

## СПІВЗАСНОВНИКИ

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

# ФАРМАКОЛОГІЯ ТА ЛІКАРСЬКА ТОКСИКОЛОГІЯ PHARMACOLOGY AND DRUG TOXICOLOGY

Науково-практичне видання

Журнал заснований у серпні 2007 р.

Виходить 1 раз на 2 місяці

№ 6(61)/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)

Н. В. Літвінова (науковий редактор)  
С. О. Мисливець (відповідальний секретар)

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)

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. 8,05. Наклад 200 прим. Зам. № Р-Ф № 103

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 II) ..... | 3 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|

## СУЧАСНІ АСПЕКТИ НЕЙРОФАРМАКОЛОГІЇ

|                                                                                                                                                                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Кметь О. Г., Філіпєць Н. Д., Давиденко І. С. Стан глутатіонового ланцюга антиоксидантної системи в структурах головного мозку щурів зі скополамін-індукованою нейродегенерацією після введення карбацетаму ..... | 20 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

## У НАУКОВИХ ЛАБОРАТОРІЯХ

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Беленичев І. Ф., Біла Ю. В. Антиоксидантні властивості модуляторів HSP70 в умовах церебральної ішемії.....                                                                                                                                                                                     | 27 |
| Бондарєв Є. В., Штриголь С. Ю., Лар'яновська Ю. Б. Стреспротекторна дія препаратів глюкозаміну та ацетилсаліцилової кислоти за умов гострої загальної холодової травми.....                                                                                                                    | 34 |
| Demchenko S. A., Yadlovskiy O. E., Bobkova L. S., Demchenko A. M. Synthesis and antiviral activity of derivatives of 1-(4 <sup>1</sup> -chlorophenyl)-3-aryl-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo[1,2-a]azepinium for Flu A H1N1 California/07/2009 and Flu A H3N2 Brisbane/10/2007..... | 44 |
| Литкін Д. В. Вплив інгібіторів ароматази третього покоління на постпрандіальну глікемію та вміст фруктозаміну в сирійських хом'ячків на тлі експериментального метаболічного синдрому .....                                                                                                    | 52 |
| Маньковська І. М., Гончар О. О., Носар В. І., Братусь Л. В., Карабань І. М. Корекція фіксованою комбінацією мельдонію з гамма-бутиробетайном мітохондріальної дисфункції печінки щурів за умов ротенонової інтоксикації .....                                                                  | 60 |
| Яцина А. И., Паршиков А. В., Васьянов Р. С., Костев Ф. И., Данова И. В. Влияние эстрадиола и тестостерона на сократительную активность мочевого пузыря крыс.....                                                                                                                               | 69 |

## КЛІНІЧНА ФАРМАКОЛОГІЯ

|                                                                                                                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Зайченко Г. В., Танцура Є. О. Частота поліморфізму гена цитохрому Р-450 3A4 серед дітей з фармакорезистентними формами епілепсії .....                                                      | 76 |
| Кечин И. Л. Сравнительная фармакодинамика амлодипина при ректальном и энтеральном путях введения у больных с синдромом легочной гипертензии на фоне кардиальных гипертензивных кризов ..... | 82 |

## ОСОБИСТОСТІ

|                                                                                                                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Ісаак Михайлович Трахтенберг. Академік НАМН України, член-кореспондент НАН України, заслужений діяч науки і техніки, лауреат Державної премії в галузі науки і техніки ..... | 89 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                  |    |
|------------------|----|
| СОДЕРЖАНИЕ ..... | 91 |
|------------------|----|

|              |    |
|--------------|----|
| CONTENT..... | 92 |
|--------------|----|

---

# СОДЕРЖАНИЕ

---

## ОБЗОРЫ

Дейко Р. Д., Штрыголь С. Ю. Нейропептиды и их место в лечении заболеваний нервной системы (часть II).....3

## СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ НЕЙРОФАРМАКОЛОГИИ

Кметь О. Г., Филипец Н. Д., Давыденко И. С. Состояние глутатионного звена антиоксидантной системы в структурах головного мозга крыс со скополамин-индуцированной нейродегенерацией после введения карбацетама .....20

## В НАУЧНЫХ ЛАБОРАТОРИЯХ

Беленичев И. Ф., Биля Ю. В. Антиоксидантные свойства модуляторов HSP70 в условиях церебральной ишемии.....27

Бондарев Е. В., Штрыголь С. Ю., Ларьяновская Ю. Б. Стресспротекторное действие препаратов глюкозамина и ацетилсалициловой кислоты в условиях острой общей холодовой травмы.....34

Демченко С. А., Ядловский О. Е., Бобкова Л. С., Демченко А. М. Синтез и противовирусная активность производных 1-(4<sup>1</sup>-хлорфенил)-3-арил-3-гидрокси-2,5,6,7,8,9-гексагидро-3H-имидазо[1,2-а]азепина по отношению к вирусам гриппа А H1N1 и H3N2.....44

Лыткин Д. В. Влияние ингибиторов ароматазы третьего поколения на постпрандиальную гликемию и содержание фруктозамина у сирийских хомячков на фоне экспериментального метаболического синдрома .....52

Маньковская И. Н., Гончар О. А., Носарь В. И., Братусь Л. В., Карабань И. Н. Коррекция фиксированной комбинацией мельдония с гамма-бутиробетаином митохондриальной дисфункции печени крыс в условиях ротеноновой интоксикации .....60

Яцина А. И., Паршиков А. В., Вастьянов Р. С., Костев Ф. И., Данова И. В. Влияние эстрадиола и тестостерона на сократительную активность мочевого пузыря крыс .....69

## КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

Зайченко А. В., Танцура Е. А. Частота полиморфизма гена цитохрома P-450 3A4 среди детей с фармакорезистентными формами эпилепсии .....76

Кечин И. Л. Сравнительная фармакодинамика амлодипина при ректальном и энтеральном путях введения у больных с синдромом легочной гипертензии на фоне кардиальных гипертензивных кризов .....82

ЛИЧНОСТИ .....89

---

---

# CONTENT

---

## REVIEWS

|                                                                                                                              |   |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| <i>Deiko R. D., Shtrygol' S. Yu.</i> Neuropeptides and their role in the therapy of nervous system disorders (part II) ..... | 3 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|

## CONTEMPORARY ASPECTS OF NEUROPHARMACOLOGY

|                                                                                                                                                                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Kmet O. G., Filipets N. D., Davydenko I. S.</i> The state of glutathione chain of antioxidant system in rats brain structures under scopolamine-induced neurodegeneration and carbacetam administration ..... | 20 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

## IN SCIENTIFIC LABORATORIES

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Belenichev I. F., Bila Yu. V.</i> Antioxidant properties of HSP 70 modulators at cerebral ischemia .....                                                                                                                                                                                                              | 27 |
| <i>Bondarev Ye. V., Shtrygol S. Yu., Laryanovskaya Yu. B.</i> Stress-protective effect of glucosamine preparations and acetylsalicylic acid in acute general cold injury .....                                                                                                                                           | 34 |
| <i>Demchenko S. A., Yadlovskiy O. E., Bobkova L. S., Demchenko A. M.</i> Synthesis and antiviral activity of derivatives of 1-(4 <sup>1</sup> -chlorophenyl)-3-aryl-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3 <i>H</i> -imidazo[1,2- <i>a</i> ]azepinium for Flu A H1N1 California/07/2009 and Flu A H3N2 Brisbane/10/2007 ..... | 44 |
| <i>Lytkin D. V.</i> The influence of third generation aromatase inhibitors on postprandial blood glucose and the content of serum fructosamine in hamsters under experimental metabolic syndrome .....                                                                                                                   | 52 |
| <i>Mankovska I. M., Gonchar O. O., Nosar V. I., Bratus L. V., Karaban I. M.</i> Correction of rat liver mitochondrial dysfunction under rotenone intoxication by fixed combination of meldonium with gamma-butyrobetaine .....                                                                                           | 60 |
| <i>Iatsyna O. I., Parshykov O. V., Vastianov R. S., Kostiev F. I., Danova I. V.</i> Effect of estradiol and testosterone on bladder contractile activity in rats .....                                                                                                                                                   | 69 |

## CLINICAL PHARMACOLOGY

|                                                                                                                                                                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Zaychenko G. V., Tantsura Y. O.</i> Frequency of gene polymorphism of cytochrome P-450 3A4 in children with pharmacoresistent forms of epilepsy .....                                                            | 76 |
| <i>Kechyn I. L.</i> Comparative pharmacodynamics of amlodipine in rectal and enteral routes of administration in patients with pulmonary hypertension syndrome in the presence of cardiac hypertensive crises ..... | 82 |

|                          |    |
|--------------------------|----|
| <b>PERSONALITY</b> ..... | 89 |
|--------------------------|----|

---

Р. Д. Дейко, С. Ю. Штриголь

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

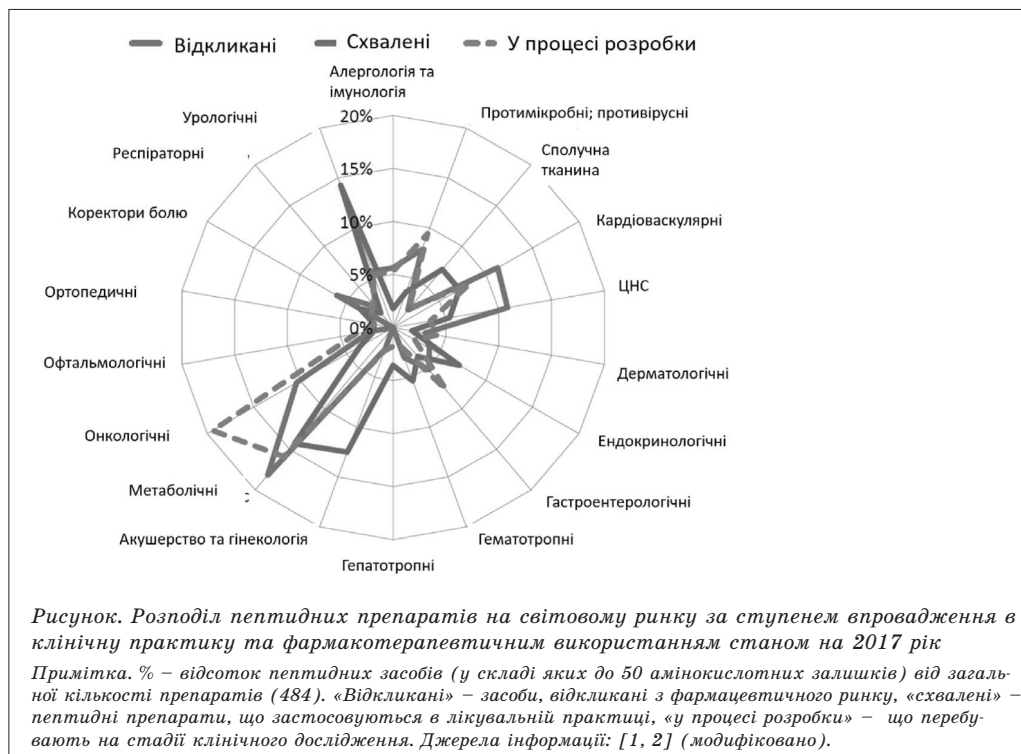
Національний фармацевтичний університет, м. Харків

**Ключові слова:** нейропептиди, нервова система, патологія, лікування

У першій частині огляду наведено докладну характеристику основних ендогенних регуляторних нейропептидів. Другу частину присвячено аналізу сучасних лікарських препаратів пептидної природи.

Протягом останніх трьох десятиліть у світі стрімко зростає кількість пептидних препаратів (ПП). Наразі їх налічується понад 500, близько 100 з яких перебуває на стадії клінічного вивчення [1, 2]. За цей час окремі ПП стали «блокбастерами» фармацевтичного ринку, оскільки об'єм їхніх продажів перевищив 1 млрд доларів США: глатирамеру ацетат («Копаксон», компанія «Тева», Ізраїль) – лікування роз-

сіяного склерозу (РС); ліраглутид («Віктоза», «Саксенда», компанія «Novo Nordisk», Данія) – лікування цукрового діабету II типу та ожиріння; октреотид («Сандостатин», компанія «Novartis Pharma», Швейцарія) – лікування акромегалії, симптомів карциноїдного синдрому та гіперсекреції вазоактивного інтестинального пептиду (ВІП); терипаратид («Фортео», компанія «Lilly France», Франція) – лікування остеопорозу; кортикотропін («Актар», компанія «Mallinckrodt Pharmaceuticals», США) – лікування дитячих епілептичних спазмів, РС та аутоімунних захворювань [1]. Розподіл наявних пептидних лікарських засобів (ЛЗ) за ступенем впровадження в клінічну практику та фармакотерапевтичним використанням (за [1, 2]) наведено на рисунку.



Широко розповсюджені ПП на пострадянському просторі, де їхня кількість сягнула десятків найменувань. Деякі з них занесено до переліку життєво необхідних засобів (наприклад, семакс, 1 % розчин для інтраназального (і/н) застосування) – за гострих порушень мозкового кровообігу (ГПМК) [3].

Високий попит на ПП зумовлений їхньою високою біологічною активністю. Оскільки наука, яка вивчає регуляторні білки, їхні фрагменти та роль в організмі (пептидоміка), є відносно молодою галуззю знань, створення перших ПП прийшлося на кінець другої половини минулого століття [4].

Сьогодні спостерігається стрімке зростання кількості нових біологічно активних сполук (БАС) пептидної природи та створених на їхній основі високо-ефективних ЛЗ. Це стосується й ПП нейротропної дії.

Існуючі ПП класифікують за спрямованістю ефекту та функціональною активністю: неспецифічні (солкосерил, актовегін) і відносно специфічні (органотропні) – церебралізін, кортексин, тималін, ноопепт тощо [5]. У свою чергу, ПП нейротропної дії можна розподілити на дві основні групи за складом: а) комплексні препарати тваринного походження, що містять суміш

амінокислот (АК), олігопептидів, вітамінів і мікроелементів (наприклад, церебралізін, кортексин); б) монокомпонентні олігопептидні засоби (давунетид, семакс тощо). Відповідний розподіл пептидних ЛЗ наведено в таблицях 1 і 2.

Найпершим багатокомпонентним ПП, який має широкий спектр фармакологічних ефектів і тому використовується не виключно в неврології, є депротеїнізований гемодериват з крові телят (ДГКТ), виведений на ринок компанією Solco Basle Research Laboratories (Швейцарія) під назвою **солкосерил** у 1950-х роках. У 1976 році з'явився близький до солкосерилу (фактично його біосиміляр) препарат **актовегін**, розроблений компанією Hormon Chemie München (нині частина Takeda Austria GmbH, Австрія). Ці препарати містять комплекс низькомолекулярних сполук неорганічної (йони калію, натрію, кальцію, магнію, хлору, фосфору) та органічної (глікофінголіпіди, ейкозаноїди, гексози, лактат, ацетат, сукцинат, вільні жирні кислоти, оксистероли, азотвмісні сполуки, зокрема, олігопептиди, поліаміни, нуклеозиди, холін, вітаміни) природи масою до 5 кДа [6, 7]. Препарати ДГКТ чинять плейотропний вплив на ЦНС. Нейропротекторний ефект ДГКТ полягає в покращанні цере-

Таблиця 1

*Препарати нейротропної дії комплексного пептидного складу та основні види їхньої фармакологічної активності*

| Назва        | Фармакологічна дія                                                                                                           | Джерело літератури |
|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| Актовегін    | Нейропротекторна, нейрометаболічна, покращання церебральної мікрогемодикуляції                                               | [6–10]             |
| Кортексин    | Нейротрофічна, протисудомна, ноотропна, антигіпоксична, антиастенічна                                                        | [25–29]            |
| Славінорм    | Геропротекторна, покращання церебральної мікрогемодикуляції, антиатеросклеротична                                            | [30, 31]           |
| Солкосерил   | Нейропротекторна, нейрометаболічна, покращання церебральної мікрогемодикуляції                                               | [6–10]             |
| Церебрал     | Нейротрофічна, ноотропна                                                                                                     | [21–25]            |
| Цереброкурин | Нейропротекторна, нейротрофічна, ноотропна, антиоксидантна                                                                   | [26, 27]           |
| Церебралізін | Нейротрофічна: нейропротекторна, нейрорепаративна, посилення нейропластичності та нейрогенезу, імуномодуюча, антидепресантна | [11–20]            |

**Олігопептидні препарати нейротропної дії та основні види їхньої  
фармакологічної активності**

| Назва        | Фармакологічна дія                                                                                                                                        | Джерело літератури |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| Афамеланотид | Нейропротекторна, нейрорепаративна, ноотропна                                                                                                             | [62–68]            |
| Давунетид    | Нейропротекторна, нейротрофічна, ноотропна                                                                                                                | [74–76]            |
| Дельтаран    | Стреспротекторна, нейропротекторна, адаптогенна, антидепресантна, антигіпоксична                                                                          | [9, 80, 81]        |
| Дилепт       | Антипсихотична, ноотропна                                                                                                                                 | [95–98]            |
| Епіталон     | Актопротекторна, нормалізація циркадних ритмів, антиоксидантна, геропротекторна, ноотропна                                                                | [69–71]            |
| Зиконотид    | Знеболювальна, нейропротекторна                                                                                                                           | [77–79]            |
| Карбетоцин   | Антиадиктивна (↓ проявів толерантності, залежності та синдрому відміни в разі зловживання опіоїдними анальгетиками)                                       | [99]               |
| Карнозин     | Антигіпоксична, антиоксидантна, нейропротекторна, протисудомна, стреспротекторна, помірна антидепресантна, послаблення негативної симптоматики шизофренії | [72, 73]           |
| Кортаген     | Нейротрофічна, ноотропна, антигіпоксична, антиоксидантна                                                                                                  | [38, 39]           |
| Ліраглутид   | Покращання поглинання глюкози мозковою тканиною та її енергозабезпечення, анорексигенна, нейропротекторна за нейродегенеративних захворювань              | [82–85]            |
| Містиксин    | Стимуляція нейропластичності за механізмом «long-term potentiation», антиексайтотоксична, нейропротекторна                                                | [100]              |
| Монтирелін   | Нейропротекторна                                                                                                                                          | [102]              |
| Ноопепт      | Ноотропна, нейропротекторна, анксиолітична, антидепресантна, стреспротекторна, потенціувальна (щодо протисудомних засобів)                                | [88–94]            |
| Семакс       | Ноотропна, нейропротекторна, антиоксидантна, антигіпоксична, адаптогенна, нейротрофічна                                                                   | [9, 45, 51–61]     |
| Селанк       | Анксиолітична, антидепресантна, ноотропна, адаптогенна, нейропротекторна                                                                                  | [40, 41, 43–50]    |
| Талтирелін   | Нейропротекторна, антидепресантна, аналептична                                                                                                            | [102–104]          |

брального кровопостачання, інсуліноподібній стимуляції поглинання глюкози нервовою тканиною, підвищенні забезпечення нейронів киснем та, як наслідок, посиленні синтезу АТФ. Згідно з гіпотезою А. Stelmakh et al. [7], позитивний нейрометаболічний вплив ДГКТ реалізується за рахунок стимулювання функції ендотеліальної убіквітин-залежної системи деградації білків. Такі властивості солкосерилу й актовегіну дозволяють використовувати їх з метою тера-

пії гострих і хронічних розладів мозкового кровообігу, гіпоксичних і травматичних станів головного мозку (ГМ) [8, 9]. Незважаючи на тривалий період експериментального та клінічного вивчення препаратів ДГКТ, а також понад 70-річний термін їхнього використання в медичній практиці, єдиним багатоцентровим рандомізованим подвійним сліпим плацебо-контрольованим клінічним дослідженням (КД) у пацієнтів з когнітивними порушеннями



е дослідження ARTEMIDA, проведене в 2015 році. За результатами 12-місячного вивчення ефективності ДГКТ у 255 хворих, які перенесли інсульт, з'ясовано, що ефект цього препарату статистично значущо не відрізняється від плацебо, тому клінічних даних для підтвердження його нейропротекторного ефекту недостатньо [10].

На противагу препаратам ДГКТ, протеолітична пептидна фракція головного мозку (ПФМ) свиней, яка виведена на ринок у 1973 році під назвою **церебролізин** (Ebewe Pharma GmbH, Австрія), є єдиним комплексним нейроспецифічним ПП, що має доказову базу нейропротекторної активності за даними Бібліотеки Кокранівського співробітництва [11, 12]. **Церебролізин** на 25 % складається з фракції низькомолекулярних пептидів, серед яких найбільшу роль у реалізації фармакологічного ефекту відіграють пептидні фрагменти нейротрофічних факторів (фактора росту нервів (ФРН, ділянка 119-123 (*Gly-Glu-Phe-Ser-Val*) і 186-192 (*Asn-Ser-Tyr-Cys-Thr-Thr-Thr*), циліарного нейротрофічного фактора, гліального нейротрофічного фактора, інсуліноподібних ростових факторів 1 (ІПФ-1) і 2 типу тощо (ІПФ-2) та нейроактивні олігопептиди. До фракції останніх належать нейропептид VF (*Pro-Gln-Arg-Phe*), гіпокретин (*Cys-Cys-Arg-Gln-Lys*), галанін (*Trp-Trp-Leu-Asn-Ser-Ala-Gly-Tyr*), енкефалінподібні коротколанцюгові пептиди (*Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu*, *Gly-Gly-Phe-Leu-Arg* та *Tyr-Gly-Gly-Phe-Met*), глутатіон (*γ-Glu-Cys-Gly*) і тироліберин (*pGlu-His-Pro-amide*) [13, 14]. До складу ПП входять також АК (*Asp, Gly, Pro*), макро- та мікроелементи (магній, калій, фосфор, селен), вітаміни [14]. Завдяки комплексному складу препарат ефективний за лікування низки захворювань ЦНС (гострої та хронічної ішемії ГМ, деменції різноманітного генезу, судинної та діабетичної енцефалопатії, геморагічного інсульту, травматичних уражень ГМ тощо) [15]. Останнім часом церебролізин вводять до схем лікування депресивних розладів [16] і синдрому дефіциту уваги з гіперактивністю (СДУГ) [17].

Серед молекулярно-клітинних механізмів захисної активності церебролізи-

ну виділяють такі ланки [18–20]: зниження накопичення β-амілоїдного білка (β-АБ) і τ-протеїну за посередництва регуляції активності циклін-залежної кінази-5 (CDK-5) та кінази глікогенсинтази 3β (GSK3β); модулювання нейрозапальної реакції в разі хвороби Альцгеймера (ХА) шляхом зниження експресії ІЛ-1β, ФНП-α і зменшення щільності рецепторів останнього; збільшення рівнів циркулюючих нейротрофінів (нейротрофічного фактора мозку (НФМ) та ІПФ-1), стимуляція нейро- та ангиогенезу за рахунок активації низькоафінних рецепторів нейротрофінів TrkA і TrkB, а також нейропротекторних каскадів PI3K/Akt (Phosphoinositide 3-kinase/serine/threonine-specific protein kinase) і Shh (Sonic hedgehog); стимуляція поглинання та біотрансформації глюкози шляхом транслокації транспортера глюкози GLUT4 з цитоплазми нейронів на клітинну мембрану; покращання синаптичної нейропередачі, опосередкованої ГАМК<sub>B</sub>, аденозиновими A<sub>1</sub> та метаботропними глутаматними рецепторами (mGluR<sub>1</sub>), холінопозитивна активність; мембраностабілізуючий та антиоксидантний ефект. Таким чином, фармакодинаміка церебролізину охоплює значну кількість ефектів, притаманних нейропептидам (НП).

З початку 2000-х років в Україні виробляють і використовують у клінічній практиці аналоги церебролізину за складом і фармакологічною активністю – **церебрал** і **цереброкурин**, які мають низку переваг порівняно з оригінальним препаратом ПФМ свиней. Перший з них, що розроблений в Інституті фармакології та токсикології НАМН України, містить високоочищену ПФМ свиней, яким попередньо відтворювали гострий крововилив у мозок [21–25]. **Цереброкурин** є продуктом контрольованого протеолізу низькомолекулярних білків ембріонів крупної рогатої худоби, створений у Донецькому державному університеті імені М. Горького [26]. Обидва препарати відрізняються від церебролізину вмістом високоактивних БАС олігопептидної природи групи трофіотропінів – цито- та хемокінів, які утворюються в ГМ за дії патогенних



факторів (**церебрал**) або наявні в ембріональній тканині (**цереброкурин**). Відносна маса олігопептидів, що входять до складу цих ПП, не перевищує 1,5 кДа [22, 23]. Відповідно до результатів доклінічних досліджень цих ПП їхня ефективність переважає таку відомого аналога – церебролізину [27].

З 2002 року в РФ випускається ПП **кортексин**, який є комплексом L-АК та олігопептидів масою 1–10 кДа, що їх виділяють з кори ГМ телят [25]. **Кортексин** має широке коло показань (більшість нозологічних форм цереброваскулярної патології, нейроінфекційні хвороби, енцефалопатії різного генезу, розлади мовлення та рухових функцій тощо) [28–30]. Він чинить протиепілептичну дію, може тривалий час застосовуватися в дітей, зокрема, новонароджених [31]. У педіатрії препарат використовують для комплексної нейрореабілітації, що включає корекцію моторних та когнітивних порушень у дітей з церебральним паралічем, перинатальною енцефалопатією, СДУГ тощо [32].

Нейротропним комплексним ПП є **славінорм** – ЛЗ ангіо- та геропротекторної дії, запланований до промислового випуску в РФ. Цей ПП являє собою екстракт олігопептидів з судинної стінки молодих телят масою 72–678 Да [33]. Основним видом його фармакологічної активності є покращання мозкової мікрогемодинаміки, що робить препарат перспективним для лікування різноманітних судинних порушень ГМ, особливо в геріатричній практиці [34].

Оскільки фармакологічно активними інгредієнтами комплексних ПП є індивідуальні БАС, пошук нових нейротропних пептидних засобів спрямовано на дослідження властивостей коротколанцюгових олігопептидів, активність яких вирізняється специфічністю та меншою виразністю небажаних ефектів [35–37] (табл. 2).

На основі АК комплексу кортексину створено коротколанцюговий аналог – тетрапептид **кортаген** (*Ala-Glu-Asp-Pro*), який зберігає всі фармакологічні властивості кортексину за введення в 100 разів меншої дози (0,1 мг/кг проти 10 мг/кг) [38, 39].

