в области регуляции, контроля, разработки и выпуска лекарственных средств, следует осваивать современные методологические подходы к нормированию и контролю профиля примесей в них. Менеджменту фармацевтических предприятий следует понимать, что адекватный

контроль примесей становится более затратным и требует приобретения современного оборудования. Химикам-аналитикам следует овладевать новыми аналитическими технологиями (в частности, атомно-адсорбционной и атомно-эмиссионной спектроскопией), а регуляторам следует использовать современные Руководства и проекты Руководств, посвященные нормированию профиля примесей в лекарственных средствах (как в субстанциях, так и в препаратах).

Выводы

В обзоре проведен исторический экскурс и проанализировано развитие требований к лекарственным субстанциям и препаратам за последние 200 лет. Основной акцент сделан на развитие регуляторных аспектов контроля примесей. Показано, что эти требования коррелируют с усовершенствованием методов исследования аналитической, физической и органической химии.

Вкратце рассмотрены нормы руководств ИСН по нормированию сопутствующих примесей: общетехнологических, механических, остатков растворителей и токсичных химических элементов, которые могут присутствовать в лекарственных препаратах, субстанциях и сырье.

1. The Pharmacopoeia of the United States of America: Facsimile of the First Edition (1820), Madison, Wisc.: American Institute of History of Pharmacy, 2005. – 272 p.
2. Золотов Ю. А. История и методология аналитической химии: учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / Ю. А. Золотов, В. И. Вершинин. – Москва : Издательский центр «Академия», 2007. – 464 с.
3. Cartwright A. British Pharmacopoeia, 1864 to 2014 / A. Cartwright // Ashgate Publishing company. – 2015. – 266 p.
4. A Century of United States Pharmacopoeia, 1820–1920. The Galenical Oleoresins. – University of Wisconsin, 1917. – 288 p.
5. Procedure for the certification of suitability of monographs of the European Pharmacopoeia // EDQM Materials, 2016. https://www.edqm.eu/sites/default/files/1710_1525_fml_certification_of_suitability_procedure_the_edqm_inscription_programme.pdf
6. ICH Harmonised tripartite Guideline. Impurities in new drug substances Q3A (R2), 2006. – 11 p. http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q3A_R2/Step4/Q3A_R2_Guideline.pdf
7. ICH Topic Q 3 B (R2). Impurities in new drug products, 2006. – 14 p. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002676.pdf
8. ICH Quality Guidelines www.ich.org/products/guidelines/quality/article/quality-guidelines.html
9. Ekins S. Progress in computational toxicology / S. Ekins // J. Pharm. Toxicol. Methods. – 2014. – V. 69. – P.115–140.
10. Fowler B. Computational Toxicology: methods and applications for risk assessment / B. Fowler. – Academic Press, 2013. – 274 p.