До нейротропних олігопептидних препаратів належать також деривати адренокортикотропного гормона (АКТГ)<sub>4-7</sub> і тафцину, які стабілізовані трипептидним ланцюгом *Pro-Gly-Pro* – гептапептиди **семакс** (*Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro*) і **селанк** (*Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro*) [40]. Гідрофобний амінокислотний триплет *Pro-Gly-Pro* виконує роль стабілізатора структури цих ЛЗ, забезпечуючи стійкість до пептидаз ГМ і тривалу дію [41]. **Селанк** (НВЦ «Пептоген», РФ) використовується і/н для лікування тривожних розладів у дозах, які в десятки разів менші за дози непептидних транквілізаторів. Він позбавлений побічних ефектів бензодіазепінів (гіпноседативних, амнестичних і міорелаксації) і нівелює когнітивні порушення, що виникають за їхньої відміни після тривалого застосування [42]. Окрім виразної ансіолітичної дії, **селанк** має помірну антидепресантну, адаптогенну та ноотропну активність (оптимізує процеси навчання та пам'яті, впливаючи на активність серотонін-, допамін- та адренергічної системи) [43–45]. Його протитривожний ефект пов'язують з модулюванням системи церебральних катехоламінів і пригніченням церебральних дипептидилпептидаз, за участі яких відбувається біодеградація лей-енкефаліну, що в свою чергу є ендogenous коректором психоемоційного стану (знижує тривожність, діючи на  $\delta$ -опіатні рецептори) [46, 47]. За генералізованого тривожного розладу на тлі селанку  $T_{1/2}$  лей-енкефаліну в культурі нейронів зростає в 2,16 разу [48]. Нейропротекторні властивості ансіолітика виявляються на тлі індукованої дисульфірамом і 6-гідроксидопаміном (6-ГДА) деструкції адренергічних нейронів та за блокади синтезу білка актиноміцином-Д. За цих умов препарат попереджає виникнення когнітивного дефіциту в щурів [43, 49, 50].

Нейропротекторний і ноотропний ЛЗ **семакс** (*Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro*, НВЦ «Пептоген», РФ) створено на основі експериментальних свідчень про оптимальне поєднання нейротропних властивостей ділянки АКТГ<sub>4-7</sub> [51, 52]. Як і в структурі селанку, задля тривалості

ефекту молекулу **семаксу** стабілізовано трипептидом Pro-Gly-Pro. Таким чином досягнуті прийнятні фармакокінетичні властивості препарату (здатність швидко та вибірково накопичуватися в критичних для стимуляції когнітивних функцій структурах ГМ (нюхові цибулини, гіпокамп, кора) і висока тривалість ефекту за і/н введення) [53]. Ноотропні, нейропротекторні, антигіпоксичні, антиоксидантні, адаптогенні та нейротрофічні властивості **семаксу** дозволяють широко використовувати його як у неврології, нейрохірургії, психіатрії, так і в офтальмології, особливо у тих випадках, коли патологічний стан сітківки чи інших структур ока чинить несприятливий вплив на зоровий нерв [9, 45, 54, 55]. Препарат ефективний у пацієнтів з інсультом, транзиторними ішемічними атаками, хронічними порушеннями мозкового кровообігу, хворобою дрібних судин (small vessel disease), мігренню, черепно-мозковою травмою (ЧМТ), інтелектуально-мнестичними порушеннями різноманітного генезу, алкогольним абстинентним синдромом, атрофією та нейропатією зорового нерва [56, 57]. Нейропротекторні властивості **семаксу** пов'язані зі зростанням на його тлі експресії генів нейротрофічних факторів (перш за все НФМ, ФРН і нейротрофіну-3), а також їхніх рецепторів (TrkA, TrkB, TrkC і p75), зниженням умісту мРНК генів раннього реагування c-fos та c-jun, які за дії патологічних факторів опосередковують загибель нейрональних клітин шляхом апоптозу [54, 58, 59]. На тлі **семаксу** зменшується запальна реакція в ГМ, що супроводжується накопиченням протизапальних цитокінів (зокрема, інтерлейкіну-10). У цереброспінальній рідині зростає кількість антиапоптотичного білка bcl-2 й активність супероксиддисмутази [60]. За деякими даними, **семакс** коригує «мітохондріальну патологію», що розвивається за ГПМК і характеризується порушенням внутрішньоклітинного обміну кальцію, виходом цитохрому С у цитозоль та активацією каскаду проапоптотичних каспаз. Ноотропну дію пептидного нейропротектора пов'язують з впливом на ключові

ланки нейрональної пластичності, зокрема, з активацією метаботропних глутаматних рецепторів (mGluR), модуляцією холінорецепторів тощо [61]. Таким чином, **семакс** виявляє широкий профіль нейротропної активності та значною мірою розкриває терапевтичний потенціал молекули-прототипу – АКТГ.

В ЄС зареєстровано новий АКТГ<sup>1-13</sup>-подібний пептид **афамеланотид** (*Ac-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-D-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub>*, скорочено – [*Nle<sup>4</sup>,D-Phe<sup>7</sup>*]-АКТГ<sup>1-13</sup>), як фотопротекторний засіб за еритропоетичної протопорфірії та вітиліго [62]. Ця ділянка АКТГ відповідає АК послідовності іншого НП –  $\alpha$ -меланоцитстимулювального гормона ( $\alpha$ -МСГ), тому в англomовній літературі **афамеланотид** більше відомий як NDP- $\alpha$ -MSH [63]. На противагу природній АК послідовності  $\alpha$ -МСГ, у 4 положенні ланцюга **афамеланотиду** міститься АК норлейцину (Nle), а в 7 – D-ізоформа фенілаланіну [63]. Взаємодія цього ЛЗ з центральними меланокортиновими (MC<sub>1</sub>- та MC<sub>4</sub>-) рецепторами дозволяє використовувати його *off label* як нейропротекторний препарат. Наразі триває випробування ефективності **афамеланотиду** за ХА, паркінсонізму, травматичної хвороби мозку, ГПМК, шоку [64–68].

Окрім кортагену, селанку й семаксу до індивідуальних олігопептидних препаратів нейротропного профілю з немодифікованою АК послідовністю належать епіталон, карнозин, давунетид, зиконотид і дельтаран (суміш 1 частини нативного лінійного пептиду, що індукуює дельта-сон (delta-sleep inducing peptide, DSIP), та 10 частин гліцину) [9].

Тетрапептид **епіталон** (*Ala-Glu-Asp-Gly*) чинить ноотропний та актопротекторний ефекти як у лабораторних тварин за умов фізіологічного та прискореного старіння, так і в пацієнтів з амнестичними розладами [69]. Механізм його дії пов'язують зі стимуляцією рилізингу мелатоніну, який не лише нормалізує циркадні біоритми, проте чинить також антиоксидантний і нейропротекторний ефекти [70]. **Епіталон** активує рибосомальні гени, елонгує теломери в

соматичних клітинах, виявляючи таким чином геропротекторний ефект [71].

**Карнозин** ( $\beta$ -Ala-L-His) і **гомокарнозин** (*deamino-Dab-L-His*, де Dab –  $\alpha$ , $\gamma$ -діаміномасляна кислота) є важливими ендогенними дипептидними регуляторами функцій ЦНС вищих тварин, з яких перший використовується як нейропротекторний ЛЗ [72]. Наразі встановлено захисний ефект карнозину *in vitro* щодо нейронів у разі токсичності, зумовленої 6-ГДА, гомоцистеїном, важкими металами, ротеноном, N-метил-D-аспартатом (NMDA), сальолінолом й антиміцином А. У дослідженнях *in vivo* на моделях ГПМК, гострого та хронічного епілептогенезу, нейродегенеративних захворювань, як-от ХА та хвороба Піка (ХП), виявлено виразні нейропротекторні властивості цього ПП. У тестах водного лабіринту Морріса (ВЛМ), рефлексів активного та пасивного уникнення **карнозин** ефективно стимулює запам'ятовування в різних видів гризунів [73]. Клінічні дослідження цього ПП продемонстрували сприятливий терапевтичний вплив на когнітивні функції ветеранів бойових дій, негативну симптоматику хворих на шизофренію, а також відновлення системи антиоксидантно/прооксидантного балансу в пацієнтів з церебральною ішемією та ХП [73].

**Давунетид** (*Asn-Ala-Pro-Val-Ser-Ile-Pro-Gln*) – лінійний октапептидний гомолог ендогенного activity-dependent neuroprotective peptide [74]. За результатами доклінічного вивчення давунетиду виявлено нейропротекторні властивості в тварин з моделями когнітивних порушень, характерних для ХА (в аполіпопротеїн Е-нокаутних мишей, щурів з центральним холінодефіцитом, спричиненим етилхоліну азиридієм), ГПМК, ЧМТ, РС та за фетального алкогольного синдрому [74]. Механізм захисної активності **давунетиду** пов'язують зі стабілізацією нейронального цитоскелету й попередженням розвитку однієї з ланок нейродегенерації – таупатії [74], а також з нейротрофічною дією, яка реалізується за рахунок активації PI-3K/Akt і TrkB/MAPK сигнальних каскадів всередині нейронів

[75]. У п'ятьох подвійних сліпих плацебо-контрольованих КД встановлено значний позитивний вплив давунетиду на когнітивні функції пацієнтів зі спадковою таупатією, шизофренією, деменцією та прогресуючим супрануклеарним парезом погляду [76].

Наразі використання ЛЗ олігопептидної природи становить один з напрямів фармакокорекції больового синдрому. Така можливість з'явилася з виведенням на ринок у 2004 році **зиконотиду** – ПП лінійної структури (*H-Cys-Lys-Gly-Lys-Gly-Ala-Lys-Cys-Ser-Arg-Leu-Met-Tyr-Asp-Cys-Cys-Thr-Gly-Ser-Cys-Arg-Ser-Gly-Lys-Cys-NH<sub>2</sub>*, «Prialt», Elan Pharmaceuticals, Inc., США), який є синтетичним аналогом  $\omega$ -конотоксину (отрути молюска *Conus magnus*) [77]. Наразі **зиконотид** у вигляді інтратекальної інфузійної системи схвалено до застосування Американським управлінням продовольства та медикаментів (FDA) та Європейським агентством з ЛЗ (ЕМА) як інноваційний анагетичний агент для терапії болю помірного та виразного ступеня, резистентного до будь-якого з використовуваних методів лікування, а також у разі непереносимості або протипоказанні до використання класичних анагетиків з опіоїдними включно. За механізмом дії **зиконотид** є блокатором вольтаж-залежних  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів N-типу з виразним зниженням рилізину алгогенів (субстанції Р, глутамату, calcitonin gene-related peptide) у головному та спинному мозку. Виразна протибольова активність цього ПП доведена за результатами низки міжнародних мультицентрових КД високого рівня доказовості, в яких продемонстровано, зокрема, його високу безпечність навіть за тривалого використання [78]. Також існують експериментальні свідчення захисного ефекту **зиконотиду** за нейродегенеративних захворювань [79].

ПП, що містить DSIP (дельтаран, *Trp-Ala-Gly-Gly-Asp-Ala-Ser-Gly-Glu*, НДЦ «Комкон», РФ), у вигляді ліофілізату для приготування розчину для і/н застосування використовують як засіб підвищення адаптаційних можливостей організму, зокрема, у разі лікування алкоголізму та наркоманії [9].

Фармакодинаміка **дельтарану** включає адаптогенний, стреспротекторний, антидепресантний ефекти, здатність коригувати функціонально-метаболічні порушення нейронів ГМ за енцефалопатій різного генезу. Неспецифічний захисний ефект дозволяє застосовувати його за будь-яких уражень нервової системи як з профілактичною метою, так і в ургентній медицині. Використання **дельтарану** в клінічній практиці апробовано у пацієнтів з РС, ГПМК, токсичними ураженнями ГМ, нейроборолеозом, дитячим церебральним паралічем (ДЦП) та іншими розладами функцій ЦНС [80, 81].

Монокомпонентним олігопептидним ЛЗ нейротропної дії з мінімальною модифікацією АК ланцюга також є похідне глюкагоноподібного фактора-1 (ГПФ-1) **ліраглутид** (*H-His-Ala-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Val-Ser-Ser-Tyr-Leu-Glu-Gly-Gln-Ala-Ala-Lys<sup>(1)</sup>-Glu-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Val-Arg-Gly-Arg-Gly-OH-palmitoyl-Glu<sup>(1)</sup>-OH*). Цей ПП є моноциклічною структурою, в якій цикл утворюється між Lys<sup>20</sup> та palmitoyl-Glu. **Ліраглутид**, використовуваний в ендокринологічній практиці як інкретиноміметик [82], чинить виразний анорексигенний ефект, що доведено результатами мультицентрового рандомізованого подвійного сліпого плацебо-контрольованого КД «SCALE™ Obesity and Prediabetes trial» [83]. Наразі тривають КД **ліраглутиду** для лікування ХА. Висока ефективність ПП за цих умов має не лише практичну цінність, але є вагомим аргументом на користь гіпотези про тісний патогенетичний континуум периферичних метаболічних порушень за умов цукрового діабету (ЦД) 2 типу та нейродегенерації за альцгеймерівським типом (висловлюється думка, що ХА можна вважати ЦД 3 типу або «brain insulin resistant state» [84, 85]).

Однак переважна більшість монокомпонентних олігопептидних ЛЗ створені за технологією пептидного дизайну – модифікації хімічної структури ендогенних НП з метою покращання їхніх фармакодинамічних і фармакокінетичних властивостей [86]. Хімічна модифікація коротколанцюгових АК

послідовностей, які є активними центрами регуляторних поліпептидів, передбачає їхню циклізацію, введення D-амінокислот, амідування або ацилування, утворення глікозидного зв'язку, кон'югацію з наночастками для цілеспрямованої доставки до структур ГМ. У такий спосіб вдається виокремити специфічну функцію НП (гормона, нейротрофічного фактора) та використовувати модифікований олігопептид для селективного впливу на субстрат (рецептор, фермент, іонний канал тощо). Створені таким чином пептидергічні засоби мають удосконалені біофармацевтичні та фармакокінетичні параметри: високу біодоступність та селективність розподілу, нижчий ступінь біодеградації (пролонгований/посилений ефект), високу афінність до рецепторного сайту тощо [86, 87]. З-поміж створених за технологією пептидного дизайну нейротропних засобів особливу увагу привертає дипептидний міметик НФМ **ноопепт** (етилловий ефір *N-фенілацетил-L-Pro-Gly*), який виявляє ноотропні властивості в 1000 разів менших дозах, ніж пірацетам [88]. У ході біотрансформації **ноопепт** утворює циклопролілгліцин, який є ендогенним ноотропом і нейротрофіном (стимулює когнітивні функції та нейрогенез) [88]. **Ноопепт** усуває амнезію, індуковану електрошоком і скополамином, блокує рецепторами NMDA-рецепторів МК-801 і кетаміном. Препарат стимулює пам'ять на моделях рефлексів з негативним (умовний рефлекс пасивного/активного уникнення) і позитивним підкріпленням (Т-подібний лабіринт) [89]. На відміну від пірацетаму, покращує всі фази пам'яті, а не лише ранні етапи формування пам'ятного сліду. У разі тривалого застосування підвищує виживаність нейронів у пенумбрі [90]. У фронтальній корі, гіпокампі та гіпоталамусі активується мРНК ФРН і НФМ, зменшується фосфорилування кінази SAPK/JNK 46/54, яка активується у відповідь на дію стресорного фактора (гіпоксії, ішемії, рилізінгу ексайтотоксичних глутамату та аспартату) [90, 91]. Як ноотропний засіб **ноопепт** ефективний за ХА. Він стимулює просторову пам'ять (оперативну та референтну)



у щурів з моделлю ХА (стрептозоцин-,  $\alpha$ -синуклеїн-індукованої та відтвореної шляхом бульбектомії) [91, 92]. Захисний ефект ноопепту полягає в підвищенні титру антитіл до  $\beta$ -АБ і білка S-100, здатності коригувати цитокінівний профіль у тварин з системним запаленням [93]. ПП підвищує нейрональну відповідь на мікроіонофоретичне підведення АХ до постсинаптичних М-холінорецепторів. Ноопепту притаманні помірна анксиолітична активність і здатність потенціювати дію протиепілептичних ЛЗ [94].

Дипептидний гомолог нейротензину (НТ<sub>8-13</sub>) **дилепт** (метиловий ефір N-капроїл-*L-Pro-L-Tyr*) чинить виразну антипсихотичну дію в дозах, на порядок менших за такі класичних нейролептиків [95]. На моделях апоморфіна та L-ДОПА-індукованої стереотипії **дилепт** (0,4–4,0 мг/кг) переважає за активністю сульпірид (40–60 мг/кг). На відміну від останнього, у разі підвищення дози пептидного антипсихотика, катаlepsія не розвивається [96]. За тестами умовного рефлексу пасивного уникнення (УРПУ), розпізнавання нових об'єктів, ВЛМ встановлено ноотропні властивості **дилепту**. Його мнемоторна активність обумовлена стимуляцією вентрального стріо-палідарного ГАМК-ергічного шляху, зниження активності якого корелює з когнітивним дефіцитом у хворих на шизофренію [97, 98]. Таким чином, дипептидний аналог НТ<sub>8-13</sub> **дилепт** ефективно поєднує антипсихотичну та ноотропну дію, що є значним удосконаленням існуючої фармакотерапії шизофренії та інших психотичних розладів. Головним нейротропним ефектом похідного окситоцину **карбетоцину** (1-butyl-2-[3-(4-methoxyphenyl)-L-alanine]-oxytocin) є ослаблення потягу до вживання речовин опіоїдного ряду та зменшення проявів абстинентного синдрому в разі їхньої відміни [99]. Антиадиктивні властивості **карбетоцину** реалізуються шляхом модулювання активності допамінергічної мезолімбічної системи винагороди через окситоцинові рецептори (OTRs), лігандом яких він є. В експерименті цей ПП зменшує тривожність, депресивність і порушену соціалізацію тварин на тлі морфінової або героїнової залежності, а також практично повністю редукує споживання морфіну сульфату гризунами в тесті надання переваги місцю, обумовленого введенням морфіну (morphine-conditioned place preference test), на тлі як гострого, так і хронічного стресу [99]. Отже, **карбетоцин** є новітнім перспективним ЛЗ для лікування адитивних розладів з групи міметиків OTRs.

**Містиксин** (*p-anisoyl-Arg-Lys-Leu-Leu-D-Thr-Ile-D-Leu-NH<sub>2</sub>*) – синтетичний гептапептидний аналог кортиколіберину, що містить у своєму складі ацильований аргінін і D-стереоізомери треоніну та лейцину. В експерименті **містиксин** виявляє унікальне поєднання блокади NMDA-рецепторів і потенціації іншого підвиду глутаматних рецепторів – АМРА [100]. У зв'язку з цим **містиксин** здатний покращувати нейрональну пластичність, стимулюючи формування довготривалої пам'яті за механізмом «long-term potentiation», та захищати нейрони від ексайтотоксичного впливу глутамату, який супроводжується порушенням кальцієвого гомеостазу, розладами електрофізіологічної функції нейронів, їх набряком і набуханням за ішемії [101]. Перспективним є використання **містиксину** як первинного та вторинного нейропротектора за ГПМК.

Відомим нейропротекторним пептидом є тироліберин, який, однак, не знайшов використання в клінічній практиці через швидку інактивацію ( $T_{1/2} \approx 5$  хв) та нездатність проникати крізь ГЕБ. Синтетичними аналогами тироліберину, які реалізують його захисні ефекти щодо нервової тканини, є **монтирелін** (6-Me-5-oxothiomorpholinyl-3-carbonyl-His-Pro-NH<sub>2</sub>) і **талтирелін** ((1-methyl-4,5-dihydroorotyl)-His-Pro-NH<sub>2</sub>, Ceredist®, Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation, Японія) [102]. Перший з них проходить клінічні випробування як нейропротектор, а другий застосовується для терапії нейродегенеративних захворювань (деменції, паркінсонізму, нейродегенерації з тільцями Леві, мозочково-спінальної нейродегенерації) [103]. **Тартиреліну** притаманні антидепресантна дія та виразний антагонізм з пригнічувальною дією опіоїдів щодо

дыхального центру [104]. Ці засоби є інноваційними ліками (first-in-class drugs) з оригінальним тироліберинергічним механізмом дії, що оптимізує енергетичний обмін нейронів при пошкодженні. Наразі триває постмаркетингове вивчення ефективності та безпечності **тартиреліну** з метою його впровадження в стандарти надання медичної допомоги за нейродегенерації різного генезу [102].

На кафедрі фармакології Національного фармацевтичного університету виконано комплекс доклінічних досліджень перспективних пептидергічних нейропротекторів – гомологів ланки АКТГ<sub>15-18</sub>. Тетрапептид-лідер (*acetyl-D-Lys-Arg-Arg-amide*, робоча назва **Д-лізаргам**) виявляє потужні ноотропні, антигіпоксичні, стреспротекторні властивості, покращує церебральний і системний кровообіг, зменшує некротичну та апоптотичну загибель нейроцитів на тлі церебральної ішемії, підвищує поглинання мозковою тканиною глюкози та синтез АТФ, редукує когнітивний дефіцит у тварин з моделями ГПМК і ХА, має нейротрофічні, цитокін-опосередковані протизапальні властивості, чинить м'яку анксиолітичну й антидепресантну дію [105–107]. Особливістю структури цих пептидів, зокрема пептиду-лідера, є наявність D-стереоізомерів, а також амідованих та ацильованих похідних АК, що захищає їхні молекули від швидкого руйнування пептидазами [105]. Привабливою рисою є можливість і/н введення зазначених олігопептидів.

Отже, сьогодні ПП – велика та неоднорідна група ЛЗ з плейотропним впливом на ЦНС. Особливості механізмів їхньої нейротропної дії частково висвітлено в першій частині огляду («Фармакологія та лікарська токсикологія», 2018, № 4–5). Залежно від походження та особливостей хімічної будови більшість ПП чинить різноспрямований захисний ефект щодо нейронів ГМ (нейропротекторний ефект). Найактуальнішим є захист нейроцитів від апоптотичної загибелі, яка має місце за нейродегенерації, травматичних та гемоциркуляторних розладів мозку [102]. Типовими механізмами нейро-

протекторної активності пептидергічних препаратів слід вважати такі [108–110]:

- а) *нейротрансмітерний механізм*, який реалізується шляхом безпосередньої взаємодії пептидів з власними рецепторами (наприклад, активність карбетоцину опосередкована взаємодією з OTRs; містиксин виявляє парціальний антагонізм з NMDA-рецепторами, а також зменшує зв'язування кальцій-кальмодулін-залежної кінази-2 $\alpha$  з доменом NR2B цих рецепторів) [99–101];
- б) *нейромодулювальний механізм* – за рахунок модуляції ліганд-рецепторної взаємодії класичних нейромедіаторних систем ГМ (наприклад, вплив на функціонування центральних допамін-, серотонін-, ацетилхолін- та опіоїдергічної систем ЛЗ похідними тироліберину – талтиреліном і монтиреліном; покращання синаптичної передачі, опосередкованої ГАМК<sub>B</sub>, аденозиновими A<sub>1</sub> та метаботропними глутаматними рецепторами mGluR<sub>1</sub> на тлі церебралізму; модуляція катехоламін- та опіоїдергічної нейротрансмісії селанком) [18–20, 43, 46, 102];
- в) *посилення експресії нейротрофічних факторів* (НФМ, ФРН, vascular endothelial growth factor), їхньої взаємодії з рецепторами тирозинкіназ (TrkA, TrkB, TrkC), що має наслідком підвищення інтенсивності нейрогенезу та нейропластичності (ноопепт, семакс, селанк, кортаген) [38, 39, 49, 58, 59, 61, 92, 93];
- г) *вплив на внутрішньоклітинні метаболічні каскади, у тому числі поліпшення енергозабезпечення нейронів та антиоксидантний вплив*. Прикладами впливу на внутрішньоклітинні метаболічні каскади є стимуляція циклін-залежної кінази-5 і кінази GSK3 $\beta$  церебралізином; протеїнкіназних каскадів TrkA/Akt, PI3K/Akt/mTOR, Ras/ERK/MAPK засобами, що є міметиками нейротрофічних факторів, – семаксом, ноопептом; здатність давунетиду підвищувати активність металопротеїнази ADAM10, яка спрямовує процесинг пептиду-попередника  $\beta$ -АБ



неамілоїдогенним шляхом; пригнічення проапоптотичної каспази-3 і збільшення вмісту білків, які гальмують апоптоз (bcl-2, bcl-xl та bcl-w) (семакс) [63, 74, 75]; *поліпшення енергетичного забезпечення нейронів* на тлі дії патогенних чинників забезпечують церебралізін і ліраглутид шляхом посилення транспорту та утилізації глюкози, впливаючи, зокрема, на транспортер глюкози GLUT4, коригуючи мітохондріальну дисфункцію [11, 84, 85]; *антиоксидантні властивості*, зокрема попередження пероксидної модифікації структурних елементів нейронів (мембран, цитоскелету, генетичного апарату) та усунення нітрозуючого стресу, притаманні цереброкурину, церебралу, семаксу [9, 14, 21–23, 45];

г) *вплив на внутрішньоклітинний фолдинг білка*, зокрема на активність білків-шаперонів (Hsp-70 тощо) (афамеланотид) [64–66];

д) *корекція запальної реакції в ЦНС* (наприклад, зменшення рилізину прозапальних цитокінів (ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$  та ІЛ-6) і хемокінів (ІЛ-8), пригнічення активності циклооксигенази), вплив меланокортинових нейропротекторів (афамеланотид) на клітинну ланку імунної системи (пригнічення гліальної реакції, модифікації Th1/17 T-хелперів у Th2 T-лімфоцити) [68];

е) *реперфузія постраждалої ділянки ГМ* за цереброваскулярних порушень шляхом усунення ендотеліальної дисфункції мікроциркуляторного русла (афамеланотид, семакс) [56, 57, 63].

Більшість ПП ефективно поєднують декілька типових механізмів захисту нейрональної тканини. Окрім того, для цих засобів характерним є явище нейропептидного континууму, яке полягає в утворенні коротколанцюгових метаболітів ПП внаслідок їхньої біодеградації в ГМ [4]. Утворені олігопептидні метаболіти виявляють індивідуальну фармакологічну активність, яка може посилювати терапевтичний вплив пептидної молекули-прекурсора та інших молекул-метаболітів за принципом синергізму, доповнюючи їхню здатність захищати нейрони ГМ. Яскравим прикладом є родина олігопептидів-гліпролінів (молекули, що деградують з утворенням олігомерів *pro-gly-pro*, *gly-pro*, *pro-gly*) і препаратів, створених на їхній основі (семакс, селанк) [41], плейотропний вплив на нервову систему яких забезпечується описаним вище механізмом.

Таким чином, доцільно створювати та досліджувати фармакологічну активність нових ПП, оскільки вони мають значний потенціал для вдосконалення терапії функціональних й органічних розладів ЦНС. З огляду на їхню виражену захисну активність щодо нервової тканини, ПП є чи не найперспективнішою групою ефективних і безпечних нейропротекторів, потреба в яких невинно зростає. Актуальним завданням є створення ПП для лікування пацієнтів з найпоширенішими неврологічними хворобами (перш за все, нейродегенеративними та цереброваскулярними), які становлять серйозну загрозу для населення Землі у зв'язку зі зростанням тривалості життя людей.

1. Lau J. L. Development Trends for Peptide Therapeutics: Status in 2016 / J. L. Lau, M. K. Dunn // Presented at the 11<sup>th</sup> Annual Peptide Therapeutics Symposium, La Jolla, California, October 27–28, 2016. URL: <http://www.peptidetherapeutics.org/wp-content/uploads/2017/02/2016-Peptide-Therapeutics-Poster-Ferring-Research-Institute.pdf>.
2. Lau J. L. Therapeutic peptides: Historical perspectives, current development trends, and future directions / J. L. Lau, M. K. Dunn // Bioorganic & Medicinal Chemistry. – 2017. – V. 26, Iss. 10. – URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968089617310222>.
3. Шабанов П. Д. Фармакология лекарственных препаратов пептидной структуры / П. Д. Шабанов // Психофармакология и биологическая наркология. – 2008. – Т. 8, Вып. 3–4. – С. 2399–2425.
4. Замятнин А. А. Фрагментоміка природних пептидних структур / А. А. Замятнин // Успехи биологической химии. – 2009. – Т. 49. – С. 405–428.
5. Хавинсон В. Х. Пептидная регуляция основных функций организма / В. Х. Хавинсон, Г. А. Рыжак // Вестник Росздравнадзора. – 2010. – № 6. – С. 58–62.
6. Actovegin®: a biological drug for more than 5 decades / F. Buchmayer [et al.] // Wiener Medizinische Wochenschrift. – 2011. – V. 161, Iss. 3–4. – P. 80–88.

7. Stelmakh A. Highly purified calf hemodialysate (Actovegin®) may improve endothelial function by activation of proteasomes: A hypothesis explaining the possible mechanisms of action / A. Stelmakh, O. Abrahamovych, A. Cherkas // *Medical Hypotheses*. – 2016. – V. 95. – P. 77–81.
8. Боголепова А. Н. Солкосерил в терапии цереброваскулярной патологии (обзор литературы) / А. Н. Боголепова // *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова*. – 2007. – Т. 107, № S20 – С. 66–71.
9. Зарубина И. В. Функционально-метаболические нарушения в головном мозге при хронической ишемии и их коррекция нейропептидами / И. В. Зарубина, Т. В. Павлова // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. – 2007. – Т. 5, № 2. – С. 20–33.
10. ARTEMIDA Trial (A Randomized Trial of Efficacy, 12 Months International Double-Blind Actovegin) A Randomized Controlled Trial to Assess the Efficacy of Actovegin in Poststroke Cognitive Impairment / A. Guekht [et al.] // *Stroke*. – 2017. – V. 48. – P. 1262–1270.
11. Cerebrolysin in Vascular Dementia / N. Chen, M. Yang, J. Guo [et al.] // *The Cochrane Database of Systematic Reviews*. – 2013. – Iss. 1. – CD008900.
12. A Meta-analysis of the Effect of Different Neuroprotective Drugs in Management of Patients with Traumatic Brain Injury [Электронный ресурс] / I. El Sayed, A. Zaki, A. M. Fayed [et al.] // *Neurosurgical Review*. – 2016. – Режим доступа: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10143-016-0775-y>.
13. Громова О. А. Пептидный состав церебролизина как основа молекулярных механизмов действия и клинической эффективности препарата / О. А. Громова, И. Ю. Торшин, И. В. Гоголева // *Современная терапия в психиатрии и неврологии*. – 2014. – № 2. – С. 27–36.
14. Нейротрофический и антиоксидантный потенциал нейропептидов и микроэлементов / О. А. Громова [и др.] // *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. – 2015. – № 7 (4). – С. 92–100.
15. Недогода С. В. Церебролизин: доказательная база и применение при когнитивных нарушениях / С. В. Недогода // *Справочник поликлинического врача*. – 2013. – № 7–8. – С. 46–48.
16. Зуйкова Н. Л. Церебролизин в терапии депрессий / Н. Л. Зуйкова, А. Ю. Израелян, Е. В. Гущанская // *Психиатрия и психофармакотерапия*. – 2013. – Т. 15, № 1. – С. 41–46.
17. Sotnikova N. Y. Dual Effect of Cerebrolysin in Children with Attention Deficit Syndrome with Hyperactivity: Neuroprotection and Immunomodulation / N. Y. Sotnikova, O. A. Gromova, E. A. Novicova // *Russian Journal of Immunology*. – 2002. – V. 7, № 4. – P. 357–364.
18. Masliah E. The Pharmacology of Neurotrophic Treatment with Cerebrolysin: Brain Protection and Repair to Counteract Pathologies of Acute and Chronic Neurological Disorders / E. Masliah, E. Diez-Tejedor // *Drugs Today (Barc)*. – 2012. – V. 48, Suppl. 4. – P. 3–24.
19. Sonic Hedgehog Signaling Pathway Mediates Cerebrolysin-improved Neurological Function after Stroke / L. Zhang, M. Chopp, D. H. Meier [et al.] // *Stroke*. – 2013. – V. 44, Iss. 7. – P. 1965–1972.
20. Álvarez A. Peptidergic Drugs for the Treatment of Traumatic Brain Injury / A. Álvarez, J. Figueroa, D. Muresanu // *Fut Neurol*. – 2013. – V. 8 (2). – P. 175–192.
21. Макаренко А. Н. Исследование химического состава нового комплексного препарата группы трофинотропинов митокорректин М2, полученного из клеточной митохондриальной фракции / А. Н. Макаренко, Н. И. Карандеева // *Вісник УМКА*. – 2009. – Т. 9, № 4. – С. 84–88.
22. Макаренко О. М. Дослідження активності нового препарату групи трофінотропінів церебралу на моделі ізолюваного серця / О. М. Макаренко, Ю. Н. Король, Ю. К. Карандеева // *Вісник УМКА*. – 2011. – Т. 11, № 4. – С. 119–123.
23. Макаренко А. Н. Нейроактивирующий механизм действия трофинотропина церебрала / А. Н. Макаренко, И. Г. Васильева // *Экспериментальная клиническая фармакология*. – 2004. – Т. 67, № 4. – С. 12–15.
24. Влияние церебрала на иммунную систему при экспериментальном геморрагическом инсульте / В. Г. Аркадьев [и др.] // *Экспериментальная клиническая фармакология*. – 2002. – Т. 65, № 2. – С. 20–23.
25. Єфремова В. Фармакопротекторна дія трофінотропіну «Церебралу» на клітини цереброкортексу кішок за умов моделювання гострого геморагічного інсульту / В. Єфремова, О. Макаренко, Н. Скрипник // *Вісник КНУ ім. Тараса Шевченка. Серія Біологія*. – 2012. – Т. 60. – С. 44–45.
26. Беленичев И. Ф. Нейропротекторное действие цереброкурина в условиях моделирования острого нарушения мозгового кровообращения / И. Ф. Беленичев, С. В. Павлов, В. В. Дунаев // *Экспериментальная клиническая фармакология*. – 2010. – Т. 73, № 2. – С. 6–9.
27. Беленичев И. Ф. Содержание маркеров окислительной модификации и нитрозилирования белков в головном мозге при введении цереброкурина, кортексина и церебролизина на фоне алкогольной интоксикации / И. Ф. Беленичев, Е. П. Соколик // *Запорожский медицинский журнал*. – 2011. – Т. 13, № 3. – С. 5–7.
28. Cortexin – Five Years in Neurological Practice in Russia; ed. by A. A. Skoromets, M. M. Dyakonov. 2nd ed. – St. Petersburg : Nauka, 2007. – 224 p.
29. Клиническая эффективность и фармакоэкономические характеристики нейропротекции низкими дозами кортексина в терапии острого ишемического инсульта / В. М. Алиферова, М. Н. Дадашева, Б. М. Доронин [и др.] // *Журнал неврологии и психиатрии*. – 2014. – № 4. – С. 41–46.

30. Скороходов А. П. Нейропротекция и восстановление нарушенных функций при ишемическом инсульте / А. П. Скороходов, А. А. Дудина, Е. А. Колесникова // *Consilium Medicum*. – 2014. – Т. 16, № 2. – С. 30–34.
31. Golovkin V. I. Cortexin in Treatment of Epilepsy / V. I. Golovkin // *Cortexin – Five Years in Neurological Practice in Russia*. – 2nd ed. – St. Petersburg : Nauka, 2007. – P. 146–155.
32. Немкова С. А. Применение кортексина в комплексной нейрореабилитации у детей / С. А. Немкова, Н. Н. Заваденко, Н. Ю. Суворинова // *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. – 2015. – № 3. – С. 37–44.
33. Влияние пептидного биорегулятора сосудов на микроциркуляцию в коре головного мозга у старых крыс / И. Б. Соколова [и др.] // *Успехи геронтологии*. – 2016. – Т. 29, № 2. – С. 291–296.
34. Антиатеросклеротическое действие пептидного геропротектора / А. П. Рыжак, Б. И. Кузник, В. Н. Рутковская, Г. А. Рыжак // *Успехи геронтологии*. – 2012. – Т. 25, № 1. – С. 139–142.
35. Ашмарин И. П. Современное состояние гипотезы о функциональном континууме регуляторных пептидов / И. П. Ашмарин, М. Ф. Обухова // *Вестник РАМН*. – 1994. – № 10. – С. 28–34.
36. Воронина Т. А. Ноотропные и нейропротекторные средства / Т. А. Воронина, С. Б. Середенин // *Экспериментальная клиническая фармакология*. – 2007. – Т. 40, № 4. – С. 44–58.
37. Зависимость тканеспецифического действия пептидов от количества аминокислот, входящих в их состав / В. Х. Хавинсон [и др.] // *Фундаментальные исследования*. – 2015. – № 2–3. – С. 497–503.
38. Шабанов П. Д. Нейропротекторное действие кортексина и кортагена / П. Д. Шабанов, А. И. Вислобоков // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. – 2013. – Т. 11, № 2. – С. 17–25.
39. Зарубина И. В. Кортексин и кортаген как корректоры функционально-метаболических нарушений головного мозга при хронической ишемии / И. В. Зарубина, П. Д. Шабанов // *Экспериментальная клиническая фармакология*. – 2001. – Т. 74, № 2. – С. 8–15.
40. Высокостабильные регуляторные олигопептиды: опыт и перспективы применения / И. П. Ашмарин [и др.] // *Патофизиология и экспериментальная терапия*. – 2003. – № 4. – С. 2–5.
41. Протекторные (профилактические) эффекты интраназального введения глипролинов (pro-glypro, gly-pro, pro-gly) в отношении стрессогенных нарушений поведения крыс / С. Е. Бадмаева [и др.] // *Вестник Московского университета. Серия 16: Биология*. – 2005. – № 4. – С. 3–7.
42. Нейропептидный препарат селанк: биологическая активность и фундаментальные механизмы действия / В. Г. Скребицкий, А. П. Касян, И. С. Поваров [и др.] // *Нервные болезни*. – 2016. – № 4. – С. 52–56.
43. О компенсаторных свойствах селанка при мнестических нарушениях функций, вызванных нейротоксическим воздействием на норадренергическую систему мозга крыс / И. И. Козловский, Ю. Ф. Белозерцев, Т. П. Семенова [и др.] // *Экспериментальная клиническая фармакология*. – 2008. – Т. 72, № 2. – С. 3–7.
44. Оптимизация процессов обучения и памяти в эксперименте с помощью селанка / Т. П. Семенова, И. И. Козловский, Н. М. Захарова, М. М. Козловская // *Экспериментальная клиническая фармакология*. – 2010. – Т. 73, № 8. – С. 2–5.
45. Адаптогенная активность семакса и селанка: экспериментальное исследование / А. К. Петровский [и др.] // *Медицинский альманах*. – 2017. – № 1 (46). – С. 114–118.
46. Ингибирующее действие семакса и селанка на энкефалиндеградирующие ферменты сыворотки крови человека / И. А. Гривенников, Л. А. Андреева, Н. Ф. Мясоєдов, А. А. Зозуля // *Биоорганическая химия*. – 2001. – Т. 27, № 3. – С. 180–183.
47. Alexeeva E. V. Effects of Peripheral  $\mu$ ,  $\delta$ , and  $\kappa$ -opioid Receptor Agonists on the Levels of Anxiety and Motor Activity of Rats / E. V. Alexeeva, G. A. Nazarova, S. K. Sudakov // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2012. – V. 153, Iss. 5. – P. 720–721.
48. Эффективность и возможные механизмы действия нового пептидного анксиолитика селанка при терапии генерализованного тревожного расстройства и неврастении / А. А. Зозуля [и др.] // *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова*. – 2008. – Т. 108, № 4. – С. 38–48.
49. Пептид селанк регулирует экспрессию BDNF в гиппокампе крысы *in vivo* при интраназальном введении / Л. С. Иноземцева [и др.] // *Доклады Академии наук*. – 2008. – Т. 421, № 6. – С. 842–844.
50. Протективное действие селанка при нарушении мнестических функций, вызванном в эксперименте фармакологической блокадой синтеза белка / И. И. Козловский, Ф. Ю. Белозерцев, Л. А. Андреева, М. М. Козловская // *Экспериментальная клиническая фармакология*. – 2013. – Т. 76, № 12. – С. 3–7.
51. Бахарев В. Д. Пептиды-регуляторы (Молекулярная регуляция мозга) / В. Д. Бахарев. – Москва : Знание, 1985. – 64 с.
52. Sandman C. A. Are Learning and Attention Related to the Sequences of Amino Acids in ACTH/MSH Peptides? / C. A. Sandman, B. E. Beckwith, A. J. Kastin // *Peptides*. – 1980. – V. 1, Iss. 4. – P. 277–280.
53. Равномерно меченные тритием пептиды в исследованиях по их биodeградации *in vivo* и *in vitro* / Ю. А. Золотарев [и др.] // *Биоорганическая химия*. – 2006. – Т. 32, № 2. – С. 183–191.

54. Долотов О. В. Механизмы действия пептида Семакс на центральную нервную систему: роль нейротрофинов: автореф. дисс. на соискание ученой степени канд. биол. наук: 03.00.13 / О. В. Долотов, Институт молекулярной генетики. – Москва, 2004. – 45 с.
55. Иванова Н. Е. Результаты применения препарата семакс при когнитивных нарушениях в остром периоде ишемического инсульта и при хронической ишемии мозга / Н. Е. Иванова // Неврология и психиатрия. – 2012. – № 2. – С. 2–8.
56. Семакс – новое лекарственное средство для коррекции кровообращения мозга, гипоксических состояний и повышения умственной трудоспособности / И. П. Ашмарин [и др.] // Фарматека. – 1997. – № 4. – С. 32–33.
57. Исследование спектра физиологической активности аналога АКН4-10 гептапептида Семакс / Н. Г. Левицкая [и др.] // Нейрохимия. – 2008. – Т. 25, № 1–2.
58. Семакс и его С-концевой фрагмент PGP влияют на экспрессию генов нейротрофинов и их рецепторов в условиях неполной глобальной ишемии мозга крыс / В. В. Ставчанский [и др.] // Молекулярная биология. – 2011. – Т. 45, № 6. – С. 1026–1035.
59. Semax-Induced Changes in Growth Factor mRNA Levels in the Rat Brain on the Third Day After Ischemia / E. V. Medvedeva [et al.] // International Journal of Peptide Research and Therapeutics. – 2016. – V. 22, Iss. 2. – P. 197–209.
60. Semax, an Analog of ACTH(4-7), Regulates Expression of Immune Response Genes During Ischemic Brain Injury in Rats / E. V. Medvedeva [et al.] // Molecular Genetics and Genomics. – 2017. – V. 292, Iss. 3. – P. 635–653.
61. Влияние пептидного препарата семакс на ключевые звенья нейрональной пластичности / Ю. Ю. Фирстова, О. В. Долотов, Е. А. Кондрахин, Г. И. Ковалев // Психиатрия. – 2010. – № 4. – С. 60.
62. Kim E. S. Afamelanotide: A Review in Erythropoietic Protoporphyrria / E. S. Kim, K. P. Garnock-Jones // American Journal of Clinical Dermatology. – 2016. – V. 16, Iss. 2. – P. 179–185.
63.  $\alpha$ -MSH: A Potential Neuroprotective and Immunomodulatory Agent for the Treatment of Stroke / A. V. Savos, J. M. Gee, D. Zierath, K. J. Becker // Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism. – 2011. – V. 31, Iss. 2. – P. 606–613.
64. 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.
65. Protective Effects of Melanocortins on Short-term Changes in a Rat Model of Traumatic Brain Injury / A. Bitto [et al.] // Critical Care Medicine. – 2012. – V. 40, № 3. – P. 945–951.
66. Protective Action of NDP-MSH in Experimental Subarachnoid Hemorrhage / S. Gatti [et al.] // Experim Neurol. – 2012. – V. 234, Iss. 1. – P. 230–238.
67. Neuroprotective Effects of  $\alpha$ -melanocyte-stimulating Hormone Against the Neurotoxicity of 1-methyl-4-phenylpyridinium / T. Peng [et al.] // IUBMB Life. – 2017. – V. 69, Iss. 5. – P. 315–320.
68.  $\alpha$ -MSH: A Potential Neuroprotective and Immunomodulatory Agent for the Treatment of Stroke / A. V. Savos, J. M. Gee, D. Zierath, K. J. Becker // Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism. – 2011. – V. 31, Iss. 2. – P. 606–613.
69. Виноградова И. А. Сравнительное изучение влияния мелатонина и эпیتالона на долговременную память у крыс при старении в условиях челночного лабиринта / И. А. Виноградова // Экспериментальная клиническая фармакология. – 2006. – Т. 69, № 6. – С. 13–16.
70. Арушанян Э. Б. Физиологические и фармакологические особенности эпифизарных нейропептидов / Э. Б. Арушанян, Л. Г. Арушанян, И. А. Симонов // Экспериментальная клиническая фармакология. – 2001. – Т. 64, № 4. – С. 73–79.
71. Хавинсон В. Х. Пептид эпیتالон индуцирует теломеразную активность и элонгацию теломер в соматических клетках человека / В. Х. Хавинсон // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2003. – Т. 135, № 6. – С. 692–694.
72. Boldyrev A. A. Physiology and Pathophysiology of Carnosine / A. A. Boldyrev, G. Aldini, W. Derave // Physiol Rev. – 2013. – V. 93. – P. 1803–1845.
73. Carnosine is an Effective Neuroprotector in Brain Pathology and Potential Neuromodulator in Normal Conditions / D. S. Berezhnoy [et al.] // Amino Acids. – 2018. – [E-pub ahead of print], URL: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00726-018-2667-7>.
74. NAP: Research and Development of a Peptide Derived from Activity-Dependent Neuroprotective Protein (ADNP) / I. Gozes [et al.] // CNS Drugs Reviews. – 2005. – № 4. – P. 353–368.
75. Gozes I. NAP (Davunetide) Provides Functional and Structural Neuroprotection / I. Gozes // Current Pharmaceutical Design. – 2011. – V. 17 (10). – P. 1040–1044.
76. Davunetide: A Review of Safety and Efficacy Data with a Focus on Neurodegenerative Diseases / B. H. Morimoto, A. W. Fox, A. L. Stewart, M. Gold // Exp Rev Clin Pharmacol. – 2013. – № 6 (5). – P. 483–502.
77. Safavi-Hemami H. Pain Therapeutics from Cone Snail Venoms: From Ziconotide to Novel Non-Opioid Pathways / H. Safavi-Hemami, S. E. Brogan, B. M. Olivera // Journal of Proteomics. – 2018. – V. 190. – P. 12–20 [E-pub ahead of print].



78. Brookes M. E. Ziconotide Monotherapy: A Systematic Review of Randomised Controlled Trials / M. E. Brookes, S. Eldabe, A. Batterham // *Current Neuropharmacology*. – 2017. – V. 15, Iss. 2. – P. 217–231.
79. Animal venom peptides as a treasure trove for new therapeutics against neurodegenerative disorders / X. Yang, Y. Wang, C. Wu, E.A. Ling // *Current Medicinal Chemistry*. – 2018. – [E-pub ahead of print], URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30378475>.
80. Михалева И. И. Пептид дельта-сна и Дельтаран: от химико-биологических исследований к медицине / И. И. Михалева, Б. О. Войтенков // *Новые лекарственные препараты*. – 2007. – № 3. – С. 6–9.
81. Сидорова С. А. Исследование нейропротекторной активности дельтарана и эффективности сопряженной многоканальной электронной стимуляции в восстановительном периоде ишемического инсульта / С. А. Сидорова, В. Б. Ласков, И. И. Бобынцев // *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. – 2011. – № 1. – С. 89–95.
82. Neuronal GLP1R mediates liraglutide's anorectic but not glucose-lowering effect / S. Sisley [et al.] // *Journal of Clinical Investigation*. – 2014. – V. 124. – P. 2456–2463.
83. Improvements in health-related quality of life over 3 years with liraglutide 3.0 mg compared with placebo in participants with overweight or obesity / R. L. Kolotkin, S. B. Gabriel, H. H. Meincke, K. Fujioka // *Clinical Obesity*. – 2018. – V. 8 (1). – P. 1–10.
84. Hölscher C. Potential role of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in neuroprotection / C. Hölscher // *CNS Drugs*. – 2012. – V. 26. – P. 871–872.
85. Crosstalk between diabetes and brain: glucagon-like peptide-1 mimetics as a promising therapy against neurodegeneration / A. I. Duarte [et al.] // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2013. – V. 1832. – P. 527–541.
86. Rational, computer-enabled peptide drug design: principles, methods, applications and future directions / D. J. Diller [et al.] // *Future Medicinal Chemistry*. – 2015. – V. 7. – P. 2173–2193.
87. 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.
88. Гудашева Т. А. Стратегия создания пептидных лекарств / Т. А. Гудашева // *Вестник РАМН*. – 2011. – № 7. – С. 8–16.
89. Эффективность ноотропного и нейропротекторного дипептида ноопепта на стрептозоциновой модели болезни Альцгеймера у крыс / Р. У. Островская [и др.] // *Экспериментальная клиническая фармакология*. – 2010. – Т. 73, № 1. – С. 2–6.
90. Оригинальный ноотропный и нейропротекторный препарат ноопепт / Р. У. Островская [и др.] // *Экспериментальная клиническая фармакология*. – 2002. – Т. 65, № 5. – С. 66–72.
91. Островская Р. У. К механизму действия ноопепта: снижение активности стресс-продуцируемых протеинкиназ и активация экспрессии нейротрофинов / Р. У. Островская // *Экспериментальная клиническая фармакология*. – 2010. – Т. 73, № 12. – С. 2–5.
92. Nootropic Dipeptide Noopept Enhances Inhibitory Synaptic Transmission in the Hippocampus / I. S. Povarov [et al.] // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2015. – V. 158, Iss. 3. – P. 349–351.
93. Neuroprotective and Nootropic Drug Noopept Rescues  $\alpha$ -synuclein Amyloid Cytotoxicity / X. Jia [et al.] // *Journal of Molecular Biology*. – 2011. – V. 414, Iss. 5. – P. 699–712.
94. Оригинальный ноотропный и нейропротекторный препарат ноопепт усиливает противосудорожную активность вальпроата у мышей / Е. В. Кравченко [и др.] // *Экспериментальная клиническая фармакология*. – 2009. – Т. 72, № 6. – С. 15–17.
95. Design of N-acetylprolyltyrosine "Tripeptoid" Analogues of Neurotensin as Potential Atypical Antipsychotic Agents / T. A. Gudasheva [et al.] // *Journal of Medicinal Chemistry*. – 1998. – V. 41, Iss. 3. – P. 284–290.
96. Comparison of Antipsychotic Activity and Discriminative Stimulus Effects of the Novel Acylprolyltyrosine Containing Compound, GZR-123, and Sulpiride / L. S. Asmakova [et al.] // *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. – 1999. – V. 64, Iss. 2. – P. 359–362.
97. Горелов П. И. Оценка прокогнитивного эффекта дипепта и его основного метаболита, ГЗР-125, в тесте распознавания объектов у крыс / П. И. Горелов, Р. У. Островская, М. М. Сазонова // *Экспериментальная клиническая фармакология*. – 2013. – Т. 76, № 7. – С. 3–5.
98. Влияние дипептидного аналога нейротензина дипепта на внеклеточное содержание глутамата, ГАМК и гомованилиновой кислоты в прилежащем ядре мозга крыс / Е. В. Шубенина [и др.] // *Экспериментальная клиническая фармакология*. – 2010. – Т. 73, № 12. – С. 9–12.
99. Oxytocin and opioid addiction revisited: old drug, new applications / P. Zanos [et al.] // *British Journal of Pharmacology*. – 2018. – V. 175. – P. 2809–2824.
100. Мокрушин А. А. Нейротропные эффекты гептапептида мистиксина на переживающих срезах мозга / А. А. Мокрушин // *Экспериментальная клиническая фармакология*. – 2011. – Т. 74, № 12. – С. 8–10.
101. Одновременная потенциация AMPA рецепторов и блокада NMDA рецепторов как стратегия создания эффективных стимуляторов когнитивных функций / С. О. Бачурин [и др.] // *Экспериментальная клиническая фармакология*. – 2010. – Т. 73, № 7. – С. 6–12.