11. Computational Systems Toxicology; Edited by J. Hoeng, M. C. Peitsch. – Academic Press, 2015. – 436 p.
12. *Boyd R.* Trace Quantitative Analysis by Mass Spectrometry / R. Boyd, C. Basic, R. Bethem. – Wiley & Sons, 2008. – 735 p.
13. ICH Harmonised tripartite Guideline. Validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1). – 2005. – 13 p. https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf
14. *Konieczka P.* Quality Assurance and quality control in the analytical chemical laboratory: a Practical Approach / P. Konieczka, J. Namiesnik. – CRC Press, 2009. – 232 p.
15. Annex 7 WHO guidelines on transfer of technology in pharmaceutical manufacturing. WHO Technical Report Series. – 2011. – № 961. – P. 285–309. http://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/quality_assurance/TransferTechnologyPharmaceuticalManufacturingTRS961Annex7.pdf
16. *Snyder L. R.* Practical HPLC Method Development / L. R. Snyder, J. J. Kirkland, J. L. Glajch. – 2nd Edition. – Wiley & Sons, 1997. – 800 p.
17. *Snyder L. R.* High-performance gradient elution. The Practical Application of the Linear-Solvent-Strength Model / L. R. Snyder, J. W. Dolan. – Wiley & Sons, 2007. – 512 p.
18. *Snyder L. R.* Introduction to modern liquid chromatography / L. R. Snyder, J. J. Kirkland, J. W. Dolan. – Wiley & Sons, 2010. – 958 p.
19. ICH Harmonised Guideline. Impurities: Guideline for residual solvents Q3C. – 2016. – 34 p. http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q3C/Q3C_R6_Step_4.pdf
20. The United States Pharmacopoeia <http://www.usp.org/>
21. The European Pharmacopoeia <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-8th-edition-1563.html>
22. Japanese Pharmacopoeia <https://www.pmda.go.jp/english/rs-sb-std/standards-development/jp/0019.html>
23. Державна Фармакопея України, Т.1. – Харків : Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів, 2015. – 1128 с.
24. ICH Harmonised Guideline. Guideline for elemental impurities Q3D. – 2014. – 73 p. http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q3D/Q3D_Step_4.pdf
25. *Balaram V.* Recent advances in the determination of elemental impurities in pharmaceuticals – Status, challenges and moving frontiers / V. Balaram // Trends in Analytical Chemistry. – 2016. – V. 80. https://www.researchgate.net/publication/298329086_Recent_advances_in_the_determination_of_elemental_impurities_in_pharmaceuticals_-_Status_challenges_and_moving_frontiers
26. Flow injection combined with ICP-MS for accurate high throughput analysis of elemental impurities in pharmaceutical products according to USP<232>/<233> / L. Fischer, B. Zipfel, G. Koellensperger [et al.] // Pharm. Biomed. Anal. – 2014. – V.95. – P. 121–129.
27. *Liba A.* Proposed new ICH and USP methods for elemental impurities: The application of ICP-MS and ICP-OES for pharmaceutical analysis / A. Liba, E. McCurdy, R. Ashdown // Agilent Technologies, 2014 http://www.agilent.com/cs/library/whitepaper/public/5990-9382EN_WhitePaper_ICP-MS_ICP-OES_Pharma.pdf
28. *Caroli S.* The determination of chemical elements in food: applications for atomic and mass spectrometry. – Wiley & Sons, 2007. – 750 p.
29. ICH Harmonised tripartite Guideline. Assessment and control of DNA reactive (mutagenic) impurities in pharmaceuticals to limit potential Carcinogenic risk M7, 2014. – 26 p. http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Multidisciplinary/M7/M7_Step_4.pdf
30. *Rosenquist T.* Mutational signature of aristolochic acid: Clue to the recognition of a global disease / T. Rosenquist, A. Grollman // DNA Repair. – 2016. – V. 44. – P. 205–211.
31. *Groopman J. D.* Aflatoxin: A Global Public Health Problem / J. D. Groopman, G. N. Wogan // Encyclopedia of Food and Health. – 2016. – P. 68–72.
32. *Latimer G. W.* Official Methods of Analysis of AOAC International / G. W. Latimer, 20th Edition. – 2016. – 3172 p.
33. *Pengfei J.* Determination of 20 trace elements and arsenic species for a realgar-containing traditional Chinese by direct inductively coupled plasma–mass spectrometry / J. Pengfei, L. Xiaoli, X. Lufeng // J. Trace Elements in Medicine and Biology. – 2016. – V. 33. – P. 73–80.

**М. Г. Левін, В. М. Брицун, Р. А. Мелешко, О. М. Терещенко,
О. А. Гуменюк, Н. В. Останіна**
**Сучасні аспекти нормування та контролю профілю домішок
у лікарських засобах**

В оглядовій роботі проведено історичний експурс розвитку фізико-хімічних тестів забезпечення якості ліків з початку XIX століття до наших днів.

Мета дослідження – розглянути історію та перспективи розвитку вимог до нормування та контролю профілю домішок у лікарських субстанціях і препаратах.