102. Effects of TRH and its analogues on primary cortical neuronal cell damage induced by various excitotoxic, necrotic and apoptotic agents / D. Jantas [et al.] // *Neuropeptides*. – 2009. – V. 43, Iss. 5. – P. 371–385.
103. Novel thyrotropin-releasing hormone analogs: a patent review / K. S. Khomane, C. L. Meena, R. Jain, A. K. Bansal / *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. – 2011. – V. 21, Iss. 11. – P. 1673–1691.
104. *Boghosian J. D.* Intravenous and Intratracheal Thyrotropin Releasing Hormone and Its Analog Taltirelin Reverse Opioid-Induced Respiratory Depression in Isoflurane Anesthetized Rats / J. D. Boghosian, A. Luethy, J. F. Cotton // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2018. – V. 366, Iss. 1. – P. 105–112.
105. *Дейко Р. Д.* Експериментальне вивчення церебропротекторних та психотропних властивостей нових циклічних і лінійних олігопептидів: автореф. дис. на здобуття наукового ступеня канд. фарм. наук: 14.03.05 / Р. Д. Дейко, Національний фармацевтичний університет. – Харків, 2017. – 24 с.
106. The Oligopeptides, Homologous of ACTH<sub>15-18</sub> Sequence: Neurotrophic and Anti-inflammatory Activity on the Model of Cerebral Ischemia in Rats / R. D. Deiko [et al.] // *International Journal of Psychological and Brain Sciences*. – 2016. – V. 1, Iss. 3. – P. 62–68.
107. Нootропні властивості тетрапептиду Acetyl-(D-Lys)-Lys-Arg-Arg-Amide (KK-1) на моделі хвороби Альцгеймера у щурів, зумовленої хронічним введенням скополаміну / Р. Д. Дейко [та ін.] // *Клінічна фармація*. – 2016. – Т. 20, № 4. – С. 52–61.
108. *Островская Р. У.* Эволюция проблемы нейропротекции / Р. У. Островская // *Экспериментальная клиническая фармакология*. – 2003. – Т. 66, № 2. – С. 32–37.
109. *Евтушенко И. С.* Нootропы и нейропротекторы в современной клинической нейрофармакологии / И. С. Евтушенко // *Международный неврологический журнал*. – 2013. – № 3 (57). – URL: <http://www.mif-ua.com/archive/article/36120>.
110. *Sisalli M. J.* Novel Cellular Mechanisms for Neuroprotection in Ischemic Precondition: A View from Inside Organelles / M. J. Sisalli, L. Annunziato, A. Scorziello // *Frontiers in Neurology*. – 2015. – V. 6. – Article 115.

**Р. Д. Дейко, С. Ю. Штриголь**

### **Нейропептиди та їхнє місце в лікуванні захворювань нервової системи (частина II)**

У другій частині огляду нейропептидів та їхнього місця в лікуванні розладів нервової системи систематизовано інформацію щодо основних представників пептидергічних лікарських засобів, що використовуються в світовій медицині, та таких, які перебувають на етапі впровадження в клінічну практику. Огляд охоплює аналіз фармакологічних властивостей, основних механізмів дії та важливу сферу терапевтичного використання понад 20 препаратів пептидної природи.

Розглянуті ліки розподілено за принципом їхнього хімічного складу на дві основні групи: а) препарати комплексного пептидного складу, створені на основі тваринної сировини (наприклад, церебралізін, солкосерил, кортексин); б) монокомпонентні олігопептидні засоби (наприклад, афамеланотид, семакс, карбетоцин). Такий розподіл є зручним для опису фармакологічних властивостей нейропептидних препаратів, аналізу основних механізмів їхніх нейротропних ефектів, зокрема, нейропротекторного, а також з огляду на визначення місця відповідного пептидного препарату в фармакотерапії захворювань неврологічного профілю.

Продемонстровано вагомому роль ліків, створених на основі нейропептидів, у терапії таких станів, як гострі порушення мозкового кровообігу, нейродегенеративні захворювання, депресія, адиктивні розлади, порушення когнітивних та інших вищих психічних функцій.

Увагу приділено способам модифікації хімічної будови активних центрів регуляторних нейропептидів з метою створення на їхній основі інноваційних ліків з заданими фармакодинамічними та фармакокінетичними властивостями. Наведено основні метаболічні каскади та системи міжнейрональної комунікації, на які впливають розглянуті пептидні препарати, а також перспективні патогенетичні ланки неврологічних захворювань, що є потенційними мішенями цих ліків.

Автори сподіваються, що ця робота, присвячена огляду передових досягнень у галузі пептидергічної регуляції нервової системи, послужить меті удосконалення фармакотерапії захворювань неврологічного профілю.

*Ключові слова: нейропептиди, нервова система, патологія, лікування*

**Р. Д. Дейко, С. Ю. Штриголь**

### **Нейропептиды и их место в лечении заболеваний нервной системы (часть II)**

Во второй части обзора нейропептидов и их места в лечении нарушений нервной системы систематизирована информация об основных представителях пептидергических лекарственных средств, используемых в мировой медицине и находящихся на этапе внедрения в клиническую практику. Обзор охватывает анализ фармакологических свойств, основных механизмов действия и сферы терапевтического использования более 20 препаратов пептидной природы.

Рассмотренные лекарства распределены по принципу химического состава на две основные группы: а) препараты комплексного пептидного состава, созданные на основе животного сырья (например, церебролизин, солкосерил, кортексин); б) монокомпонентные олигопептидные средства (например, афамеланотид, семакс, карбетоксин). Такое распределение пептидных препаратов является удобным для описания фармакологических свойств этих средств, анализа механизмов их нейротропных эффектов, в частности, нейропротекторного, а также с учетом определения их места в фармакотерапии заболеваний неврологического профиля.

Продемонстрирована важная роль лекарств, созданных на основе нейропептидов, в терапии таких состояний, как острые нарушения мозгового кровообращения, нейродегенеративные заболевания, депрессия, аддитивные расстройства, нарушения когнитивных и других высших психических функций.

Внимание уделено способам модификации химического строения активных центров регуляторных нейропептидов с целью создания на их основе инновационных лекарств с заданными фармакодинамическими и фармакокинетическими свойствами. Приведены основные метаболические каскады и системы межнейрональной коммуникации, на которые влияют рассмотренные пептидные средства, а также перспективные патогенетические звенья неврологических заболеваний, являющиеся потенциальными мишенями этих лекарств.

Авторы надеются, что эта работа, посвященная обзору передовых достижений в области пептидергической регуляции нервной системы, послужит цели совершенствования фармакотерапии заболеваний неврологического профиля.

*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 II)**

In the 2<sup>nd</sup> part of the review of neuropeptides and their role in the treatment of the nervous system disorders information on the main representatives of peptidergic drugs used in world medicine and those which are at the stage of introduction into clinical practice is systematized. The review covers the analysis of pharmacological properties, the main mechanisms for the implementation of the therapeutic effect and the areas of therapeutic use of more than 20 preparations of peptide nature. The article highlights use of peptide drugs with cognitive enhancing (nootropic), anxiolytic, antidepressant, stress-protective, psychostimulant action; agents used to treat nicotine and drug addiction, alcoholism. Particular attention is paid to the mechanisms of realisation of the neuroprotective action of peptide drugs. The potential of such agents in the treatment of stroke, brain injury, Alzheimer's disease, parkinsonism and other neurodegenerative disorders was demonstrated.

The considered drugs are distributed according to the principle of chemical composition into two main groups: a) preparations of a complex peptide composition based on animal raw materials (for example, cerebrolysin, solkoseril, cortexin); b) monocomponent oligopeptide agents (for example, afamelanotide, semax, carbetocin). Distribution of the peptide drugs as given above, is usable for the describing of their pharmacological properties, analyzing of the main neurotropic effects, particularly, neuroprotective, as well as taking into account the determination of their place in the pharmacotherapy of neuropathologic diseases.

The important role of drugs created on the basis of neuropeptides in the treatment of such conditions as acute disorders of the cerebral blood circulation, neurodegenerative diseases, depression, addictive diseases, and disorders of cognitive and other higher mental functions has been demonstrated.

Attention is paid to methods of modifying of the chemical structure of the active centers of regulatory neuropeptides in order to create on their basis innovative drugs with desired pharmacodynamic and pharmacokinetic properties. The main metabolic cascades and systems of interneuronal communication, which are influenced by peptide drugs, as well as promising pathogenic links of neurological diseases, which are potential targets of the therapeutic action of these drugs, are presented.

The authors hope that this work, devoted to the review of advanced achievements in the field of peptidergic regulation of the nervous system, will serve the purpose of improving the pharmacotherapy of diseases of the neurological profile.

*Key words: neuropeptides, nervous system, pathology, therapy*

*Надійшла: 30 жовтня 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 0 99 962 13 83. Електронна пошта: roman.deyko@gmail.com

О. Г. Кметь, Н. Д. Філіпець, І. С. Давиденко

## Стан глутатіонового ланцюга антиоксидантної системи в структурах головного мозку щурів зі скополамін-індукованою нейродегенерацією після введення карбацетаму

Вищий державний навчальний заклад України  
«Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці

*Ключові слова:* скополамін-індукована нейродегенерація, головний мозок, карбацетам, антиоксидантна система

Дослідженнями останніх років показано, що ключовою ланкою патогенезу багатьох захворювань є окиснювальний стрес, який розвивається в результаті дисбалансу між прооксидантною та антиоксидантною системами. Зокрема, за нейродеструктивних захворювань розвивається складний патобіохімічний каскад як енергетичного метаболізму, так і гіперпродукції активних форм кисню, що інтенсифікує процеси вільнорадикального окиснення [1]. За умов активації процесів пероксидного окиснення ліпідів, важливе значення має стан власних механізмів протекції, зокрема, системи антиоксидантного захисту, що представлена комплексом неферментних і спеціалізованих ферментних антиоксидантів. Функціональну основу антиоксидантного захисту формує глутатіонова система, складовими елементами якої є власне глутатіон і ензими. Відомо, що саме зниження вмісту глутатіону в нервовій тканині є значущою патогенетичною ланкою нейродегенеративних захворювань, насамперед хвороби Альцгеймера (ХА) [2, 3].

Сьогодні триває пошук лікарських засобів, здатних пригнічувати розвиток нейродегенеративних процесів, у тому числі за рахунок зниження активності пероксидного окиснення ліпідів. Зважаючи на встановлені антиоксидантні властивості, заслуговує на увагу похідне  $\beta$ -карболінів, модулятор ГАМК – карбацетам, синтезований у відділі

хімії біологічно активних сполук Інституту фізико-органічної хімії та вуглехімії імені Л. М. Литвиненка НАН України під керівництвом доктора хімічних наук С. Л. Богзи [4]. Результати проведених експериментальних досліджень вказують на антигіпоксичні, антиамнестичні, анкіолітичні, антишокові та протизапальні властивості карбацетаму [5–7]. Вищевказане було передумовою нашого дослідження щодо впливу карбацетаму на стан глутатіонового ланцюга антиоксидантної системи за наявності нейродегенеративних змін у головному мозку.

*Мета дослідження* – вивчити вплив карбацетаму на стан глутатіонового ланцюга антиоксидантної системи в корі головного мозку та гіпокампі щурів зі скополамін-індукованою нейродегенерацією.

*Матеріали та методи.* Експерименти проводили на 28 нелінійних білих щурах-самцях масою 0,18–0,20 кг, яких утримували за стандартних умов віварію за температури 18–22 °C і відносної вологості 40–60 %, на збалансованому харчовому раціоні з вільним доступом до води. Дослідження виконували з дотриманням Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях (Страсбург, 1986 р.). Беручи до уваги загальне визнання холінергічної гіпотези в патогенезі нейродегенерації, дослідження проводили за умов скополамін-індукованого пошкодження головного мозку [2, 8]. Для відтворення моделі 21 щуру вводили внутрішньоочеревинно (в/оч) скополаміну гідрохлорид (Sigma, США) у

дозі 1 мг/кг у вигляді 0,01 % водного розчину (0,5 мл/100 г), один раз на добу, протягом 27 днів. Щурам контрольної групи (7 щурів) в аналогічному режимі вводили тільки фізіологічний розчин.

На 27 добу, через 60 хв після введення скополаміну, спостерігали за поведінковими реакціями щурів у тесті «відкрите поле». Функціональні зміни з боку ЦНС були виявлені в 14 щурів, яких розподілили на дві групи (по 7 щурів): I – з введенням в/оч карбацетаму в дозі 5 мг/кг у 1 мл фізіологічного розчину (14 днів); II – з введенням тільки 1 мл фізіологічного розчину (14 днів). Щурам контрольної групи також з 28 дня експерименту вводили 1 мл фізіологічного розчину. Згідно з даними [9], діапазон експериментальних доз карбацетаму становить 3–20 мг/кг. Обрану нами дозу (5 мг/кг) застосовували для вивчення нейротропних ефектів карбацетаму за інших експериментальних умов [7].

Евтаназію щурів здійснювали під легким ефірним наркозом. На холоді виїмали головний мозок, ретельно промивали охолодженим 0,9 % розчином NaCl і за стереотаксичним атласом виділяли кору головного мозку та гіпокамп. Саме ці структури головного мозку першочергово страждають за нейродегенеративних процесів, зокрема, ХА [10]. Цитоплазматичну фракцію виділяли методом диференційного центрифугування гомогенату кори та гіпокампа на рефрижераторній центрифугі (1000 g 10 хв), потім 1400 g 10 хв за температури 4 °C. Для оцінки стану антиоксидантної системи кори головного мозку та гіпокампа визначали вміст глутатіону відновленого (G-SH), сульфгідрильних (SH-) груп та активність глутатіон-редуктази (ГР) [КФ 1.6.4.2], глутатіон-пероксидази (ГП) [КФ 1.11.1.9], глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ) [КФ 1.1.1.49] за методами [11–14]. Кількість протеїну в пробах визначали за методом Лоурі [15].

Зразки головного мозку для гістологічного дослідження фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну і після стандартної гістологічної проводки тканину заливали в парафін. Парафінові

гістологічні зрізи тканин досліджували структур товщиною 5 мкм виготовляли санним мікротомом MC-2, після депарафінізації одні зрізи фарбували гематоксиліном та еозином, інші – нейтральним червоним за методикою Нісля для виявлення тигроїдної субстанції (нейтральний червоний дає такі самі результати, як і тіонін, але тигроїдна субстанція забарвлюється не в синій, а в червоний колір) [16]. Мікропрепарати вивчали в світловому мікроскопі. Цифрові копії оптичного зображення отримували за допомогою цифрового фотоапарата Olympus SP550UZ та аналізували за допомогою спеціалізованої для гістологічних досліджень комп'ютерної програми ImageJ (1.48v, вільна ліцензія, W.Rasband, National Institute of Health, USA, 2015) [17].

Статистичну обробку результатів проводили з урахуванням t-критерію Стьюдента. Попередньо проводили перевірку розподілу величин у вибірках для підтвердження адекватного методу статистичної оцінки середньої різниці між групами дослідження. Згідно з критерієм Shapiro-Wilk, не було отримано даних про відхилення розподілу у вибірках від нормального ( $p > 0,05$ ). Враховуючи вищевказане, застосування t-критерію Стьюдента вважали достатнім для отримання валідних висновків. Для підтвердження надійності висновків паралельно використовували непараметричний критерій порівняння Mann-Whitney, який показав подібні результати до обрахунків за t-критерієм Стьюдента щодо величини p. Тому достатнім рівнем вірогідності розбіжностей вважали  $p \leq 0,05$ .

**Результати та їх обговорення.** Аналіз результатів дослідження показав, що в щурів зі скополамін-індукованою нейродегенерацією знижувалась активність системи антиоксидантного захисту порівняно з контрольною групою (таблиця).

Вміст G-SH зменшувався як у корі головного мозку, так і в гіпокампі – на 63,5 і 36,8 % відповідно. Такі відмінності, найімовірніше, зумовлені посиленням використанням G-SH для інактивації в пошкоджених нейронах

досліджуваних структур головного мозку надлишку вільних радикалів і пригнічення процесу регенерації G-SH з окисненої форми [18]. Водночас виявлено зниження активності ензимів, що беруть участь у процесі антиоксидантного захисту, зокрема НАДФН-залежної ГР – на 48,6 % у корі головного мозку та на 40,0 % у гіпокампі; Г-6-ФДГ – на 22,2 % у корі головного мозку. Варто зауважити, що активність Г-6-ФДГ у гіпокампі не змінювалась, що дозволяє судження про переважне пошкодження кори головного мозку. Активність ГП, яка використовує G-SH для знешкодження пероксиду водню та інших гідропероксидів, була на 31,6 % меншою в обох структурах головного мозку щурів із нейродегенерацією, ніж у контрольної групи. Вміст SH-груп, що входять до складу глутатіону та забезпечують біохімічні реакції метаболізму й збереження функціональних характеристик мембран, також знижувався на 30,5 % у корі головного мозку та 22,4 % у гіпокампі.

Подальший аналіз результатів показав, що введення карбацетаму щурам зі скополамін-індукованою нейродегенерацією сприяло підвищенню антиоксидантного захисту в корі головного мозку та гіпокампі. Зокрема, порівнюючи дані модельної патології з показниками щурів, яким вводили карбацетам, встановлено збільшення вмісту G-SH у корі головного мозку в 2,1 разу. Після введення карбацетаму підвищувався вміст SH-груп у корі головного мозку на 46,8 %. У гіпокампі під впливом карбацетаму вміст SH-груп наближався до рівня контрольної групи. Підвищення вмісту G-SH, ймовірно, відбувається за рахунок його посиленої регенерації з окисненої форми в корі головного мозку та гіпокампі. Позитивний вплив карбацетаму характеризувався зростанням активності ГР і ГП у корі в 2,2 і 1,9 разу; у гіпокампі – у 1,9 і 1,4 разу відповідно.

У гістологічних препаратах контрольної групи щурів нейронів з ознаками каріопікнозу не виявлено (рис. 1а, 1б).

Таблиця

*Показники системи глутатіону в цитозольній фракції структур головного мозку щурів зі скополамін-індукованою нейродегенерацією та за впливу карбацетаму ( $M \pm m$ ,  $n = 7$ )*

| Показник                                                         | Структури головного мозку | Контроль           | Модель нейродегенерації | Модель нейродегенерації + карбацетам |
|------------------------------------------------------------------|---------------------------|--------------------|-------------------------|--------------------------------------|
| Вміст глутатіону відновленого, мкмоль/г тканини                  | Кора головного мозку      | $7,37 \pm 0,60$    | $2,70 \pm 0,34^*$       | $5,66 \pm 0,34^{*,**}$               |
|                                                                  | Гіпокамп                  | $6,84 \pm 1,02$    | $4,25 \pm 0,59^*$       | $5,82 \pm 0,45$                      |
| Активність глутатіонпероксидази, нмоль GSSG/хв • мг протеїну     | Кора головного мозку      | $143,17 \pm 13,99$ | $99,59 \pm 7,25^*$      | $135,33 \pm 11,47^{**}$              |
|                                                                  | Гіпокамп                  | $131,45 \pm 15,55$ | $88,28 \pm 10,93^*$     | $121,28 \pm 8,16^{**}$               |
| Активність глутатіонредуктази, нмоль NADPH / хв • мг протеїну)   | Кора головного мозку      | $3,71 \pm 0,49$    | $1,99 \pm 0,40^*$       | $4,28 \pm 0,37^{**}$                 |
|                                                                  | Гіпокамп                  | $3,46 \pm 0,46$    | $2,06 \pm 0,44^*$       | $3,96 \pm 0,47^{**}$                 |
| Активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, нмоль/хв • мг протеїну | Кора головного мозку      | $6,29 \pm 0,11$    | $4,94 \pm 0,48^*$       | $6,30 \pm 0,50$                      |
|                                                                  | Гіпокамп                  | $4,83 \pm 0,37$    | $3,48 \pm 0,50$         | $4,54 \pm 0,12$                      |
| Вміст сульфгідрильних груп, нмоль/мг протеїну                    | Кора головного мозку      | $72,81 \pm 2,36$   | $50,55 \pm 2,91^*$      | $74,27 \pm 6,47^{**}$                |
|                                                                  | Гіпокамп                  | $70,58 \pm 3,80$   | $54,83 \pm 3,10^*$      | $67,51 \pm 5,07$                     |

Примітка.  $^*P \leq 0,05$  порівняно з контрольною групою,  $^{**}P \leq 0,05$  порівняно з моделлю нейродегенерації.



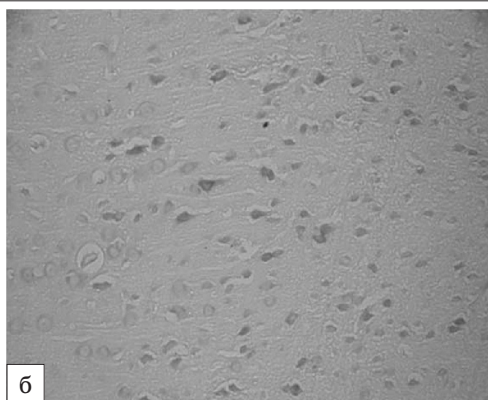
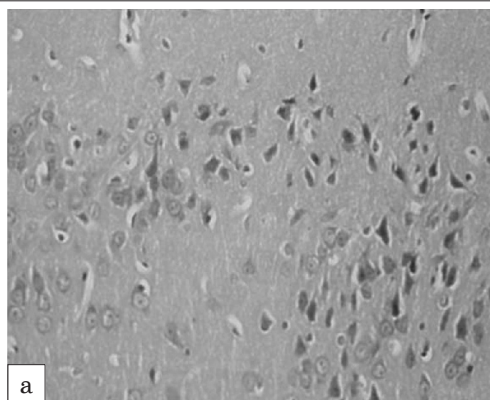


Рис. 1. Кора головного мозку щура контрольної групи ( $\times 200$ ): а – гематоксилін-еозин, б – нейтральний червоний за Ніслем

На тлі скополамін-індукованої нейродегенерації порівняно з контрольними тваринами відмічено нейрони з ознаками каріопікнозу (у  $(6,90 \pm 0,18) \%$ ). Також мало місце зменшення відносної густини забарвлення тигроїдної субстанції нейронів у корі головного мозку в середньому на 50 % (рис. 2а, 2б). Після введення карбацетама кількість клітин з

каріопікнозом зменшилася приблизно наполовину та збільшилася відносна густина забарвлення тигроїдної субстанції нейронів на 39,3 % (рис. 3а, 3б).

Таким чином, проведеними експериментальними дослідженнями встановлено, що карбацетам підвищує активність антиоксидантної системи головного мозку за умов моделювання

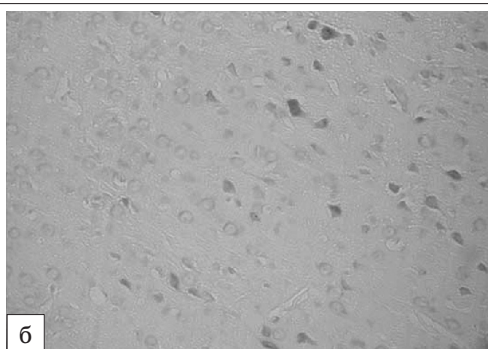
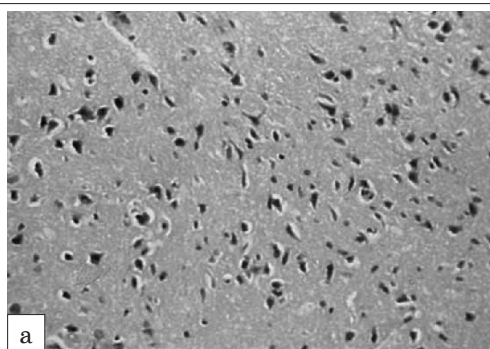


Рис. 2. Кора головного мозку щура зі скополамін-індукованою нейродегенерацією ( $\times 200$ ): а – гематоксилін-еозин, б – нейтральний червоний за Ніслем

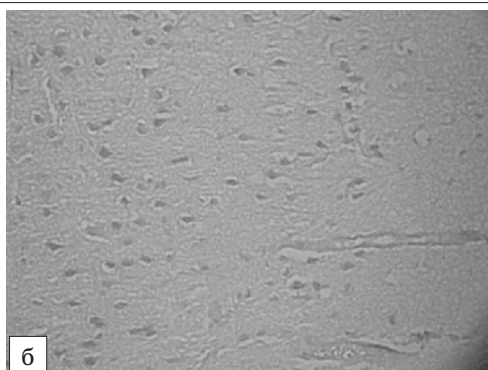
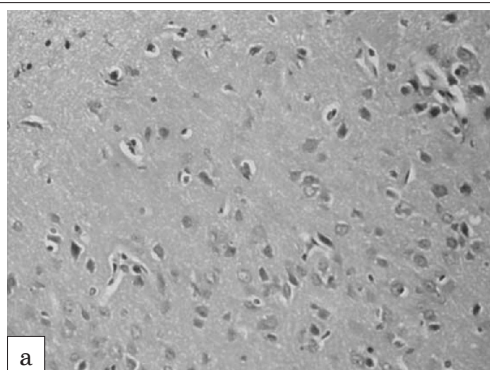


Рис. 3. Кора головного мозку щура зі скополамін-індукованою нейродегенерацією за умов введення карбацетама ( $\times 200$ ): а – гематоксилін-еозин, б – нейтральний червоний за Ніслем

скополамін-індукованої нейродегенерації в щурів. Посилення антиоксидантного захисту, швидше за все, зумовлене модулюючим впливом карбацетаму на ГАМК-рецептори [19]. Відомо, що модулятори ГАМК попереджають руйнівну дію продуктів ліпопероксидації, сприяють нормалізації якісного та кількісного складу фосфоліпідів, тим самим здійснюють протекторний вплив на мембранні структури нервової клітини [20]. Карбацетам за рахунок посилення афінності нейроцитів до ГАМК-бензодіазепін-рецепторного комплексу зменшує гіперзбудливість глутаматних рецепторів і, відповідно, глутаматну ексайтотоксичність [19]. Результатом є зниження активності NO-синтази, зменшення продукції оксиду азоту, що є важливою складовою біологічної регуляторної та захисної дії [21], водночас збільшується вміст відновленого глутатіону та активність його ензимів. Як наслідок – підвищується функціональна стійкість нейронів, що підтверджується позитивною структурною перебудовою кори головного мозку щурів.

## Висновки

1. За умов моделювання скополамін-індукованої нейродегенерації в корі головного мозку та гіпокампі щурів знижується вміст глутатіону відновленого, SH-груп, активність глутатіон-редуктази, глутатіонпероксидази, що

засвідчує послаблення антиоксидантної системи. Зменшення активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в корі головного мозку вказує на більшу чутливість даної структури до холінонегативних впливів.

2. Морфологічна картина кори головного мозку щурів з модельною патологією характеризується збільшенням кількості клітин з каріопікнозом і зменшенням відносної густини забарвлення тигроїдної субстанції нейронів, що засвідчує розвиток дегенеративних змін після введення скополаміну.
3. Після введення карбацетаму в корі головного мозку та гіпокампі щурів зі скополамін-індукованим пошкодженням збільшується вміст глутатіону відновленого та SH-груп, активність глутатіон-залежних ензимів, а також – глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в корі головного мозку, що супроводжується зменшенням кількості клітин з каріопікнозом і збільшенням відносної густини забарвлення тигроїдної субстанції нейронів.
4. Покращання стану глутатіонового ланцюга антиоксидантного захисту в корі головного мозку та гіпокампі, а також позитивні зміни морфологічної картини кори головного мозку вказують на здатність карбацетаму пригнічувати холінергічну ланку патогенетичних механізмів нейродегенеративних процесів у центральній нервовій системі.

1. The Role of Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases / G. H. Kim, J. E. Kim, S. J. Rhie, S. Yoon // *Exp. Neurobiol.* – 2015. – V. 4, № 24. – P. 325–340. doi: 10.5607/en.2015.24.4.325
2. Glutathione transferases and neurodegenerative diseases / A. P. Mazzetti, M. C. Fiorile, A. Primavera, M. Lo Bello // *Neurochem Int.* – 2015. – № 82. – P. 10–18. doi: 10.1016/j.neuint.2015.01.008.
3. Тиол-дисульфидное равновесие – определяющий фактор резистентности нейронов к нитрозирующему стрессу в условиях ишемии мозга / Ю. М. Колесник, И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев [и др.] // *Журнал НАМН України.* – 2013. – Т. 19, № 1. – С. 3–11.
4. Богза С. Л. Новые гетероциклические системы для новых лекарств / С. Л. Богза // *Nauka innov.* – 2015. – Т. 11, № 6. – С. 85–93. doi: <http://dx.doi.org/10.15407/scin11.06.085>.
5. Козак Д. В. Вплив карбацетаму на антиоксидантно-прооксидантний баланс тканини серця, легень і печінки в динаміці політравми / Д. В. Козак // *Шпитальна хірургія.* – 2014. – № 1. – С. 40–42.
6. Kibaly A. V. New high-effective neuroprotector – carbacetam. / A. V. Kibaly, V. I. Dulenko, K. M. Khabarov // *Drugs of the future. Brussel.* – 2010. – Suppl. A, 35. – P. 198.
7. Зябліцев С. В. Вплив карбацетаму на процеси нейродеструкції в гіпокампі при експериментальній черепномозковій травмі / С. В. Зябліцев, О. О. Стародубська, О. О. Дядик // *Morphologia.* – 2017. – Т. 11, № 2. – С. 12–18. [http://www.morphology.dp.ua/\\_pub/MORPHO-2017-11-02/17zsvcmr.pdf](http://www.morphology.dp.ua/_pub/MORPHO-2017-11-02/17zsvcmr.pdf).
8. Хронічна блокада центральних мускаринових рецепторів у щурів відтворює первинні патогенетичні ланки хвороби Альцгеймера / Р. Д. Дейко, С. Ю. Штриголь, Ю. Б. Лар'яновська [та ін.] // *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник ВДНЗУ «Українська стоматологічна академія».* – 2017. – Т. 17, Вип. 3. – С. 13–25. <http://dspace.nuph.edu.ua/handle/123456789/14338>.

9. Журавський А. В. Церебропротекторні властивості адамантилвмісних діамінів: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 14.03.05 «Фармакологія» / Журавський Андрій Володимирович; ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України». – Київ, 2007. – 19 с.
10. Hippocampal Neurodegenerative Pathology in Post-stroke Dementia Compared to Other Dementias and Aging Controls / R. O. Akinyemi, L. M. Allan, A. Oakley, R. N. Kalaria // *Front Neurosci.* – 2017. – № 11. – P. 717. doi:10.3389/fnins.2017.00717.
11. Прохорова М. И. Методы биохимических исследований / М. И. Прохорова. – Ленинград : Изд-во ЛГУ, 1982. – 168 с.
12. Северин С. Е. Практикум по биохимии / С. Е. Северин, Г. А. Соловьева. – Москва : МГУ, 1989. – 509 с.
13. Власова С. Н. Активность глутатионзависимых ферментов эритроцитов при хронических заболеваниях печени у детей / С. Н. Власова, Е. И. Шабунина, А. И. Переслегина // *Лабораторное дело.* – 1990. – № 8. – С. 19–21.
14. Захарьин Ю. Л. Метод определения активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы / Ю. Л. Захарьин // *Лабораторное дело.* – 1967. – № 6. – С. 327–330.
15. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. G. Rosebrough, A. L. Farr, R. C. Randall // *J. Biol. Chem.* – 1951. – V. 193, № 1. – P. 265–275.
16. Venerucci F. Histopathology kits: methods and applications / F. Venerucci. – Bologna, Milan: Bio-Optica, 2016. – 98 p.
17. Ferreira T. Image J. User Guide / T. Ferreira, W. Rasband. – New York : National Institute of Health, 2012. – 187 p.
18. Демченко А. В. Стан глутатіонового ланцюга тіол-дисульфідної системи мозку білих щурів після корекції цитиколіном моделюваної хронічної ішемії / А. В. Демченко, І. Ф. Бєленічев // *Фармакологія та лікарська токсикологія.* – 2015. – № 3 (44). – С. 28–34.
19. Хайтович М. В. ГАМК-ергічна нейропротекція: клінічне застосування / М. В. Хайтович // *Ліки України.* – 2016. – № 1–2 (197–198). – С. 22–26.
20. Зябліцев С. В. Вплив карбацетаму на когнітивні порушення при експериментальній черепно-мозковій травмі, можлива роль вазопресину / С. В. Зябліцев, О. О. Стародубська, С. Л. Богза // *Травма.* – 2017. – Т. 18, № 2. – С. 53–58. DOI: 10.22141/1608-1706.2.18.2017.102559.
21. Nitric Oxide and the Cell: Proliferation, Differentiation, and Death / S. Moncada, G. Nisticò, G. Bagetta, E. A. Higgs. – Princeton : Princeton University Press, 2017. – 328 p.

**О. Г. Кметь, Н. Д. Філіпець, І. С. Давиденко**

### **Стан глутатіонового ланцюга антиоксидантної системи в структурах головного мозку щурів зі скополамін-індукованою нейродегенерацією після введення карбацетаму**

Однією з найважливіших медико-соціальних проблем сьогодення є пошук нових патогенетичних напрямів медикаментозної профілактики та лікування нейродегенеративних захворювань центральної нервової системи.

*Мета дослідження* – вивчити вплив модулятора ГАМК карбацетаму на стан глутатіонового ланцюга антиоксидантної системи в корі головного мозку та гіпокампі щурів зі скополамін-індукованою нейродегенерацією.

У щурів самців зі скополамін-індукованою нейродегенерацією (1 мг/кг, 27 днів) після введення карбацетаму (5 мг/кг, 14 днів) у корі головного мозку збільшувався вміст глутатіону відновленого в 2,1 разу та сульфгідрильних груп – на 46,8 % порівняно з групою модельної патології. Під впливом карбацетаму вміст сульфгідрильних груп у гіпокампі наближався до рівня контролю. Водночас у корі головного мозку та гіпокампі зростала активність глутатіонредуктази в 2,2 і 1,9 разу, глутатіонпероксидази – на 35,8 % і 37,4 % відповідно. Структурні зміни кори головного мозку після введення карбацетаму характеризувались зменшенням кількості клітин з каріопікнозом і збільшенням відносної густини забарвлення тигроїдної субстанції нейронів.

Отже, карбацетам покращує показники глутатіонового ланцюга антиоксидантної системи в корі головного мозку та гіпокампі, а також – морфологічний стан нейронів кори головного мозку, що вказує на його нейропротекторну активність за умов скополамін-індукованого пошкодження й розвитку нейродегенеративних процесів у щурів.

*Ключові слова:* скополамін-індукована нейродегенерація, головний мозок, карбацетам, антиоксидантна система

**О. Г. Кметь, Н. Д. Филипец, И. С. Давыденко**

### **Состояние глутатионового звена антиоксидантной системы в структурах головного мозга крыс со скополамин-индуцированной нейродегенерацией после введения карбацетама**

Одной из важнейших медико-социальных проблем современности является поиск новых патогенетических направлений медикаментозной профилактики и лечения нейродегенеративных заболеваний центральной нервной системы.

---

*Цель исследования* – изучить влияние модулятора ГАМК карбацетама на состояние глутатионного звена антиоксидантной системы в коре головного мозга и гиппокампе крыс со скополамин-индуцированной нейродегенерацией.

На модели скополамин-индуцированной (1 мг/кг, 27 суток) нейродегенерации у крыс-самцов исследовано влияние карбацетама (5 мг/кг, 14 дней) на состояние антиоксидантной системы по содержанию в коре головного мозга и гиппокампе глутатиона восстановленного и сульфгидрильных групп; активности глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и изменения морфологической картины коры головного мозга.

У крыс самцов со скополамин-индуцированной нейродегенерацией после введения карбацетама в коре головного мозга увеличивалось содержание глутатиона восстановленного в 2,1 раза и сульфгидрильных групп – на 46,8 % по сравнению с группой модельной патологии. Под влиянием карбацетама содержание сульфгидрильных групп в гиппокампе приближалось к уровню контроля. В то же время в коре головного мозга и гиппокампе возрастала активность глутатионредуктазы в 2,2 и 1,9 раза, глутатионпероксидазы – на 35,8 и 37,4 % соответственно. Структурные изменения в коре головного мозга после введения карбацетама характеризовались уменьшением количества клеток с кариопикнозом и увеличением относительной плотности окраски тигроидной субстанции нейронов.

Итак, карбацетам улучшает показатели глутатионного звена антиоксидантной системы в коре головного мозга и гиппокампе, а также морфологическое состояние нейронов коры головного мозга, что указывает на его нейропротекторную активность в условиях скополамин-индуцированного повреждения и развития нейродегенеративных процессов у крыс.

*Ключевые слова:* скополамин-индуцированная нейродегенерация, головной мозг, карбацетам, антиоксидантная система

**O. G. Kmet, N. D. Filipets, I. S. Davydenko**

### **The state of glutathione chain of antioxidant system in rats brain structures under scopolamine-induced neurodegeneration and carbacetam administration**

One of the most important medical-social issues today is the search of new pathogenic directions of medical prevention and treatment of neurodegenerative diseases of the central nervous system.

*The aim of the study* was to investigate carbacetam effect on the glutathione chain state of the antioxidant system in the rat's cerebral cortex and hippocampus under scopolamine-induced neurodegeneration.

Carbacetam effect (5 mg/kg, 14 days) on the antioxidant system was examined on the model of scopolamine-induced neurodegeneration (1 mg/kg, 27 days) by the content of reduced glutathione and sulfhydryl groups; activity of glutathione reductase, glutathione peroxidase, glucose-6-phosphate dehydrogenase in the cerebral cortex and hippocampus, and by the changes of morphological signs in the cerebral cortex.

Carbacetam administration to rats with scopolamine-induced neurodegeneration led to increase the content of reduced glutathione in the cerebral cortex by 2,1 times, and sulfhydryl groups at 46,8 % in comparison with control pathology group. Under carbacetam effect the concentration of sulfhydryl groups in the hippocampus was close to the control group. At the same time, glutathione reductase activity in the cerebral cortex and hippocampus increased respectively, in 2,2 and 1,9 times and glutathione peroxidase – at 35,8 % and 37,4 %. Structural changes of the cerebral cortex after carbacetam administration were characterized by decreased number of cells with karyopyknosis and increased relative density of neuron tigris substance staining.

Thus, carbacetam improves the indices of glutathione antioxidant system in the cerebral cortex and hippocampus, as well as morphological state of the cerebral cortex neurocytes, which is indicative of its neuroprotective ability under conditions of scopolamine-induced damage and development of neurodegenerative processes in rats.

*Key words:* scopolamine-induced neurodegeneration, brain, carbacetam, antioxidant system

---

Надійшла: 30 жовтня 2018 р.

**Контактна особа:** Кметь Ольга Дмитрівна, кандидат медичних наук, доцент, кафедра фармакології, ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», буд. 2, Театральна площа, м. Чернівці, 58005. Тел.: + 38 0 372 55 37 54. Електронна пошта: kmet.olga@bsmu.edu.ua



И. Ф. Беленичев, Ю. В. Била

## **Антиоксидантные свойства модуляторов HSP70 в условиях церебральной ишемии**

Запорожский государственный медицинский университет

*Ключевые слова: HSP 70, церебральная ишемия, эндогенная нейтропротекция, тамоксифен, мелатонин, глутамин, HSF-1, оксидативный стресс*

Проблема мозговых инсультов в Украине продолжает оставаться достаточно актуальной. Это обусловлено высоким уровнем летальности и инвалидизации населения, перенесшего инсульт [1, 2].

Известно, что в основе механизмов повреждения нейронов в условиях гипоксии лежит оксидативный стресс, индуцируемый «глутаматной эксайтотоксичностью» и гиперпродукцией NO на фоне снижения функциональной активности антиоксидантной системы (АО-системы). Гиперпродукция активных форм кислорода (АФК) провоцирует стремительное снижение когнитивно-мнестических функций ЦНС и инициирует апоптоз [3, 4].

В настоящее время рассматривается роль эндогенной нейтропротекции и ее интермедиата – HSP70 в регуляции антиоксидантной системы нейрона. Одной из первичных реакций организма на повреждение различного генеза является индукция белков теплового шока HSP70 [5]. Нашими предыдущими работами установлена тесная взаимосвязь между HSP70, антиоксидантом глутатионом и выраженностью неврологического дефицита при экспериментальной ишемии мозга [6]. Также нами определена нейтропротективная эффективность модуляторов активности HSP70: тамоксифена, мелатонина, фактор теплового шока HSF-1 и глутамина [7]. Особый интерес представляет HSP-зависимая модуляция АО-системы в условиях ишемии.

*Цель исследования* – изучить влияние модуляторов HSP70: тамоксифена,

мелатонина, HSF-1 и глутамина на показатели оксидативного стресса и активность антиоксидантной системы в головном мозге при моделировании церебральной ишемии.

**Материалы и методы.** Экспериментальная часть выполнена на 148 крысах линии Вистар, которых содержали в условиях вивария при природном освещении и на стандартном рационе питания. Экспериментальные исследования проводили в соответствии с основными положениями Конвенции Совета Европы об охране позвоночных животных, которые используются в экспериментах и других научных целях (Страсбург, 1986 г.), и др. [8, 9].

Острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) по типу ишемического инсульта моделировали путем двухсторонней необратимой окклюзии общих сонных артерий под тиопентал натриевым наркозом (40 мг/кг) [10]. Животные были разделены на VII групп путем рандомизации: I – ложнооперированные (ЛО, n = 10); II – животные с ОНМК (n = 10); III – ОНМК + тамоксифен (ООО «Фармацевтическая компания «Здоровье», Украина), 1 мг/кг [11], (n = 10); IV – ОНМК + мелатонин (АО «Киевский витаминный завод», Украина), 5 мг/кг [12], (n = 10); V – ОНМК + фактор теплового шока (HSF-1) (Sigma, США), 200 мкл/кг, (n = 10); VI – ОНМК + глутамин (Sigma, США), 25 мг/кг [13], (n = 10); VII – ОНМК + пирацетам (ПАО «Борщаговский химико-фармацевтический завод», Украина), 500 мг/кг [14], (n = 10).

На 4 сутки животных выводили из эксперимента под тиопенталовым наркозом (40 мг/кг). Использовали участки головного мозга, находящиеся в области сенсомоторной зоны коры, которые гомогенизировали при помощи гомогенизатора Silent Crusher S (Heidolph) в



сахарозном буфере (250 ммоль/л, ЭДТА 1 ммоль/л, pH 7,4)  $t = 40^\circ\text{C}$ . Последующим дифференциальным центрифугированием на рефрижераторной центрифуге «Sigma 3-30k» (Германия) при 14000 g,  $t = 40^\circ\text{C}$  выделяли цитозольную и митохондриальную фракцию. [10]

Выраженность нитрозативного стресса определяли в цитозольной фракции мозга по маркеру нитротирозина, используя иммуоферментный набор фирмы Nycultbiotech (Нидерланды).

Степень повреждения белков устанавливали в цитозольной фракции в реакции окислительной модификации белка (ОМБ) по уровню альдегидфенилгидразонов (АФГ) и кетонфенилгидразонов (КФГ) в соответствии с методом В. Halliwell [15]. Активность супероксиддисмутазы (СОД) в цитозольной фракции определяли путем реакции конкурентирования фермента с нитросиним тетразолием за супероксидрадикал [16]. Уровень белка теплового шока HSP70 определяли в цитозольной и митохондриальной фракции мозга методом иммуоферментного анализа, используя набор Enzo (Швеция). Концентрацию общего белка в исследуемых образцах определяли по методу Лоури [17].

Результаты обработаны с применением статистического пакета лицензионной программы «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoftInc.), «Microsoft Excel 2010». Данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартной ошибки ( $M \pm SEM$ ). Достоверность различий ( $p$ ) экспериментальных данных рассчитывали с использованием  $t$ -критерия Стьюдента при параметрическом распределении, или по  $U$ -критерию Манна-Уитни при непараметрических значениях. Различия считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Острая церебральная ишемия приводит к запуску каскада нейродеструктивных повреждений, ключевым звеном которого является образование АФК (супероксид-радикала, NO-радикала, гидроксил-радикала и др.). Избыточное количество АФК окисляет SH-,  $\text{NH}_2$ -группы

макромолекул, дестабилизирует антиоксидантную активность ферментов, активизирует факторы транскрипции NF- $\kappa$ B, APO-1, повышает активность iNOS и уровень провоспалительных цитокинов, запуская процессы некроза и апоптоза [3]. Наши данные подтверждают наличие ишемического повреждения у экспериментальных животных. Так, уровень нитротирозина в группе контроля повышался на 553,5 %, уровень АФГ и КФГ был выше на 84,7–92,4 % и 108,7–110,5 % относительно ЛО группы (табл. 1). При этом активность СОД группы контроля была снижена на 52,3 % (табл. 2). Полученные данные свидетельствуют о тотальном падении активности антиоксидантной защиты нейронов, накоплении продуктов свободнорадикального окисления и неспособности механизмов эндогенной нейропротекции прервать нейродеструктивный каскад. Подтверждением этого является снижение концентрации HSP70 в цитозоле и митохондриальной фракции в 9,7 и 3,2 раза по сравнению с ЛО (табл. 3).

Введение исследуемых препаратов в различной степени способствовало нормализации активности антиоксидантной системы и уменьшало выраженность оксидативного и нитротирозирующего стресса. Так, в цитозольной фракции мозга животных, получавших мелатонин, наблюдали снижение уровня нитротирозина на 66,4 %, уровень АФГ и КФГ был ниже на 32,5–35,5 % и 34,8–37,9 % по сравнению с показателями контрольной группы (табл. 1). В то же время активность СОД в цитозоле повышалась на 84,7 % (табл. 2), а уровень HSP70 в цитозоле и митохондриальной фракции повышался в 2,6 и 1,2 раза по сравнению с контролем (табл. 3).

Такое действие мелатонина объясняется, во-первых, его химической структурой. Индольное кольцо мелатонина является донором электронов, что уменьшает количество реакционноспособных акцепторных радикалов, в первую очередь, гидроксил радикала [18]. Таким образом, мелатонин выполняет функцию «ловушки» свободных радикалов в условиях оксидативного стресса.

Таблица 1

*Уровень маркеров оксидативного и нитрозирующего стресса в коре головного мозга крыс на 4 сутки церебральной ишемии и на фоне фармакологической коррекции ( $M \pm m$ )*

| Группа животных<br>(n = 10)                                        | АФГ<br>спонт.<br>у.е./г<br>белка | КФГ<br>спонт.<br>у.е./г<br>белка | АФГ<br>стим.<br>у.е./г<br>белка | КФГ<br>стим.<br>у.е./г<br>белка | Нитро-<br>розин,<br>нмоль/г<br>белка |
|--------------------------------------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|
| Ложнооперированные животные (ЛО)                                   | 9,57 ± 0,68                      | 6,37 ± 0,53                      | 13,76 ± 1,01                    | 10,69 ± 0,90                    | 10,19 ± 0,80                         |
| Животные с острым нарушением мозгового кровообращения (контроль)   | 18,41 ± 1,36*                    | 13,41 ± 0,95*                    | 25,42 ± 1,59*                   | 22,31 ± 1,5*                    | 66,59 ± 13,1*                        |
| Животные с острым нарушением мозгового кровообращения + тамоксифен | 12,37 ± 0,55**                   | 8,68 ± 0,41**                    | 17,99 ± 0,86**                  | 14,19 ± 1,01**                  | 20,39 ± 0,96**                       |
| Животные с острым нарушением мозгового кровообращения + мелатонин  | 11,88 ± 0,69**                   | 8,75 ± 0,63**                    | 17,17 ± 1,26**                  | 13,86 ± 1,11*                   | 22,40 ± 1,91**                       |
| Животные с острым нарушением мозгового кровообращения + HSF-1      | 12,89 ± 0,70**                   | 9,57 ± 0,64**                    | 19,71 ± 1,28**                  | 15,77 ± 1,19**                  | 20,04 ± 1,77**                       |
| Животные с острым нарушением мозгового кровообращения + глутамин   | 13,19 ± 0,88**                   | 9,54 ± 0,90**                    | 18,92 ± 1,02**                  | 15,47 ± 0,95**                  | 26,63 ± 2,47**                       |
| Животные с острым нарушением мозгового кровообращения + пирацетам  | 12,71 ± 0,72**                   | 8,64 ± 0,90**                    | 18,79 ± 1,49**                  | 14,12 ± 1,13**                  | 24,46 ± 2,13**                       |

Примечание. Здесь и в табл. 2–3: \* $p \leq 0,05$  по сравнению с ЛО; \*\* $p \leq 0,05$  по сравнению с контролем.

са. Во-вторых, мелатонин увеличивает активность СОД, что обусловлено его способностью повышать транслокацию ядерного фактора Nrf2 в ядро, который связывается с ДНК-промотором и инициирует транскрипцию антиоксидативных генов и их белков (в том числе СОД) [19, 20]. Также мелатонин непосредственно повышает уровень HSP70 и экспрессию мРНК HSP70 за счет активации системы мелатониновых цитоплазматических и ядерных рецепторов [19, 21].

Введение тамоксифена животным с церебральной ишемией приводило к уменьшению уровня АФГ, КФГ и нитротирозина на 29,2–32,8 %, 35,3–36,4 % и 69,4 % соответственно по сравнению с контрольной группой (табл. 1). При этом активность СОД повышалась на 50,2 % (табл. 2), а уровень HSP70 в цитозоле и митохондриальной фракции повышался в 5,1 и 1,5 раза (табл. 3). Взаимодействие тамоксифена с эстроге-

новыми рецепторами (ER) приводит к отсоединению от последних инактивированных молекул HSP70 [11]. Белок-шаперон нормализует редокс статус нейронов путем восстановления ферментативной активности антиоксидантных систем [22]. Также нами установлено прямое влияние тамоксифена на экспрессию мРНК HSP70 [21].

Введение HSF-1 при ОНМК приводило к снижению уровня нитротирозина на 69,9 %, уровень АФГ и КФГ был ниже на 22,5–30,0 % и 28,7–29,3 % по сравнению с контрольной группой (табл. 1). В то же время, активность СОД повышалась на 49,6 % (табл. 2), а уровень HSP70 в цитозоле и митохондриальной фракции повышался в 11,3 и 2,6 раза (табл. 3). Известно, что HSF-1 является транскрипционным фактором HSP70. При попадании HSF-1 в клетку происходит его тримеризация с последующим поступлением в ядро, где он взаимодействует с элементами транскрипции

Таблица 2

*Активность супероксиддисмутазы в коре головного мозга крыс на 4 сутки церебральной ишемии и на фоне фармакологической коррекции ( $M \pm m$ )*

| Группа животных, n = 10                                            | СОД, у.е./ (мг белка • мин) |
|--------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| Ложнооперированные животные (ЛО)                                   | 135,92 ± 12,20              |
| Животные с острым нарушением мозгового кровообращения (контроль)   | 64,83 ± 5,29*               |
| Животные с острым нарушением мозгового кровообращения + тамоксифен | 97,40 ± 8,22**              |
| Животные с острым нарушением мозгового кровообращения + мелатонин  | 119,72 ± 9,18**             |
| Животные с острым нарушением мозгового кровообращения + HSF-1      | 96,98 ± 8,49**              |
| Животные с острым нарушением мозгового кровообращения + глутамин   | 91,91 ± 6,56**              |
| Животные с острым нарушением мозгового кровообращения + пирарцетам | 100,20 ± 8,18**             |

Таблица 3

*Концентрация белка HSP70 в цитозольной и митохондриальной фракциях головного мозга крыс на 4 сутки церебральной ишемии и на фоне фармакологической коррекции ( $M \pm m$ )*

| Группа животных, n = 10                                            | HSP70, цитозольная фракция, нг/мл | HSP70, митохондриальная фракция, нг/мл |
|--------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------------|
| Ложнооперированные животные (ЛО)                                   | 16,83 ± 0,64                      | 8,60 ± 0,58                            |
| Животные с острым нарушением мозгового кровообращения (контроль)   | 1,73 ± 0,11*                      | 2,72 ± 0,19*                           |
| Животные с острым нарушением мозгового кровообращения + тамоксифен | 8,81 ± 0,51**                     | 4,15 ± 0,20**                          |
| Животные с острым нарушением мозгового кровообращения + мелатонин  | 4,55 ± 0,27**                     | 3,30 ± 0,19**                          |
| Животные с острым нарушением мозгового кровообращения + HSF-1      | 19,50 ± 1,05**                    | 7,08 ± 0,23**                          |
| Животные с острым нарушением мозгового кровообращения + глутамин   | 2,61 ± 0,16**                     | 3,01 ± 0,17**                          |
| Животные с острым нарушением мозгового кровообращения + пирарцетам | 2,24 ± 0,17**                     | 2,80 ± 0,19                            |

и запускает процесс экспрессии генов HSP70 [21, 23]. Высокий уровень HSP70 оказывает цитопротекторное действие за счет шаперонной функции, а также предупреждает процесс апоптоза зоны пенумбры.

На фоне введения глутамина наблюдали снижение уровня нитротирозина на 60 %, уровень АФГ и КФГ был ниже на 25,6–28,4 % и 28,9–30,7 % соответственно относительно контроля (табл. 1), активность СОД повышалась на 41,8 % (табл. 2), а уровень HSP70 в цитозоле и митохондриальной фракции повышался

в 1,5 и 1,1 раза (табл. 3). Поскольку глутамин является предшественником неферментативного звена тиол-дисульфидной системы – глутатиона, препарат стабилизирует редокс статус ишемизированных клеток, восстанавливает транскрипционную функцию ядра и снижает степень повреждения белковых структур [13, 24]. Прямое влияние на уровень HSP70 у глутамина менее выражено по сравнению с предыдущими препаратами.