Показано, що рівень аналітичних методів, що використовуються в контролі якості ліків, тісно пов'язаний з загальним рівнем розвитку аналітичної хімії, токсикології та фармакології.

Потреби в оцінці відповідності якості ліків вимогам часу, в свою чергу, є одним з найважливіших стимулів розвитку аналітичної хімії.

Розглянуто деякі специфічні вимоги керівництв ІСН щодо обмеження супутніх домішок у лікарських субстанціях і препаратах, а саме споріднених сполук, залишкових розчинників, елементних і генотоксичних домішок.

Зроблено припущення, що в найближчому майбутньому будуть підвищуватися вимоги до характеристик аналітичної якості методик контролю домішок як наслідок системи управління ризиками щодо всіх аспектів розробки, виробництва та тестування лікарських препаратів. Крім того, від виробників готових лікарських засобів, субстанцій і сировини буде вимагатися глибоке розуміння всіх аспектів, пов'язаних з виробництвом конкретного продукту й жорсткого аналітичного контролю тих стадій, які загрожують появою токсичних домішок. Тобто, розвиток і розумне посилення вимог належних практик, пов'язаних з лікарськими препаратами, обов'язково призведе до розвитку аналітичної хімії, зокрема, до рутинізації високоефективних гібридних методів аналізу, що поєднують передові досягнення хроматографії, мас-спектрометрії, ядерного магнітного резонансу, а також різних варіантів спектрометрії в спектральному діапазоні електромагнітного випромінювання від далекого інфрачервоного до вакуумного ультрафіолету.

Ключові слова: лікарські субстанції, лікарські препарати, фармакопея, фармацевтичний аналіз, контроль якості, керівництва ІСН, профіль домішок

**М. Г. Левин, В. Н. Брицун, Р. А. Мелешко, О. Н. Терещенко,
А. А. Гуменюк, Н. В. Останина**

Современные аспекты нормирования и контроля профиля примесей в лекарственных препаратах

В обзорной работе проведен исторический экскурс развития физико-химических тестов обеспечения качества лекарств с начала XIX века до наших дней.

Цель исследования – рассмотреть историю и перспективы развития требований к нормированию и контролю профиля примесей в лекарственных субстанциях и препаратах.

Показано, что уровень аналитических методов, используемых в контроле качества лекарств, тесно связан с общим уровнем развития аналитической химии, токсикологии и фармакологии. Потребность в контроле качества лекарств, в свою очередь, является одним из важнейших стимулов развития аналитической химии.

Рассмотрены некоторые специфические требования Руководств ІСН в отношении ограничения сопутствующих примесей в лекарственных субстанциях и препаратах, а именно, родственных соединений, остаточных растворителей, элементных и генотоксичных примесей.

Сделаны предположения, что в ближайшем будущем будут повышаться требования к характеристикам аналитического качества методик контроля примесей, как следствие системы управления рисками в отношении всех аспектов разработки, производства и тестирования лекарственных препаратов. Кроме того, от производителей готовых лекарственных средств, субстанций и сырья будет требоваться глубокое понимание всех аспектов, связанных с производством конкретного продукта и жесткого аналитического контроля тех стадий, которые чреватые появлением токсичных примесей. То есть, развитие и разумное ужесточение требований в рамках надлежащих практик, связанных с лекарственными препаратами, обязательно приведет к развитию аналитической химии, в частности к рутинизации высокоэффективных гибридных методов анализа, сочетающих передовые достижения хроматографии, масс-спектрометрии, ядерного магнитного резонанса, а также различных вариантов спектрометрии в спектральном диапазоне электромагнитного излучения от дальнего инфракрасного до вакуумного ультрафиолета.