Референс-препарат пирарцетам также оказывал достоверное влияние на выра-

женность оксидативного стресса и понижал уровень АФГ, КФГ и нитротирозина на 26,1–31,0 %, 35,6–36,7 % и 63,3 % соответственно по сравнению с контролем (табл. 1). Активность СОД на фоне введения пираретама повышалась на 54,6 % (табл. 2), при этом уровень HSP70 достоверно повышался только в цитозольной фракции мозга в 1,3 раза по сравнению с контрольной группой (табл. 3).

## Выводы

1. Моделирование ОНМК приводит к активации оксидативного стресса на фоне снижения активности АО-системы и уменьшения уровня HSP70. У экспериментальных животных с ОНМК наблюдается повышение уровня нитротирозина в цитозоле на 553,5 %, уровня АФГ и КФГ на 84,7–92,4 % и 108,7–110,5 %, снижение активности СОД в цитозоле на 52,3 % и уменьшение уровня HSP70 в цитозоле и митохондриальной фракции в 9,7 и 3,2 раза по сравнению с группой ЛО ( $p \leq 0,05$ ), что свидетельствует о срыве механизмов эндогенной нейропротекции и повреждении нейронов.
2. Введение мелатонина (5 мг/кг), тамоксифена (1 мг/кг), HSF-1 (200 мкл/кг) и глутамина (25 мг/кг) животным с ОНМК уменьшает выраженность оксидативного стресса, что подтверждается снижением уровня нитротирозина на 66,4; 69,4; 69,9 и 60,1 % ( $p \leq 0,05$ ), а также уменьшением содержания маркеров окисли-

тельной модификации белка АФГ/КФГ на 32,5–35,5 %/34,8–37,9 %; 29,2–32,8 %/35,3–36,4 %; 22,5–30,0 %/28,7–29,3 % и 25,6–28,4 %/28,9–30,7 % соответственно по сравнению с контролем ( $p \leq 0,05$ ).

3. Введение модуляторов HSP70-системы повышало активность СОД, наиболее выраженное действие на активность СОД оказывало введение мелатонина, активность фермента повышалась на 84,7 % по сравнению с контролем ( $p \leq 0,05$ ).
4. Введение HSF-1 (200 мкл/кг), тамоксифена (1 мг/кг), мелатонина (5 мг/кг) и глутамина (25 мг/кг) повышало уровень белка теплового шока HSP70 в 11,3 раза, 5,1 раза, 2,6 раза и 1,5 раза в цитозольной фракции, также концентрация белка-шаперона повышалась в митохондриальной фракции мозга в 2,6; 1,5; 1,2 и 1,1 раза соответственно по сравнению с контрольной группой ( $p \leq 0,05$ ), что свидетельствует о способности изучаемых препаратов модулировать HSP70-опосредованные механизмы эндогенной нейропротекции.
5. Данные экспериментального исследования подтверждают наличие у тамоксифена, мелатонина, HSF-1 и глутамина HSP70-зависимых механизмов регуляции эндогенной нейропротекции и обосновывают их применение в качестве нейропротекторных средств в лечении ОНМК.

1. Мищенко Т. С. Эпидемиология цереброваскулярных заболеваний и организация помощи больным с мозговым инсультом в Украине / Т. С. Мищенко // Український вісник психоневрології. – 2017. – Т. 25, № 1. – С. 22–24.
2. Зозуля А. І. Основні завдання покращання надання медичної допомоги при церебральному інсульті / А. І. Зозуля, І. С. Зозуля // Український медичний часопис. – 2014. – Т. 102, № 4. – С. 114–118.
3. Нейропротекция и нейропластичность / И. Ф. Беленичев, В. И. Черный, Е. А. Нагорная [и др.]. – Киев : Логос, 2015. – 512 с.
4. Антиоксиданти: клініко-фармакологічний аспект / І. С. Чекман, І. Ф. Беленічев, Н. О. Горчакова [та ін.] // Український медичний часопис. – 2014. – I/II, № 1 (99). – С. 22–28.
5. Беленичев И. Ф. Роль белков теплового шока в реализации молекулярно-биохимических механизмов нейропротекции / И. Ф. Беленичев // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2013. – № 6 (36). – С. 72–80.
6. Беленичев И. Ф. Взаимосвязь между концентрацией HSP70, активностью тиол-дисульфидной системы и степенью неврологических нарушений при моделировании острой церебральной ишемии / И. Ф. Беленичев, Ю. В. Биля // Вісник проблем біології і медицини. – 2017. – № 1 (135). – С. 86–91.
7. Биля Ю. В. Особенности нарушения экспрессии матричной РНК Hif-1α и Hif-3α в условиях острого нарушения мозгового кровообращения и на фоне применения модуляторов HSP70 / Ю. В. Биля, И. Ф. Беленичев, А. М. Камышный // Фармакологія та лікарська токсикологія – 2018. – № 3. – С. 3–9.

8. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідках // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2003. – № 2 (22). – С. 108–109.
9. Закон України. Про захист тварин від жорстокого поводження [Електронний ресурс] // Відомості Верховної Ради України (ВВР). – 2006. – Режим доступу: <http://zakon1.rada.gov.ua/laws/show/3447-15>.
10. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных лекарственных средств первичной и вторичной нейропротекции. Методические рекомендации / И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев, Е. А. Нагорная [и др.]. – Киев : ООО Издательство «Юстон», 2016. – 82 с.
11. Павлов С. В. Молекулярно-биохимические аспекты нейропротективного действия селективного модулятора эстрогеновых рецепторов – тамоксифена в условиях моделирования острой церебральной ишемии / С. В. Павлов, И. Ф. Беленичев // Нейрохимия. – 2014. – Т. 31 (1). – С. 36–41. DOI: 10.7868/S1027813313040079
12. Melatonin-induced neuroprotection after close head injury is associated with increased brain anti-oxidants and attenuated late-phase activation of NF-kappa B and AP-1 / S. M. Beni, R. Kohen, R. J. Reiter [et al.] // FASEB J. – 2004. – V. 18. – P. 144–151.
13. Glutamine prevents oxidative stress in a model of mesenteric ischemia and reperfusion / G. P. Zabot, G. F. Carvalhal, N. P. Marroni [et al.] // World Journal of Gastroenterology. – 2014. – V. 20 (32). – P. 11406–11414.
14. Piracetam improves mitochondrial dysfunction following oxidative stress / U. Keil, I. Scherping, S. Hauptmann [et al.] // British Journal of Pharmacology. – 2006. – V. 147. – P. 199–208. doi:10.1038/sj.bjp.0706459
15. Halliwell B. Free radical in Biology and Medicine / B. Halliwell, M. C. Yutteridge. – Oxford : Clarendon press, 1999. – 320 p
16. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лабораторное дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
17. Waterborg J. H. The Lowry Method for Protein Quantitation. In: J. M. Walker (eds) / J. H. Waterborg. – The Protein Protocols Handbook. Humana Press, 2002. – P. 7–9. DOI: <https://doi.org/10.1385/1-59259-169-8:7>
18. Galano A. Melatonin as a natural ally against oxidative stress: a physicochemical examination / A. Galano, D. X. Tan, R. J. Reiter // Journal of Pineal Research. – 2011. – V. 51. – P. 1–16. doi:10.1111/j.1600-079X.2011.00916.x
19. Melatonin enhances antioxidant enzyme gene expression (CAT, GPx, SOD), prevents their UVR-induced depletion, and protects against the formation of DNA damage (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine) in ex vivo human skin / T. W. Fischer, K. Kleszczyński, L. H. Hardkop [et al.] // J. Pineal Res. – 2013. – № 54. – P. 303–312. doi:10.1111/jpi.12018
20. Vrienda J. The Keap1-Nrf2-antioxidant response element pathway: A review of its regulation by melatonin and the proteasome / J. Vrienda, R. J. Reiterb // Molecular and Cellular Endocrinology. – 2015. – V. 401, № 5. – P. 213–220. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2014.12.013>
21. Belenichev I. F. Study of the Expression Pattern of mRNA Hsp70 and the Level of HSP70 Protein in Experimental Subtotal Ischemia and in the Contrast of Pharmacological Correction of HSP70 Modulators / I. F. Belenichev, Yu. V. Bila, A. M. Kamyshnyi // Biological Markers and Guided Therapy. – 2018. – V. 5, № 1. – P. 75–84. <https://doi.org/10.12988/bmgt.2018.81010>
22. Heat shock protein 70 regulates cellular redox status by modulating glutathione-related enzyme activities / S. Guo, W. Wharton, P. Moseley [et al.] // Cell stress & chaperones. – 2007. – V. 12, № 3. – P. 245–54.
23. HSF1 modulation of Hsp70 mRNA polyadenylation via interaction with symplekin / H. Xing, C. Mayhew, K. Cullen [et al.] // The Journal of Biological Chemistry. – 2004. – V. 279, № 11. – P. 10551–5. doi:10.1074/jbc.M311719200. PMID 14707147.
24. Amores-Sánchez M. I. Glutamine as a Precursor of Glutathione, and Oxidative Stress / M. I. Amores-Sánchez, M. A. Medina // Molecular Genetics and Metabolism. – 1999. – V. 2, № 67. – P. 100–105. DOI: <https://doi.org/10.1006/mgme.1999.2857>

**И. Ф. Беленичев, Ю. В. Била**

### **Антиоксидантные свойства модуляторов HSP70 в условиях церебральной ишемии**

*Цель исследования* – изучить влияние модуляторов HSP70: тамоксифена, мелатонина, HSF-1 и глутамина на показатели оксидативного стресса и активность антиоксидантной системы в головном мозге при моделировании церебральной ишемии.

Исследование проводили на 148 крысах линии Вистар, у которых моделировали острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) путем двухсторонней необратимой перевязки общих сонных артерий под тиопенталовым наркозом (40 мг/кг).

Установлено, что на 4 сутки экспериментальной церебральной ишемии исследуемые препараты достоверно снижали степень оксидативного стресса и повышали активность антиоксидантной системы. Так, введение мелатонина (5 мг/кг), тамоксифена (1 мг/кг), HSF-1 (200 мкл/кг) и глутамина (25 мг/кг) уменьшало уровень нитротирозина на 66,4; 69,4; 69,9 и 60,1 % ( $p \leq 0,05$ ), а также уменьшало количество маркеров окислительной модификации белка АФГ/КФГ на 32,5–35,5 %/34,8–37,9 %; 29,2–32,8 %/35,3–36,4 %; 22,5–30,0 %/28,7–29,3 % и 25,6–28,4 %/28,9–30,7 % соответственно по сравне-



нию с контролем ( $p \leq 0,05$ ). Наиболее выраженное действие на активность СОД оказывало введение мелатонина, активность фермента повышалась на 84,7 % относительно контроля ( $p \leq 0,05$ ). Исследуемые тест-образцы в различной степени повышали уровень белка шаперона, наиболее выраженное действие оказывал HSF-1: HSP70 увеличивался в цитозольной и митохондриальной фракции мозга в 11,3 и 2,6 раза соответственно по сравнению с контролем ( $p \leq 0,05$ ).

Анализ полученных данных подтверждает наличие у тамоксифена, мелатонина, HSF-1 и глутамин-зависимых механизмов регуляции эндогенной нейропротекции и обосновывает их применение в качестве нейропротекторных средств в лечении ОНМК.

*Ключевые слова:* HSP70, церебральная ишемия, эндогенная нейропротекция, тамоксифен, мелатонин, глутамин, HSF-1, оксидативный стресс

**І. Ф. Беленічев, Ю. В. Біла**

### **Антиоксидантні властивості модуляторів HSP70 за умов церебральної ішемії**

*Мета дослідження* – вивчити вплив модуляторів HSP70: тамоксифену, мелатоніну, HSF-1 і глутаміну на показники оксидативного стресу й активність антиоксидантної системи в головному мозку за умов моделювання церебральної ішемії.

Дослідження проводили на 148 щурах лінії Вістар, в яких моделювали гостре порушення мозкового кровообігу (ГПМК) шляхом двосторонньої незворотної перев'язки загальних сонних артерій під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг).

Встановлено, що на 4 добу експериментальної церебральної ішемії досліджувані препарати достовірно знижували ступінь оксидативного стресу та підвищували активність антиоксидантної системи. Так, введення мелатоніну (5 мг/кг), тамоксифену (1 мг/кг), HSF-1 (200 мкл/кг) і глутаміну (25 мг/кг) зменшувало рівень нітритируозину на 66,4; 69,4; 69,9 і 60,1 % ( $p \leq 0,05$ ), а також маркерів окисної модифікації білка АФГ/КФГ на 32,5–35,5 %/34,8–37,9 %; 29,2–32,8 %/35,3–36,4 %; 22,5–30,0 %/28,7–29,3 % і 25,6–28,4 %/28,9–30,7 % відповідно порівняно з контролем ( $p \leq 0,05$ ). Найвираженішу дію на активність СОД спричиняло введення мелатоніну, активність ферменту підвищувалася на 84,7 % до контролю ( $p \leq 0,05$ ). Досліджувані тест-зразки в різному ступені підвищували рівень білка шаперона, найвираженішу дію проявляв HSF-1: HSP70 підвищувався в цитозольній і митохондріальній фракції мозку в 11,3 і 2,6 рази відповідно порівняно з контролем ( $p \leq 0,05$ ).

Аналіз отриманих даних підтверджує наявність у тамоксифену, мелатоніну, HSF-1 і глутаміну HSP70-залежних механізмів регуляції ендогенної нейропротекції й обґрунтовує їхнє застосування як нейропротекторних засобів в лікуванні ГПМК.

*Ключові слова:* HSP70, церебральна ішемія, ендогенна нейропротекція, тамоксифен, мелатонін, глутамін, HSF-1, оксидативний стрес

**I. F. Belenichev, Yu. V. Bila**

### **Antioxidant properties of HSP70 modulators at cerebral ischemia**

*The aim of the study* was to evaluate the effects of modulators HSP70: tamoxifen, melatonin, HSF-1 and glutamine on oxidative stress indices and antioxidant system activity in the brain under cerebral ischemia modeling.

The study was carried out on 148 Wistar rats with modeled acute cerebrovascular accident (GMPM) by bilateral irreversible ligation of common carotid arteries under thiopental anesthesia (40 mg/kg).

It was established that at 4 days of experimental cerebral ischemia the drugs studied significantly reduced the degree of oxidative stress and increased the activity of the antioxidant system. Thus, administration of melatonin (5 mg/kg), tamoxifen (1 mg/kg), HSF-1 (200  $\mu$ l/kg) and glutamine (25 mg/kg) reduced the level of nitrotyrosine by 66,4; 69,4; 69,9 and 60,1 % ( $p \leq 0,05$ ), as well as markers of oxidation modification of AFG/KFG protein by 32,5–35,5 %/34,8–37,9 %; 29,2–32,8 %/35,3–36,4 %; 22,5–30,0 %/28,7–29,3 % and 25,6–28,4 %/28,9–30,7 %, respectively, relative to the control ( $p \leq 0,05$ ). The studied drugs significantly reduced the level of oxidative stress and increased the activity of the antioxidant system.

Melatonin had the most pronounced effect on SOD activity, the enzyme activity increased by 84,7 % as to the control ( $p \leq 0,05$ ). The test compounds increased the level of chaperone protein to varying levels; HSF-1 had the most pronounced effect: HSP70 level had increased in the cytosolic and mitochondrial fractions of the brain by 11,3 and 2,6 times, respectively, as to the control ( $p \leq 0,05$ ).

Analysis of the data confirms the presence of HSP70-dependent mechanisms of tamoxifen, melatonin, HSF-1 and glutamine in regulation of endogenous neuroprotection and substantiates their use as neuroprotective agents in the treatment of stroke.

*Key words:* HSP70, cerebral ischemia, endogenous neuroprotection, tamoxifen, melatonin, glutamine, HSF-1, oxidative stress

*Надійшла: 6 листопада 2018 р.*

**Контактна особа:** Беленічев Ігор Федорович, доктор біологічних наук, професор, кафедра фармакології і медичної рецептури, Запорізький державний медичний університет, буд. 26, просп. Маяковського, м. Запоріжжя, 39035. Тел.: + 38 0 612 34 27 41.  
Електронна пошта: ifb1914@mail.ru

Є. В. Бондарєв, С. Ю. Штриголь, Ю. Б. Лар'яновська

## Стреспротекторна дія препаратів глюкозаміну та ацетилсаліцилової кислоти за умов гострої загальної холодової травми

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

**Ключові слова:** холодний стрес, глюкозамін, ацетилсаліцилова кислота, гістоструктура, кора наднирників

Проблема холодних травм (ХТ) належить до числа актуальних проблем сучасної медицини. За даними джерел літератури, з 752 випадків смерті від загального охолодження 17,6 % смертей настало вже за температури повітря від 0 °С до +10 °С, у 60,8 % – від 0 °С до -12 °С [1].

В Україні від ХТ щороку страждає понад 12 000 осіб зі смертністю понад 10 % [2]. На тлі загального охолодження порушуються функції внутрішніх органів – серця, печінки, селезінки, нирок тощо. Різноманітні порушення функцій виявляються з боку гіпофізу, щитоподібної залози, коркового та мозкового шарів наднирників, інсулярного апарату підшлункової залози [3].

Надниркові залози відіграють значну роль у формуванні стрес-реакції на вплив низьких температур. Останні індукують складні фізіологічні механізми, спрямовані на збереження температурного гомеостазу [3–5]. Реакція на холод регулюється нейроендокринною системою, одним з важливих компонентів якої є надниркові залози. Вони беруть участь у механізмах розвитку стрес-реакції будь-якої етіології, зокрема холодового стресу. На дію холоду наднирники відповідають посиленням біосинтезу стероїдів і катехоламінів [4]. Цей орган має високу здатність до швидкої функціонально-морфологічної перебудови в умовах різних коливань температури, щоб швидко привести організм у стан гомеостатичної рівноваги.

Попередні дослідження вказують на те, що препарати глюкозаміну, а саме глюкозамін гідрохлорид (Г г/х) і

«Глюкозамін-С БХФЗ» за гострої ХТ чинять виразну лікувальну дію: зменшують гіпотермію, збільшують виживаність тварин, їхню рухову та фізичну активність, поліпшують реологічні властивості крові, покращують стан серцево-судинної системи, відновлюють стан шкіри після ХТ, перевершуючи ацетилсаліцилову кислоту (АСК) – відомий фригопротектор [6–9]. «Глюкозамін-С БХФЗ» являє собою дієтичну добавку в капсулах, що містить 300 мг Г г/х та 25 мг аскорбінової кислоти, остання бере участь у стероїдогенезі в наднирниках. Усі ці переваги обґрунтовують доцільність поглибленого вивчення зазначених препаратів як потенційних засобів лікування ХТ. Зокрема, залишається невідомим їхній вплив на гістоструктуру наднирників за гострої ХТ.

**Мета дослідження** – вивчення стрес-протекторної дії препаратів глюкозаміну та АСК у щурів за умов гострого загального охолодження (ГЗО).

**Матеріали та методи.** Роботу виконано в осінній період на білих щурах самках масою 210–250 г (60 тварин), яких утримували на стандартному харчовому раціоні віварію з вільним доступом до води, за постійної вологості та температурного режиму +22–23 °С. Протокол дослідження узгоджується з біоетичними нормами та відповідає «Загальним етичним принципам експериментів на тваринах» (Україна, 2001 р.), а також не суперечить положенням «Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.) [10].

Досліджувані препарати – 0,9 % розчин NaCl (контроль), «Глюкозамін-С

БХФЗ» (Україна), субстанцію Г г/х (Sigma-Aldrich, Німеччина) і розчинні таблетки АСК («Bayer», Німеччина) – вводили у вигляді водного розчину внутрішньошлунково (в/ш) у профілактичному режимі за 30 хв до ХТ, як рекомендується в разі вивчення фріго-протекторних властивостей [9]. Тварин розділили на 5 груп: 1 група – інтактний контроль (ІК) ( $n = 12$ ), щурам вводили розчин NaCl (1 мл/100 г); 2 група – контрольна патологія (ХТ), тваринам вводили розчин NaCl (1 мл / 100 г) ( $n = 12$ ); 3 група – АСК (25 мг/кг) + ХТ ( $n = 12$ ); 4 група – «Глюкозамін-С БХФЗ» у дозі 82,5 мг/кг (ця доза еквівалентна 50 мг/кг Г г/х) + ХТ ( $n = 12$ ); 5 група – Г г/х (50 мг/кг) + ХТ ( $n = 12$ ). Дози Г г/х 50 мг/кг і АСК 25 мг/кг є умовно ефективними за ХТ [6]. Для введення щурам «Глюкозаміну-С БХФЗ» розчиняли вміст капсули у воді.

Для моделювання гострої ХТ щурів вміщували до прозорих пластикових кліток без обмеження доступу до повітря та розташовували в морозильній камері «Nord Inter-300» за температури  $-18^{\circ}\text{C}$  на 2 год [9].

Через 2 год після нанесення ХТ половину тварин кожної групи піддавали евтаназії передозуванням тіопенталового наркозу. Стреспротекторну активність оцінювали за критеріями тріади Сельє: коефіцієнтами маси наднирників і тимуса, частотою виразкоутворень у шлунку.

На другу добу після холодового впливу виконували евтаназію другої частини щурів передозуванням тіопенталового наркозу, визначали коефіцієнти маси наднирників, брали їх для гістологічного дослідження. Останні проводили на базі Центральної науково-дослідної лабораторії НФаУ. Наднирники фіксували в 10 % розчині формаліну, зневоднювали в спиртах зростаючої міцності, заливали в парафін. Зрізи фарбували гематоксилін-еозином [11]. Мікрофотографування зображень здійснювали цифровою відеокамерою Granum DCM 310. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4 GHz за допомогою програми Tour View. На фотознімках наднирників за допомогою

програми Toursam Granum вимірювали ширину зон кіркової речовини (мкм): клубочкової (ШКЗ), пучкової (ШПЗ), сітчастої (ШСЗ); площу клітин (SkПЗ) та ядер (СяПЗ) адренокортикоцитів пучкової зони (мкм<sup>2</sup>).

Статистичну обробку результатів виконано з використанням пакета програм STATISTICA 6.0 із розрахунком середнього значення, стандартної похибки середнього, довірчого інтервалу (р). Для з'ясування міжгрупових відмінностей у випадку нормального розподілу вибірових даних використовували t-критерій Стьюдента (у разі попарних порівнянь) або однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA. За відсутності нормального розподілу використовували U-критерій Манна-Вітні. У разі обліку результатів у альтернативній формі (наявність/відсутність ознаки) використовували кутове перетворення Фішера (ф). Відмінності вважали статистично значущими за  $p < 0,05$  [12, 13].

**Результати та їх обговорення.** У групі тварин ХТ було відзначено формування тріади Сельє: вірогідне підвищення коефіцієнта маси наднирників, виникнення виразок та гіперемії слизової оболонки шлунка та зниження коефіцієнта маси тимуса проти показників групи ІК (табл. 1). Це свідчить про розвиток виразної стрес-реакції, що викликана гострою ХТ. Виявлено позитивний вплив препаратів глюкозаміну та АСК на відновлення коефіцієнтів маси наднирників і тимуса, але в групі АСК виявлено вірогідне збільшення кількості виразкоутворень і частоти гіперемії слизової оболонки шлунка щодо показників групи Г г/х. Гіперемія слизової оболонки мала місце в 100 % випадків, що вище за показники решти груп. Це підтверджує загальновідомі гастротоксичні властивості АСК.

На тлі застосування «Глюкозаміну-С БХФЗ» виявлено вірогідно нижчі результати частоти виникнення гіперемії слизової оболонки шлунка порівняно з групою АСК і відзначено менш виразну частоту виразкоутворень. У разі застосування субстанції Г г/х виявлено вищий стреспротекторний ефект, який полягає у відсутності виразкоутворень і найменшій частоті виникнення гіперемії слизової оболонки шлунка (табл. 1).

Таблиця 1

*Стреспротекторний ефект «Глюкозаміну-С БХФЗ», субстанції глюкозаміну гідрохлориду та ацетилсаліцилової кислоти через 2 години після моделювання гострої загальної холодової травми*

| Група тварин                                       | Коефіцієнт маси наднирників | Коефіцієнт маси тимуса | Шлунок                     |                                        |
|----------------------------------------------------|-----------------------------|------------------------|----------------------------|----------------------------------------|
|                                                    |                             |                        | Частота виразкоутворень, % | Частота гіперемії слизової оболонки, % |
| Інтактний контроль (n = 6)                         | 0,009 ± 0,001               | 0,142 ± 0,018          | 0                          | 0                                      |
| Холодова травма (n = 6)                            | 0,018 ± 0,001*              | 0,108 ± 0,004          | 50*^                       | 83,3*^                                 |
| Холодова травма + ацетилсаліцилова кислота (n = 6) | 0,013 ± 0,001**             | 0,127 ± 0,009^         | 33,3*^                     | 100*^@                                 |
| Холодова травма + «Глюкозамін-С БХФЗ» (n = 6)      | 0,012 ± 0,001#              | 0,138 ± 0,010#         | 16,7                       | 50*                                    |
| Холодова травма + глюкозаміну гідрохлорид (n = 6)  | 0,013 ± 0,001**             | 0,176 ± 0,015#         | 0                          | 33,3*                                  |

Примітка. \*Вірогідно щодо ІК,  $p < 0,05$ , ^вірогідно щодо ХТ,  $p < 0,05$ ; ^вірогідно щодо Г г/х,  $p < 0,05$ ;

@вірогідно до групи «Глюкозаміну-С БХФЗ»,  $p < 0,05$ .

На 2 добу в тварин групи ХТ (табл. 2) зберігалася вірогідне підвищення коефіцієнта маси наднирників проти показників групи ІК, що свідчить про тривалу стрес-реакцію під впливом гострої ХТ. Виявлено позитивний вплив препаратів глюкозаміну на відновлення коефіцієнтів маси наднирників, ці показники майже дорівнювали показникам групи ІК і були вірогідно нижчими, ніж у групі ХТ. На тлі прийому АСК тривало вірогідне збільшення коефіцієнта маси наднирників проти показників групи ІК і Г г/х. Таким чином, на 2 добу після гострої ХТ у препаратів глюкозаміну «Глюкозамін-С БХФЗ» та особливо Г г/х виявлено стреспротекторну дію, АСК не виявила цього ефекту.

Гістологічні дослідження виявили, що в групі інтактного контролю поверхня надниркової залози вкрита незначною за товщиною сполучнотканинною капсулою, артеріальні судини капсули помірно розширені. Розподіл залозистої тканини на кіркову та мозкову речовини чіткий. У кірковій речовині розрізняються клубочкова, пучкова та сітчаста зони. Клітини клубочкової зони (рис. 1 а), дугоподібно вигинаючись, створювала аркади або концентричні структури. Цитоплазма клітин середньої та зовнішньої частини клубочкової зони просвітлена, містила різну кількість вакуолей.

Пучкова зона (рис. 1 б) створена радіально спрямованими тяжами шириною в 1–2 клітини. Цитоплазма мала

Таблиця 2

*Коефіцієнт маси наднирників на 2 добу після гострої холодової травми під впливом «Глюкозаміну-С БХФЗ», субстанції глюкозаміну гідрохлориду та ацетилсаліцилової кислоти*

| Група тварин                                       | Коефіцієнт маси наднирників |
|----------------------------------------------------|-----------------------------|
| Інтактний контроль (n = 6)                         | 0,010 ± 0,001               |
| Холодова травма (n = 6)                            | 0,019 ± 0,001*              |
| Холодова травма + ацетилсаліцилова кислота (n = 6) | 0,016 ± 0,001*^             |
| Холодова травма + «Глюкозамін-С БХФЗ» (n = 6)      | 0,013 ± 0,001#              |
| Холодова травма + глюкозаміну гідрохлорид (n = 6)  | 0,012 ± 0,000#              |

Примітка. \*Вірогідно щодо ІК,  $p < 0,05$ ; ^вірогідно щодо ХТ,  $p < 0,05$ ; ^вірогідно щодо Г г/х,  $p < 0,05$ .

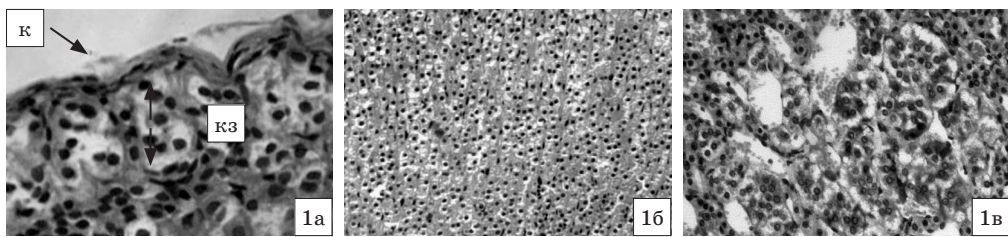


Рис. 1. Наднирник інтактного щура. Капсула (к) і клубочкова зона (кз) кори. Гематоксилін-еозин.  $\times 400$  (рис. 1 а); пучкова зона кори. Гематоксилін-еозин.  $\times 250$  (рис. 1 б); мозковий шар. Гематоксилін-еозин.  $\times 250$  (рис. 1 в)

або гомогенний еозинофільний вигляд, або різного ступеня просвітлення, містить значну кількість різного розміру вакуолей. Частина клітин мала відносно помірну кількість невеликих вакуолей, що свідчить про їхню достатню функціональну активність. Певна кількість клітин мала крупні вакуолі, тобто перебувала в стані функціонального спокою: холестерин накопичувався в цитоплазмі та не витрачався на синтез стероїдних гормонів. Між групами клітин розташовані помірно повнокровні капіляри.

Мозкова речовина (рис. 1 в) подана крупними, різного відтінку базовіально забарвленими хроматинними клітинами, зібраними в неправильної форми тяжи, між якими розташовані по-різному розширені та повнокровні синусоїдальні капіляри. Клітини з блідим базовіальним забарвленням цитоплазми

та з вакуолями відповідають стадії спокою.

Морфометричні характеристики кори показали, що ШКЗ складала  $(42,27 \pm 0,93)$  мкм, ШПЗ –  $(177,32 \pm 2,65)$  мкм, ШСЗ –  $(90,52 \pm 2,84)$  мкм; СкПЗ –  $(170,98 \pm 3,77)$  мкм<sup>2</sup>, СяПЗ –  $(34,54 \pm 0,49)$  мкм<sup>2</sup> (табл. 3).

На 2 добу після перебування щурів за температури  $-18^{\circ}\text{C}$  у наднирниках відмічено вогнищеве потовщення та дезорієнтацію сполучнотканинних волокон у капсулі, їхнє розволокнення. Цитоплазма адренокортикоцитів клубочкової зони місцями позбавлена вакуолей, порушена структурна орієнтація – аркадоподібне розташування клітин (рис. 2).

У пучковій зоні спостерігали мозаїчне перемежування ділянок з кортикоцитами різного функціонального стану: клітинами, в яких виразно зменшена вакуолізація

Таблиця 3

**Морфометричні параметри наднирників щурів за гострої холодової травми та впливу ацетилсаліцилової кислоти, «Глюкозамін-С БХФЗ» і глюкозаміну гідрохлориду**

| Група тварин                                       | Показник              |                        |                  |                        |                        |
|----------------------------------------------------|-----------------------|------------------------|------------------|------------------------|------------------------|
|                                                    | ШКЗ, мкм              | ШПЗ, мкм               | ШСЗ, мкм         | СкПЗ, мкм <sup>2</sup> | СяПЗ, мкм <sup>2</sup> |
| Інтактний контроль (n = 6)                         | $42,27 \pm 0,93$      | $177,32 \pm 2,65$      | $90,52 \pm 2,84$ | $170,98 \pm 3,77$      | $34,54 \pm 0,49$       |
| Холодова травма (n = 6)                            | $46,76 \pm 0,53^*$    | $191,1 \pm 0,94^*$     | $94,53 \pm 1,15$ | $182,7 \pm 1,78^*$     | $37,88 \pm 0,22^*$     |
| Холодова травма + ацетилсаліцилова кислота (n = 6) | $43,75 \pm 0,62^{\#}$ | $179,42 \pm 1,84^{\#}$ | $93,84 \pm 0,75$ | $176,0 \pm 2,48^{\#}$  | $35,40 \pm 0,60^{\#}$  |
| Холодова травма + «Глюкозамін-С БХФЗ» (n = 6)      | $43,57 \pm 0,42^{\#}$ | $177,63 \pm 1,93^{\#}$ | $88,96 \pm 2,35$ | $170,53 \pm 1,67^{\#}$ | $34,93 \pm 0,45^{\#}$  |
| Холодова травма + глюкозаміну гідрохлорид (n = 6)  | $42,70 \pm 0,82^{\#}$ | $176,19 \pm 1,19^{\#}$ | $92,53 \pm 1,23$ | $171,41 \pm 0,63^{\#}$ | $34,09 \pm 0,78^{\#}$  |

Примітка. \*Відмінності статистично значущі ( $p < 0,05$ ) відносно групи ІК, <sup>#</sup>відмінності статистично значущі ( $p < 0,05$ ) відносно групи ХТ.



(функціонально активні), та клітинами у стані відносного спокою (наявність вакуолей). Місцями виявляли дисконплексацію адренокортикоцитів (рис. 3).

Серед тяжів спонгіоцитів зустрічалися дрібні клітинні скупчення, які пов'язані з міграцією макрофагів за утилізації клітин з деструкцією (рис. 3 в, 3 г). Межа між клубочковим та пучковим шарами не завжди чітка. Відмічено розширення та повнокров'я венозно-капілярної сітки внутрішньої зони пучкового шару та сітчастого шару. Клітини сітчастого шару візуально не змінилися.

У мозковому шарі візуалізується помітне збільшення кількості клітин з базофільною цитоплазмою, зменшенням або відсутністю вакуолей у цитоплазмі, що також є свідченням підвищеної функціональної активності хромафінних клітин (рис. 4).

Морфометричні виміри показали, що в щурів групи контрольної патології вірогідно збільшилися  $SkПЗ$  (на 6,85 %) та  $СяПЗ$  (на 9,67 %), внаслідок чого збільшилися  $ШПЗ$  (на 7,77 %). Достовірно збільшилася й  $ШКЗ$  (на 10,62 %),  $ШСЗ$  не змінювалася порівняно з показником інтактних тварин (табл. 2).

Виявлені гістологічні та морфометричні зміни свідчать про розвиток у щурів групи контрольної патології ознак стресової гіпертрофії кори наднирників, що відбувається на тлі функціональної напруги органа [14].

Після введення щурам АСК на тлі загального відновлення структури капсули та функціонального стану клубочкового та пучкового шарів кори наднирників (рис. 5 а) помітні дрібновогніщеві сегменти з дезорієнтацією, розволокненням сполучнотканинних волокон капсули, мали місце дрібні ділянки

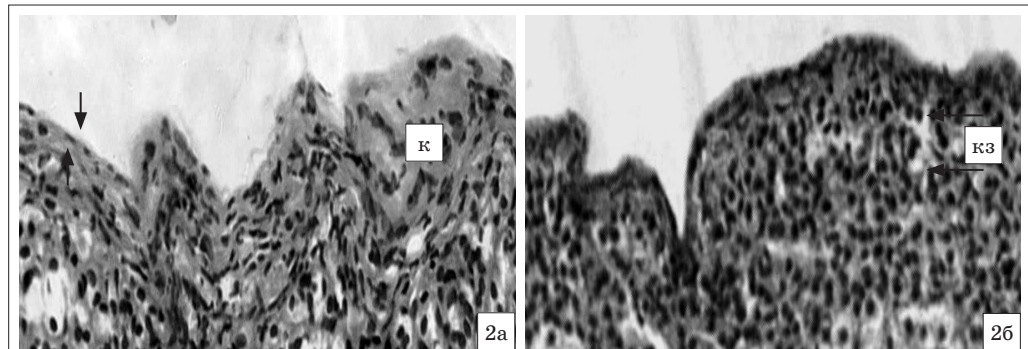


Рис. 2. Наднирник щура через 2 доби після перебування за температури  $-18^{\circ}\text{C}$ : 2 а – потовщення та дезорієнтація сполучнотканинних волокон у капсулі (к); 2 б – відсутність вакуолізації цитоплазми адренокортикоцитів клубочкової зони (кз). Гематоксилін-еозин.  $\times 250$

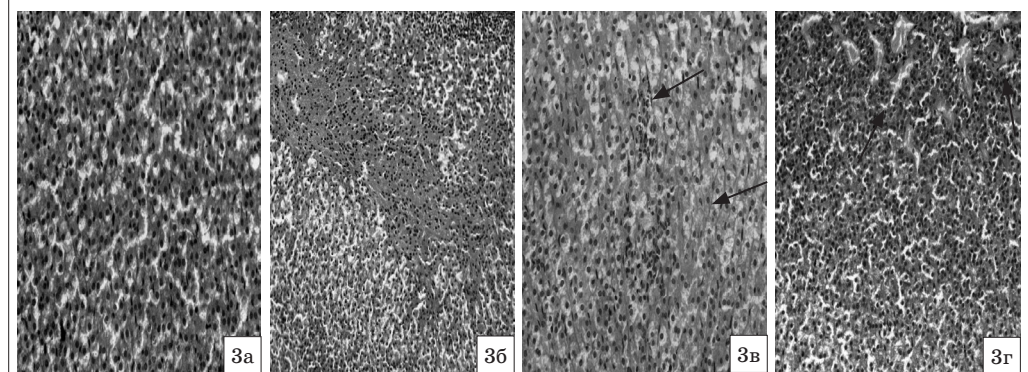


Рис. 3. Наднирник щура через 2 доби після перебування за температури  $-18^{\circ}\text{C}$ . Пучкова зона кори: 3 а – загальне зменшення вакуолізації цитоплазми кортикоцитів; 3 б – осередок деліпоїдизації. Гематоксилін-еозин.  $\times 200$ ; пучкова зона кори: 3 в – загальне зменшення вакуолізації цитоплазми кортикоцитів; 3 г – осередок деліпоїдизації. Гематоксилін-еозин.  $\times 200$

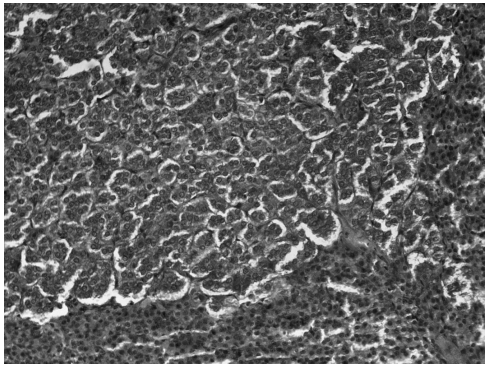


Рис. 4. Наднирник щура через 2 доби після перебування за температури  $-18^{\circ}\text{C}$ . Мозковий шар. Виразне підвищення функціональної активності хромафінних клітин. Гематоксилін-еозин.  $\times 200$

з нечіткістю аркадоподібних клітинних угруповань у клубочковому шарі кори (рис. 5 б). У пучковій зоні кори не завжди чітка лінійність розташування кортикоцитів, достатньо клітин зі зменшенням/відсутністю вакуолізації цитоплазми (рис. 5 в). У мозковому шарі виразне зменшення функціональної активності хромафінних клітин не спостерігали (рис. 5 г).

Морфометричні параметри наднирників щурів після введення препарату порівняння АСК вірогідно зменшені порівняно з показниками контрольної патології, але в переважній більшості з них рівень відновлення менший, ніж у щурів інших досліджуваних груп (табл. 3).

Після введення щурам «Глюкозамін-С БХФЗ» у наднирниках візуальні зміни стану капсули й кортикоцитів клубочкової зони кори практично відсутні (рис. 6 а). У той самий час, у пучковій зоні кори на тлі загального зменшення функціональної активності кортикоцитів спостерігали поодинокі невеликі ділянки деліпоїдизації (у зовнішній зоні), дрібні клітинні скупчення, аналогічні таким у препаратах групи контрольної патології (рис. 6 б, 6 в).

У мозковому шарі значна частина ендокриноцитів набуває більш спокійного функціонального стану (рис. 6 г).

Морфометричні виміри підтвердили, що після профілактичного введення «Глюкозаміну-С БХФЗ» в умовах гіпотермії зменшуються не тільки якісні, але й кількісні показники стресової

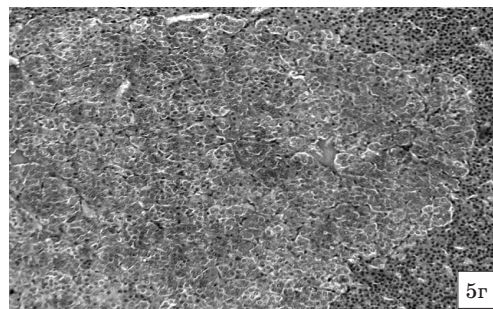
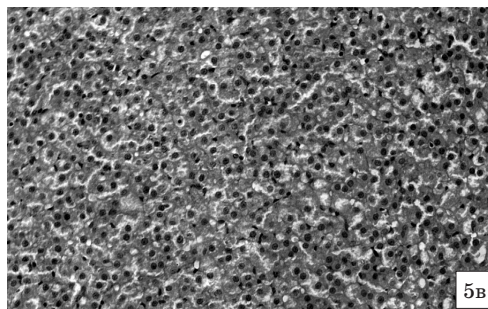
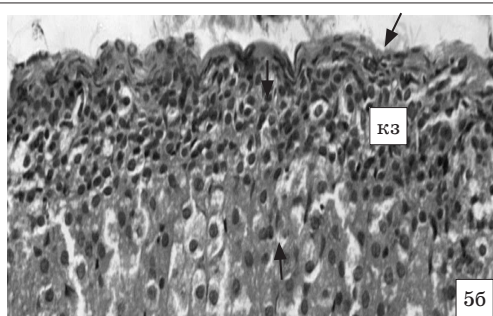
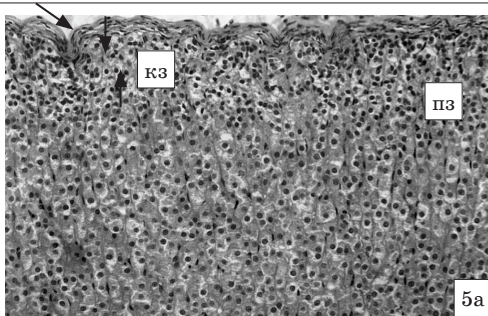


Рис. 5. Наднирник щура з гострою холодовою травмою, якому вводили ацетилсаліцилову кислоту: 5 а – нормальний стан капсули (стрілка), клубочкової (кз) і пучкової (пз) зон кори. Гематоксилін-еозин.  $\times 250$ ; 5 б – дезорієнтація, розволокнення сполучнотканинних волокон капсули (стрілка), нечіткість аркадоподібних клітинних угруповань у клубочковій (кз) зоні. Гематоксилін-еозин.  $\times 250$ ; 5 в – відсутність лінійності в розташуванні кортикоцитів пучкової зони (пз) кори, зменшення вакуолізації цитоплазми клітин. Гематоксилін-еозин.  $\times 200$ ; 5 г – зменшення функціональної активності хромафінних клітин мозкового шару не виражено. Гематоксилін-еозин.  $\times 200$



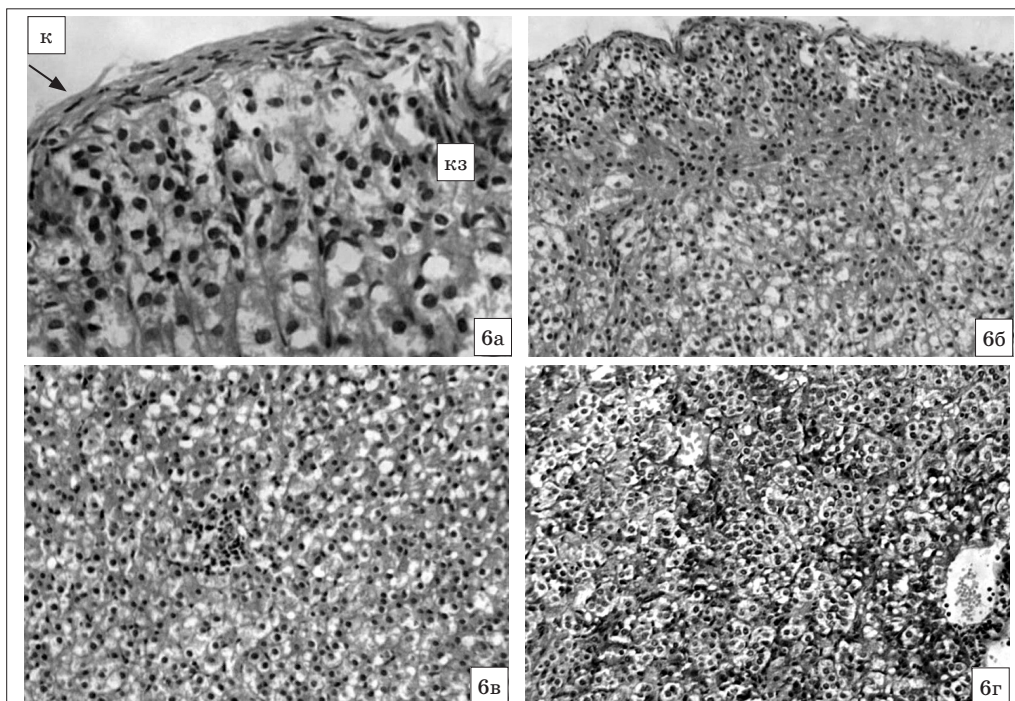


Рис. 6. Наднирник щура з гострою холодовою травмою, якому вводили «Глюкозамін-С БХФЗ»: 6 а – стан капсули (к) та клітин клубочкової зони кори (кз) не змінено. Гематоксилін-еозин.  $\times 375$ ; 6 б – збереження на тлі загального зменшення функціональної активності кортикоцитів пучкової зони ділянок деліпоїдизації; 6 в – дрібний клітинний інфільтрат серед кортикоцитів. Гематоксилін-еозин.  $\times 250$ ; 6 г – зменшення ендокринних клітин мозкового шару в підвищеному функціональному стані. Гематоксилін-еозин.  $\times 250$

гіпертрофії кори наднирників щурів – СкПЗ і СяПЗ, ШПЗ і ШКЗ вірогідно зменшувалися порівняно з показниками групи контрольних стресованих щурів, були практично на рівні інтактного контролю. У той самий час за абсолютними цифрами більшість з цих показників дещо поступалася таким у щурів, що отримували Г г/х (табл. 3).

У щурів, які отримували Г г/х, зміни в стані сполучнотканинних волокон капсули відсутні, лише помітно певне їхнє розволокнення. Клітини клубочкової зони зберігали характерне розташування – їхня цитопlasма багата вакуолями (рис. 7 а). У кортикоцитах пучкової зони помітно збільшена вакуолізація цитопlasми, ознак деліпоїдизації, дисккомплексції клітин не помічено. Кровонаповнення капілярів пучкової та сітчастої зон кори – на рівні інтактного контролю (рис. 7 б).

У мозковій речовині збільшена чисельність клітин з наявністю вакуолей (рис. 7 в). Позитивний вплив Г г/х на функціональний стан наднирників

підтвердили як зниження коефіцієнта маси наднирників, так і результати морфометричного аналізу. Усі обрані показники вірогідно зменшилися відносно контрольної патології і досягали рівня інтактного контролю (табл. 1, 2). Відзначено вірогідне підвищення коефіцієнта маси наднирників у групах ХТ і АСК, що може свідчити про наявну стрес-реакцію на вплив ХТ.

Отже, двогодинне перебування щурів за температури  $-18^{\circ}\text{C}$  викликає в них ознаки гострої стресової реакції надниркових залоз, що характеризується тріадою Сельє: збільшенням коефіцієнта маси наднирників і зменшенням коефіцієнта маси тимуса, зростанням кількості виразкоутворень та гіперемією слизової оболонки шлунка, що свідчить про виразну стрес-реакцію під впливом ХТ. Визначено виразну гіпертрофію клубочкової та пучкової зони кори наднирників. На 2 добу дослідження в групі ХТ і АСК зберігається збільшення маси наднирників, що свідчить про тривалу стрес-реакцію. Гіпертрофія

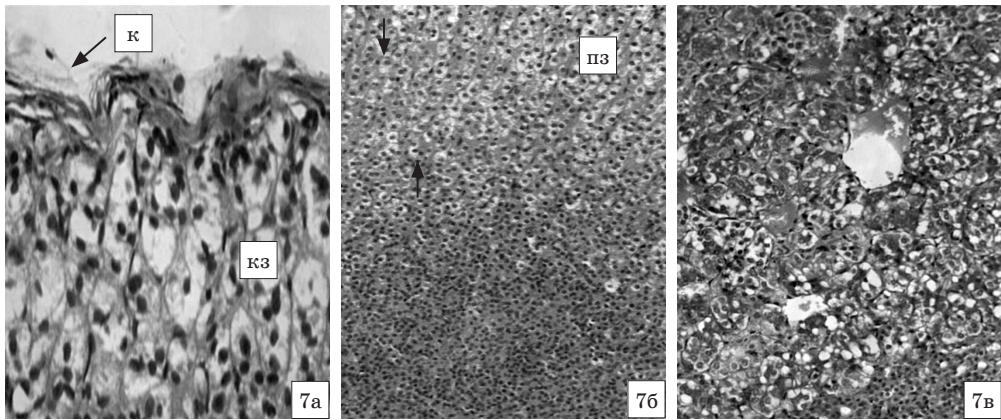


Рис. 7. Наднирник щура з гострою холодовою травмою, якому вводили глюкозаміну гідрохлорид: 7 а – помірне розволокнення сполучнотканинних волокон у капсулі (к), нормальний структурний рисунок і функціональний стан кортикоцитів клубочкової зони (кз) кори. Гематоксилін-еозин.  $\times 375$ ; 7 б – відновлення нормального структурно-функціонального стану кортикоцитів пучкової зони кори (пз). Гематоксилін-еозин.  $\times 200$ ; 7 в – мозковий шар. Збільшення кількості хромафінних клітин у менш функціонально активному стані. Гематоксилін-еозин.  $\times 200$

пучкової зони є наслідком збільшення площі клітин цієї зони та відбувається на тлі збіднення кортикоцитів на ліпиди, що свідчить про функціональну напругу, пов'язану зі стимуляцією продукції глюкокортикоїдів. Активация кори супроводжується змінами її судинної системи: розширенням та повнокров'ям капілярів.

Під впливом препаратів глюкозаміну відбувається швидка нормалізація коефіцієнтів маси наднирників. Профілактичне введення «Глюкозамін-С БХФЗ» і субстанції Г г/х за умов гіпотермії не тільки вірогідно нормалізує коефіцієнти маси наднирників і тимуса, зменшує гіперемію слизової оболонки шлунка та виразкоутворення проти показників групи ХТ, але й зменшує якісні та кількісні показники стресової гіпертрофії кори наднирників, що підтверджено морфометрично.

## Висновки

1. Гостра ХТ викликає в щурів ознаки гострої стресової реакції надниркових залоз, яка характеризується тріадою Сельє: збільшенням коефі-

цієнта маси наднирників, зниженням коефіцієнта маси тимуса, зростанням кількості виразок і гіперемією слизової оболонки шлунка, що свідчить про виразну стрес-реакцію. На 2 добу дослідження під впливом препаратів глюкозаміну «Глюкозамін-С БХФЗ» та особливо субстанції Г г/х виявлено нормалізацію коефіцієнтів маси наднирників. На моделі гострої ХТ уперше виявлено стреспротекторну дію препаратів глюкозаміну, АСК виявила менш ефективну дію.

2. Профілактичне введення Г г/х позитивно впливає на гістоструктуру наднирників щурів з гострою ХТ, обмежуючи стресову реакцію, відновлює параметри клітин пучкової зони, стабілізує функціональну активність кортикоцитів пучкової зони.
3. Глюкозаміну г/х і «Глюкозамін-С БХФЗ» на світлооптичному рівні за умов холодового стресу виявляють виразніший позитивний вплив на морфофункціональний стан наднирників у щурів, ніж препарат порівняння АСК.

1. Матышев А. А. Судебная медицина / А. А. Матышев, А. Р. Деньковский. – Ленинград : Медицина, 1985.
2. Алгоритми лікувальної тактики хворих з холодовою травмою, відмороженням окремих ділянок та сегментів тіла. Методичні рекомендації. ДЗ «Український науково-практичний центр екстреної медичної допомоги та медицини катастроф Міністерство Охорони здоров'я України» / С. О. Гур'єв, Г. Г. Рошнін, Я. С. Кукуруз, М. Д. Близнюк. – Київ, 2014. – 40 с.