Ключевые слова: лекарственные субстанции, лекарственные препараты, фармакопея, фармацевтический анализ, контроль качества, руководства ІСН, профиль примесей

**M. G. Levin, V. N. Britsun, R. A. Meleshko, O. M. Tereschenko,
O. A. Humenyk, N. V. Ostanina**

Modern aspects of rationing and control of the impurity profile in medicines

The history of development of chemical tests and assays application for ensuring quality of pharmaceuticals from the beginning of 19 century till nowadays was discussed in this review.

The purpose of the review is to provide a history and perspective for the development of requirements for rationing and controlling the profile of impurities in medicinal substances and preparations.

It is shown that general level of analytical technics used in quality control of pharmaceuticals closely related to general level of analytical chemistry, toxicology and pharmacology development. Vice versa need for control of pharmaceuticals are one of the main engines for analytical chemistry and its instrumentation development.

There were examined and discussed a few specific requirements of ICH Guidelines concerning limitation of impurities in drug substances and preparations as to related substances, residual solvents, elemental impurities and genotoxic impurities.

It is assumed that in the near future the requirements to the characteristics of the analytical quality of impurity control techniques will increase, as a result of the stepwise development of the risk management system for all aspects of development, manufacturing and testing of drugs. In addition, from the manufacturer of the finished medicinal products as well as all its components will be required a thorough understanding of all aspects related to the production of a specific product and rigorous analytical control of those stages that are fraught with the emergence of toxic impurities. Therefore the development and reasonable tightening of requirements in the framework of appropriate drug-related practices will necessarily lead to the development in the field of analytical chemistry, in particular the routinization of highly effective hybrid analysis methods combining advanced achievements of chromatography, mass spectrometry, nuclear magnetic resonance, and various spectrometry options in spectral range of electromagnetic radiation from far infrared to vacuum ultraviolet.

Key words: drug substances, drug preparations, Pharmacopoeias, pharmaceutical analysis, quality control, ICH Guidelines, impurity profile

Надійшла: 19 червня 2018 р.

Контактна особа: Левін Михайло Григорович, доктор хімічних наук, Державна науково-дослідна лабораторія з контролю якості лікарських засобів, ДУ «Інститут громадського здоров'я ім. О. М. Марзєєва НАМН України», буд. 50, вул. Попудренка, м. Київ, 02660.
Тел.: + 38 0 44 559 7711. Електронна пошта: mglevinmg@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 ЕУ 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. Рекомендований середній об’єм тексту реферату – до 300 слів. Реферат англійською мовою має бути розгорнутим і складати не менше ніж 1800 знаків (2 сторінки).

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 вивіреном. 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

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-диску, на USB-накопичувачі (тільки за особистої подачі) або надсилати електронною поштою як прикріплені файли. Адреса електронної пошти: 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.

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. The abstract in English must be expanded and contain at least 1800 characters (2 pages). 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

- Дейко Р. Д., Штрыголь С. Ю. Нейропептиды и их место в лечении заболеваний нервной системы (часть I).....3
- Степанюк Н. Г. Лекарственные средства как модуляторы апоптоза в лечении сердечно-сосудистой патологии 18

В НАУЧНЫХ ЛАБОРАТОРИЯХ

- Демченко С. А., Чаленко Н. Н., Бухтиарова Т. А., Бобкова Л. С., Серединская Н. Н., Ядловский О. Е., Демченко А. М. Синтез и анальгетическая активность 6,7,8,9-тетрагидро-5H-[1,2,4]триазоло [4,3-а]азепинов.....25
- Дуб А. И., Клищ И. М., Вронская Л. В., Стечишин И. П. Влияние новой фитокомпозиции на липидный спектр крови на модели гиперлипидемии у крыс32
- Рогозин В. В., Завертиленко С. П., Хавич О. А., Шарыкина Н. И. Противоопухолевая активность производного хиназолина – 2-(3-алил-4-оксо-3,4-дигидро-хиназолин-2-илсульфанил)-N-(2,6-дихлорофенил)-ацетамида на гетеротрансплантатах немелкоклеточного рака легких человека.....38
- Чайка Л. А., Деева Т. В., Никитина Н. С., Тимченко О. В., Либина В. В., Андрианова Т. В., Безуглая Е. П. Экспериментальное исследование фармакологической активности назального спрея мометазона с оксиметазолином42

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ТОКСИКОЛОГИИ

- Бондаренко Л. Б., Шаяхметова А. М., Коваленко В. Н. Влияние двух композиций противотуберкулезных средств на фрагментацию ДНК у крыс-самцов линии Вистар.....53
- Зайченко А. В., Покотило О. А., Никитина Н. С. Изучение острой токсичности крема с наночастицами диоксида церия при различных путях введения58

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

- Белай И. М., Цыс А. В., Михайлюк Е. О. Фармакологическая безопасность комбинации аторвастатина с триметазидином в условиях экспериментальной гиперлипидемии64

ВОПРОСЫ ФАРМАЦЕВТИКИ, ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА, ФАРМАКОЭКОНОМИКИ

- Залыгина Е. В., Подплетняя Е. А., Соколова К. В. Определение содержания суммы флавоноидов в составе густых экстрактов из незрелых плодов ореха грецкого69
- Левин М. Г., Брицун В. Н., Мелешко Р. А., Терещенко О. Н., Гуменюк А. А., Останина Н. В. Современные аспекты нормирования и контроля профиля примесей в лекарственных препаратах 74

CONTENT

REVIEWS

- Deiko R. D., Shtrygol' S. Yu.* Neuropeptides and their role in the therapy of nervous system disorders (part I) 3
- Stepanyuk N. G.* Medicinal drugs as modulators of apoptosis in the treatment of cardiovascular pathology 18

IN SCIENTIFIC LABORATORIES

- Demchenko S. A., Chalenko N. M., Bukhtiarova T. A., Bobkova L. S., Seredinska N. M., Yadloviskyi O. E., Demchenko A. M.* Synthesis and analgesic activity of 6,7,8,9-tetrahydro-5H-[1,2,4]triazoles[4,3-a]azepines..... 25
- Dub A. I., Klishch I. M., Vronska L. V., Stechyshyn I. P.* An influence of new phytocomposition on the blood lipid spectrum under the model of hyperlipidemia in rats 32
- Rogozin V. V., Zavertilenko S. P., Khavych O. O., Sharykina N. I.* Antitumor activity of quinazoline derivative – 2-(3-allyl-4-oxo-3,4-dihydro-quinazolin-2-ylsulfanyl)-N-(2,6-dichlorophenyl)acetamide on heterotransplants of human non-small cell lung cancer 38
- Chaika L., Deeva T., Nikitina N., Tymchenko O., Libina V., Andrianova T., Bezugla O.* Experimental study of the pharmacological activity of nasal spray with mometasone and oxymetazoline 42

CURRENT ISSUES OF DRUG TOXICOLOGY

- Bondarenko L. B., Shayakhmetova G. M., Kovalenko V. M.* Effects of two antituberculosis agents compositions on DNA fragmentation in Wistar albino male rats 53
- Zaychenko G. V., Pokotylo O. A., Nikitina N. S.* Acute toxicity testing of the cream with cerium dioxide nanoparticles at various routes of administration 58

SHORT REPORTS

- Bilai I. M., Tsys A. V., Mikhailuk E. O.* Pharmacological safety of atorvastatin with trimethazidine combination in experimental hyperlipidemia 64

ISSUES OF PHARMACY, PHARMACEUTICAL MARKET, PHARMACOECONOMICS

- Zalygina I. V., Podpletnya H. A., Sokolova K. V.* Determination of the flavonoids amount in the composition of thick extracts from immature walnut fruit 69
- Levin M. G., Britsun V. N., Meleshko R. A., Tereschenko O. M., Humenyk O. A., Ostanina N. V.* Modern aspects of rationing and control of the impurity profile in medicines 74