3. Чудаков А. Ю. Гостре загальне переохолодження в воді / А. Ю. Чудаков, В. Д. Ісаков, Ю. Г. Доронін. – Санкт Петербург, 1999. – С. 107–115.
4. Manfred Oehmichen. Hypothermia. Clinical, Pathomorphological and Forensic Features // Research in legal Medicine. – 2004. – V. 31. – 274 p.
5. Cochrane D. Hypothermia: A cold influence on trauma / D. Cochrane // Int J Trauma Nurs. – 2001. – V. 7 (1). – P. 8.
6. Бондарев Є. В. Скринінгове дослідження глюкозаміну гідрохлориду в якості засобу фрігопротекторної дії / Є. В. Бондарев, С. Ю. Штриголь // Клінічна фармація. – 2010. – Т. 14. – № 4. – С. 47–49.
7. Агрегація тромбоцитів під впливом препаратів глюкозаміну гідрохлориду та ацетилсаліцилової кислоти при гострій холодовій травмі / Є. В. Бондарев, С. Ю. Штриголь, І. А. Зупанець, І. А. Отрішко // Клінічна фармація. – 2017. – Т. 21, № 1. – С. 50–56.
8. Бондарев Є. В. Вплив глюкозаміну гідрохлориду на стан центральної нервової системи та фізичну витривалість мишей після гострого загального охолодження / Є. В. Бондарев, С. Ю. Штриголь // Український біофармацевтичний журнал. – 2010. – № 5 (10). – С. 60–65.
9. Холодова травма: доклінічне вивчення лікарських препаратів з фрігопротекторними властивостями / Є. В. Бондарев, С. Ю. Штриголь, С. М. Дрогвоз, К. Г. Щокіна // Методичні рекомендації. – Харків, 2018. – 35 с.
10. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1; под ред. А. Н. Миронова. – Москва : Гриф и К, 2012. – 944 с.
11. Меркулов Г. А. Курс патологистологической техники / Г. А. Меркулов. – Москва : Медицина, Ленингр. отд-ние, 1969. – 424 с.
12. Халафян А. А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных: учебник / А. А. Халафян. – изд. 3-е. – Москва : ООО «Бином-Пресс», 2007. – 512 с.
13. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – 2001. – 320 с.
14. Солодкова О. А. Влияние экстракта кукумарии японской на структуру надпочечников белых крыс при холододовом стрессе / О. А. Солодкова, В. Г. Зенкина, В. С. Карелина // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 8. – С. 419–423.

**Є. В. Бондарев, С. Ю. Штриголь, Ю. Б. Лар'яновська**

### **Стреспротекторна дія препаратів глюкозаміну та ацетилсаліцилової кислоти за умов гострої загальної холодової травми**

Проблема холодових травм належить до найпоширеніших проблем сучасної медицини. Гостра загальна холодова травма викликає стрес-реакцію, у забезпеченні механізму якої беруть участь наднирники.

*Мета дослідження* – вивчення стреспротекторної дії фрігопротекторів «Глюкозаміну-С БХФЗ», субстанції глюкозаміну гідрохлориду та ацетилсаліцилової кислоти в щурів після гострої загальної холодової травми.

Встановлено, що двогодинне перебування щурів за температури –18 °С викликає в них ознаки триади Сельє, характеризується збільшенням коефіцієнта маси наднирників зі зниженням коефіцієнта маси тимуса, виразкоутворення в шлунку, гіпертрофією клубочкової та пучкової зони. Профілактичне введення препаратів глюкозаміну вірогідно нормалізує коефіцієнт маси наднирників і тимуса, позитивно впливає на стан кори наднирників, обмежуючи стресову реакцію, відновлює параметри клітин пучкової зони, стабілізує функціональну активність кортикоцитів пучкової зони. На тлі застосування ацетилсаліцилової кислоти виявляється вірогідне підвищення виразкоутворень у шлунку та менш виразне відновлення гістоструктури наднирників.

*Ключові слова:* холодовий стрес, глюкозамін, ацетилсаліцилова кислота, гістоструктура, кора наднирників

**Е. В. Бондарев, С. Ю. Штриголь, Ю. Б. Ларьяновская**

### **Стреспротекторное действие препаратов глюкозамина и ацетилсалициловой кислоты в условиях острой общей холодовой травмы**

Проблема холодовых травм относится к наиболее распространенным проблемам современной медицины. Острая общая холодовая травма вызывает стресс-реакцию, в механизме которой участвуют надпочечники.

*Цель исследования* – изучение стреспротекторной активности фригопротекторов «Глюкозамина-С БХФЗ», субстанции глюкозамина гидрохлорида и ацетилсалициловой кислоты у крыс после острой общей холодовой травмы.

Установлено, что двухчасовое пребывание крыс при температуре –18 °С вызывает у них признаки триады Селье, характеризуется увеличением коэффициента массы надпочечников, снижением коэффициента массы тимуса, увеличением количества язвообразований в желудке, гипертрофией клубочков и пучковой зоны. Профилактическое введение препаратов глюкозамина достоверно нор-



---

мализует коэффициент массы надпочечников, положительно влияет на состояние коры надпочечников, препятствует образованию язвообразований в желудке, восстанавливает параметры клеток пучковой зоны, стабилизирует функциональную активность кортикоцитов пучковой зоны, ограничивая стрессовую реакцию на действие холода. При применении ацетилсалициловой кислоты наблюдали достоверное повышение язвообразований в желудке и менее отчетливое восстановление гистоструктуры надпочечников.

*Ключевые слова: холодовой стресс, глюкозамин, ацетилсалициловая кислота, гистоструктура, кора надпочечников*

**Ye. V. Bondarev, S. Yu. Shtrygol, Yu. B. Laryanovskaya**

### **Stress-protective effect of glucosamine preparations and acetylsalicylic acid in acute general cold injury**

The problem of cold injuries is one of the most common problems of modern medicine. Acute general cold injury causes a stress reaction where adrenal glands take part.

*The aim of the work* was to study the stress-protective effect of the frigoprotectors such as «Glucosamine-C BHFZ», substance of glucosamine hydrochloride and acetylsalicylic acid in rats after acute general cold injury.

It was established that a two-hour stay at  $-18^{\circ}\text{C}$  causes in rats signs of a triad Selye, characterized by an increase in the mass ratio of the adrenal glands, an increase in the number of ulcers in the stomach, hypertrophy of the glomeruli and beam zone. Preventive administration of glucosamine-containing drugs reliably normalizes the mass ratio of the adrenal glands, positively affects the state of the adrenal cortex, prevents formation of ulcerations in the stomach, restores the cell parameters of the beam zone, stabilizes the functional activity of the corticocytes of the beam zone, limiting the stress response to the effect of cold. When using acetylsalicylic acid, a significant increase of gastric ulcers in the stomach and a less distinct recovery of the histostructure of adrenal glands were observed.

*Key words: cold stress, glucosamine, acetylsalicylic acid, histostructure, adrenal cortex*

---

*Надійшла: 30 жовтня 2018 р.*

**Контактна особа:** Бондарев Євген Вікторович, кандидат фармацевтичних наук, доцент, кафедра фармакології, Національний фармацевтичний університет, буд. 53, вул. Пушкінська, м. Харків, 61002. Тел.: + 38 0 99 957 19 95. Електронна пошта: jck.bond@gmail.com

S. A. Demchenko<sup>1</sup>, O. E. Yadlovskiy<sup>1</sup>,  
L. S. Bobkova<sup>1</sup>, A. M. Demchenko<sup>1,2</sup>

## Synthesis and antiviral activity of derivatives of 1-(4<sup>1</sup>-chlorophenyl)-3-aryl-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9- hexahydro-3*H*-imidazo[1,2-*a*]azepinium for Flu A H1N1 California/07/2009 and Flu A H3N2 Brisbane/10/2007

<sup>1</sup>Institute of Pharmacology and Toxicology of National Academy of Medical Sciences, Kyiv

<sup>2</sup>Nizhyn State University named after Nikolai Gogol, Ukraine

**Key words:** *antiviral activity, Ribavirin, virus Flu A H1N1 California/07/2009, virus Flu A H3N2 Brisbane/10/2007, Amizone, derivatives of 1-(4<sup>1</sup>-chlorophenyl)-3-aryl-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3*H*-imidazo[1,2-*a*]azepinium*

The respiratory illnesses in the Europe and the USA are the most common infectious illness in the general population. Respiratory illnesses are accompanied by severe complications. More than 2 billion cases of upper respiratory infections every year World Health Organization (WHO) reported; 14–15 million cases of upper respiratory infections reported in Ukraine. Influenza viruses are a family of RNA viruses that includes 3 genera: Influenza virus A, Influenza virus B, Influenza virus C. Influenza virus A among three serotypes is the most virulent and pathogenic for humans and can lead to serious disease complications. Influenza A (H1N1) virus is the subtype of influenza A virus. In 1930, subtype of A/H1N1 virus was isolated in pigs [1]. Flu A/H1N1 was attributed to endemic zoonosis [2].

In 2005, a novel swine influenza A (H1N1) caused severe respiratory illness in 50 humans who have been in contact with diseased animals [3–6]. In March–April 2009, in Mexico, a swine influenza A (H1N1) was recorded among people. In 2009 in California H1N1 (A/California/04/2009 and A/California/07/2009 (H1N1) [7]) viruses were isolated.

Only in 2009 there were reported about more than 250000 confirmed cases

of influenza A (H1N1) in the world. It killed more than 2,500 patients worldwide in 2009–2010 [8]. The disease spread by air-drip and contact-household. The etiotropic therapy (oseltamivir, zanamivir etc) [9–12] do not completely satisfy the clinic's requests. Therefore search for new antiviral agents (more effective and safety) is relevant now.

According to the WHO, in the 2008–2009 season in most countries of the European region the Brisbane/10/2007 strain (H3N2) was the predominant epidemic agent. In Ukraine the main cause of the flu epidemic in the 2011–2012 seasons was the strain of the influenza A virus (H3N2), accounting for 99 % of all isolated influenza viruses for this seasons [13]. The sharp rise in morbidity was accompanied by the appearance of a large number of severe forms and fatal cases. It is becoming more widespread and kills thousands of people every year around the world.

Earlier [14], we have synthesized and studied the antiviral properties of 1-(2,3-dihydro[1,4]dioxan-6-yl)-3-aryl-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-3*H*-imidazo[1,2-*a*]azepinium salts for Flu A H1N1 California/07/2009. In continuation of these studies we have synthesized a number of new derivatives imidazo[1,2-*a*]azepinium bromides to study their antiviral properties for Flu A H1N1 California / 07/2009 and Flu A H3N2 Brisbane / 10/2007.

*The aim of the study* – to synthesize the derivatives of 1-(4<sup>1</sup>-chlorophenyl)-3-

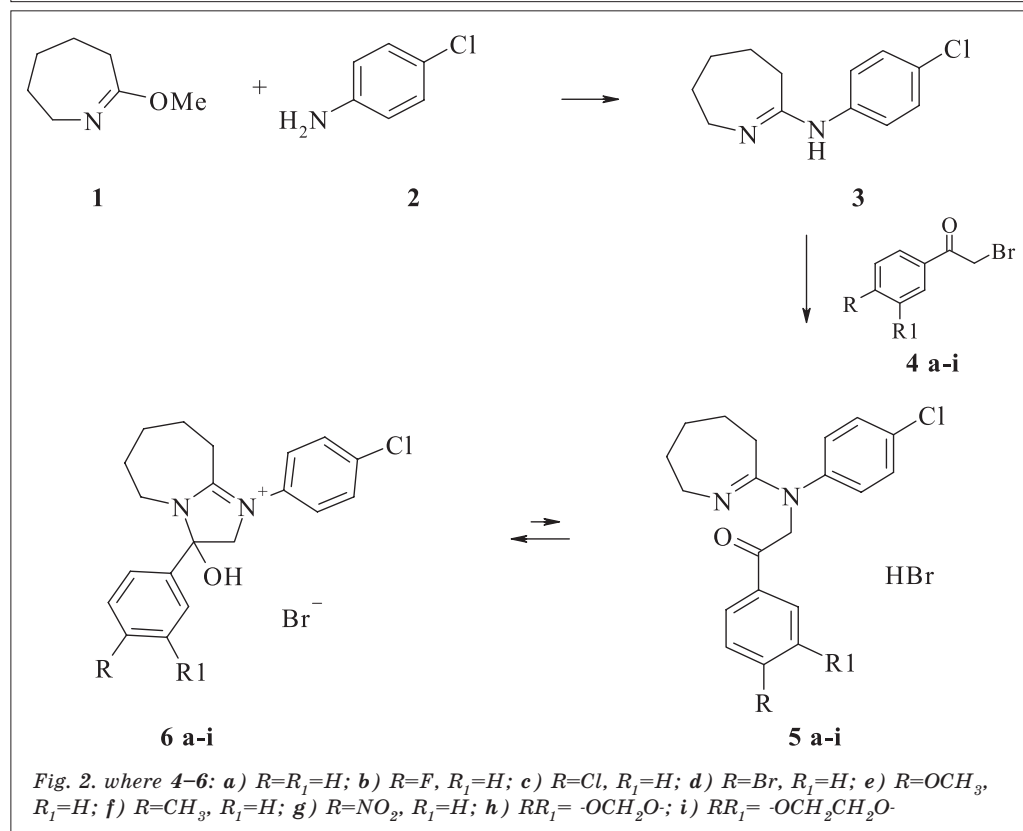
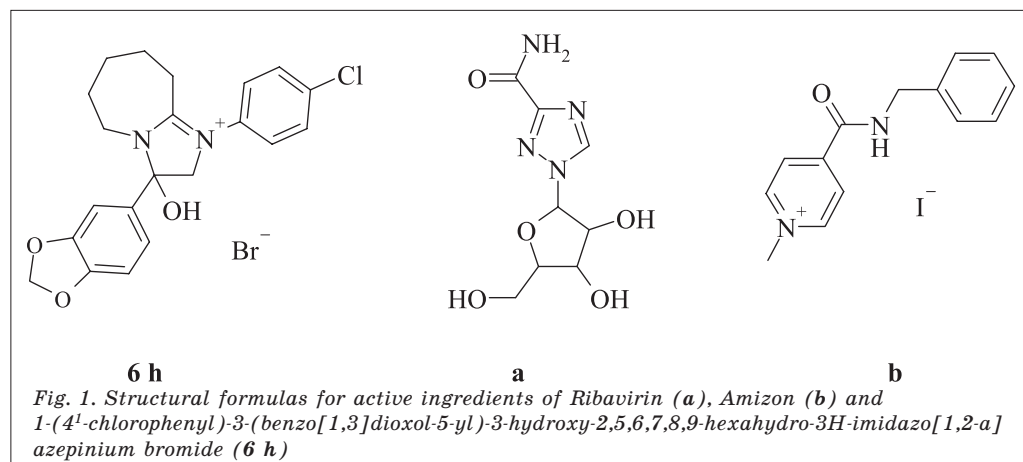
aryl-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo [1,2-a]azepinium bromides and to study the antiviral activity of 1-(4<sup>1</sup>-chlorophenyl)-3-(benzo[1,3]dioxol-5-yl)-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo[1,2-a]azepinium bromide for Flu A H1N1 California/07/2009 and Flu A H3N2 Brisbane /10/2007 at primary pharmacological screening stage.

**Materials and methods.** The investigated compounds – 1-(4<sup>1</sup>-chlorophenyl)-3-aryl-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-

3H-imidazo [1,2-a]azepinium bromides (**6 a-i**) and the substance of the drug «Amizon» were synthesized in the department of medical chemistry Institute of Pharmacology and Toxicology of National Academy of Medical Sciences (Fig. 1–2).

The investigated compounds (**6 a-i**) were synthesized according to the scheme on Fig. 2.

2-Methoxy-3,4,5,6-tetrahydro-7H-azepine **1** was obtained by alkylating caprolactam with dimethyl sulfate using



the method [15]. Derivatives of  $\alpha$ -bromoacetophenones 4 i was obtained by bromination of the corresponding acetophenones with bromine in acetic acid medium [16, 17].  $^1\text{H}$ -NMR spectra were recorded on the Varian Gemini 400 MHz (Germany) in DMSO- $d_6$  using tetramethylsilane (TMS) as an internal standard. Chemical shifts are reported in ppm units with use of the  $\delta$  scale.

**Synthesis of 1-(4<sup>1</sup>-chlorophenyl)-4,5,6,7-tetrahydro-3H-azepin-2-yl)-amine (3).** A mixture of 3.83 g (0.03 M) of para-chloroaniline 2 and 3.94 g (0.031 M) of 2-methoxy-3,4,5,6-tetrahydro-7H-azepine 1 in 30 ml of toluene is refluxed for 3 hours. After cooling, the precipitate formed is filtered off, washed with hexane, dried. Yield 5.55 g (83 %). M. p. = 129–130 °C (from propanol-2). Anal. Calc. for  $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{ClN}_2$ , %: N = 12.6; Cl = 15.9. Found, %: N = 12.5; Cl = 15.7.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 1.44–1.63 (m, 6H,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ), 2.35 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.15 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.14–6.70 (d-d, 4H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ).

**Synthesis of 1-(4<sup>1</sup>-chlorophenyl)-3-phenyl-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo[1,2-a]azepinium bromide (6a).** To solution of 2.23 g (0.01 M) (4<sup>1</sup>-chlorophenyl)-4,5,6,7-tetrahydro-3H-azepin-2-yl)-amine 3 in 50 ml of ethyl acetate was added with stirring 1.99 g (0.01 M) of  $\alpha$ -bromoacetophenone 4a. The mixture was refluxed for 1 hour. The reaction mixture was cooled. The precipitate was filtered off and crystallized from ethanol. Yield 3.29 g (78 %). M. p. = 232–233 °C. Anal. Calc. for  $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{BrClN}_2\text{O}$ , %: N = 6.64. Found, %: N = 6.73.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 1.60–1.82 (m, 6H,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ), 2.79 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.27 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 4.37 and 4.56 (д-д, 2H, 2- $\text{CH}_2$ , J = 12.4 Hz), 7.49 – 7.74 (m, 9H, aromatic protons), 8.12 (s, 1H, OH).

**1-(4<sup>1</sup>-Chlorophenyl)-3-(4<sup>2</sup>-fluorophenyl)-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo[1,2-a]azepinium bromide 6b** was obtained as bromide 6a from 2.23 g (0.01 M) of amine 3 and 2.17 g (0.01 M) of  $\alpha$ -bromo-4-fluoroacetophenone 4 b. Yield 3.03 g (69 %). M. p. = 254–255 °C. Anal. Calc. for  $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{BrClFN}_2\text{O}$ , %: N = 6.37. Found, %: N = 6.48.  $^1\text{H}$  NMR

(400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 1.60–1.85 (m, 6H,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ), 2.77 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.26–3.32 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 4.36 and 4.57 (d-d, 2H, 2- $\text{CH}_2$ , J = 12.7 Hz), 7.65 and 7.71 (d-d, 4H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ , J = 8.3 Hz), 7.33–7.82 (m, 4H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 8.19 (s, 1H, OH).

**1,3-Di-(4<sup>1</sup>-chlorophenyl)-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo[1,2-a]azepinium bromide 6c** was obtained as bromide 6a from 2.23 g (0.01 M) of amine 3 and 2.33 g (0.01 M) of  $\alpha$ -bromo-4-chloroacetophenone 4 c. Yield 3.51 g (77 %). M. p. = 227–229 °C. Anal. Calc. for  $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{BrCl}_2\text{N}_2\text{O}$ , %: N = 6.14. Found, %: N = 5.98.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 1.60–1.84 (m, 6H,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ), 2.76 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.28 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 4.36 and 4.56 (d-d, 2H, 2- $\text{CH}_2$ , J = 13.1 Hz), 7.58 and 7.77 (d-d, 4H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ , J = 8.8 Hz), 7.64 and 7.71 (d-d, 4H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ , J = 9.0 Hz), 8.23 (c, 1H, OH).

**1-(4<sup>1</sup>-Chlorophenyl)-3-(4<sup>2</sup>-bromophenyl)-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo[1,2-a]azepinium bromide 6d** was obtained as bromide 6a from 2.23 g (0.01 M) of amine 3 and 2.78 g (0.01 M) of  $\alpha$ -bromo-4-bromoacetophenone 4 d. Yield 4.06 g (81 %). M. p. = 232–233 °C. Anal. Calc. for  $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{Br}_2\text{ClN}_2\text{O}$ , %: N = 5.59. Found, %: N = 5.41.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 1.64–2.02 (m, 6H,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ), 2.77–2.87 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.37 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 4.43 and 4.48 (d-d, 2H, 2- $\text{CH}_2$ , J = 12.8 Hz), 7.53 and 7.78 (d-d, 4H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ , J = 8.0 Hz), 7.58 and 7.90 (d-d, 4H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ , J = 8.0 Hz), 8.23 (s, 1H, OH).

**1-(4<sup>1</sup>-Chlorophenyl)-3-(4<sup>2</sup>-methoxyphenyl)-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo[1,2-a]azepinium bromide 6e** was obtained as bromide 6a from 2.23 g (0.01 M) of amine 3 and 2.29 g (0.01 M) of  $\alpha$ -bromo-4-methoxyacetophenone 4 e. Yield 2.89 g (64 %). M. p. = 234–235 °C. Anal. Calc. for  $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{BrClN}_2\text{O}_2$ , %: N = 6.20. Found, %: N = 6.36.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 1.60–1.83 (m, 6H,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ), 2.76 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.29 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.81 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 4.32 and 4.55 (d-d, 2H, 2- $\text{CH}_2$ , J = 11.7 Hz), 7.04 and 7.62 (d-d, 4H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ , J = 8.0 Hz), 7.66 (s, 4H,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ), 8.04 (s, 1H, OH).

**1-(4<sup>1</sup>-Chlorophenyl)-3-(4<sup>2</sup>-methylphenyl)-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-**



*3H-imidazo[1,2-a]azepinium bromide 6 f* was obtained as bromide **6a** from 2.23 g (0.01 M) of amine **3** and 2.13 g (0.01 M) of  $\alpha$ -bromo-4-methylacetophenone **4 f**. Yield 2.66 g (61 %). M. p. = 243–245 °C. Anal. Calc. for  $C_{21}H_{24}BrClN_2O$ , %: N = 6.42. Found, %: N = 6.60.  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 1.60–2.04 (m, 6H,  $-CH_2CH_2CH_2-$ ), 2.36 (s, 3H,  $CH_3$ ), 2.74 (m, 2H,  $CH_2$ ), 3.37 (m, 2H,  $CH_2$ ), 4.31 and 4.49 (d-d, 2H,  $2-CH_2$ ,  $J = 12.4$  Hz), 7.21 and 7.50 (d-d, 4H,  $C_6H_4$ ,  $J = 8.0$  Hz), 7.66 and 7.95 (d-d, 4H,  $C_6H_4$ ,  $J = 8.0$  Hz), 8.06 (s, 1H, OH).

*1-(4<sup>1</sup>-Chlorophenyl)-3-(4<sup>2</sup>-nitrophenyl)-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo[1,2-a]azepinium bromide 6 g* was obtained as bromide **6a** from 2.23 g (0.01 M) of amine **3** and 2.44 g (0.01 M) of  $\alpha$ -bromo-4-nitroacetophenone **4 g**. Yield 3.13 g (67 %). M. p. = 298–300 °C. Anal. Calc. for  $C_{20}H_{21}BrClN_3O_3$ , %: N = 9.00. Found, %: N = 9.16.  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 1.67–1.89 (m, 6H,  $-CH_2CH_2CH_2-$ ), 2.76–2.87 (m, 2H,  $CH_2$ ), 3.31–3.37 (m, 2H,  $CH_2$ ), 4.44 and 4.55 (d-d, 2H,  $2-CH_2$ ,  $J = 13.3$  Hz), 7.59–7.80 (d-d, 4H,  $C_6H_4$ ,  $J = 7.4$  Hz), 8.11–8.30 (d-d, 4H,  $C_6H_4$ ,  $J = 8.0$  Hz), 8.41 (s, 1H, OH).

*1-(4<sup>1</sup>-Chlorophenyl)-3-(benzo[1,3]dioxol-5-yl)-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo[1,2-a]azepinium bromide 6 h* was obtained as bromide **6a** from 2.23 g (0.01 M) of amine **3** and 2.43 g (0.01 M) of 1-benzo[1,3]dioxol-5-yl-2-bromomethanone **4 h**. Yield 3.77 g (81 %). M. p. = 217–218 °C. Anal. Calc. for  $C_{21}H_{22}BrClN_2O_3$ , %: N = 6.01. Found, %: N = 6.17.  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 1.64–2.05 (m, 6H,  $-CH_2CH_2CH_2-$ ), 2.76–2.83 (m, 2H,  $CH_2$ ), 3.28 (m, 2H,  $CH_2$ ), 4.38 and 4.46 (d-d, 2H,  $2-CH_2$ ,  $J = 12$  Hz), 6.04 (m, 4H,  $-OCH_2O-$ ), 6.85–7.32 (m, 3H,  $C_6H_3$ ), 7.53 and 7.90 (d-d, 4H,  $C_6H_3$ ,  $J = 8.9$  Hz), 8.09 (s, 1H, OH).

*1-(4<sup>1</sup>-Chlorophenyl)-3-(2,3-dihydrobenzo[1,4]dioxan-6-yl)-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo[1,2-a]azepinium bromide 6 i* was obtained as bromide **6a** from 2.23 g (0.01 M) of amine **3** and 2.57 g (0.01 M) of 2-bromo-1-(2,3-dihydrobenzo[1,4]dioxan-6-yl)ethanone **4 i**. Yield 3.02 g (63 %). M. p. =

194–195 °C. Anal. Calc. for  $C_{22}H_{24}BrClN_2O_4$ , %: N = 5.84. Found, %: N = 5.71.  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 1.76–1.90 (m, 6H,  $-CH_2CH_2CH_2-$ ), 3.00 (m, 2H,  $CH_2$ ), 3.24 (m, 2H,  $CH_2$ ), 4.20 (s, 2H,  $2-CH_2$ ), 4.32 (m, 4H,  $-OCH_2CH_2O-$ ), 6.95–7.11 (m, 3H,  $C_6H_3$ ), 7.65–7.77 (d-d, 4H,  $C_6H_4$ ,  $J = 8.0$  Hz), 7.95 (s, 1H, OH).

The antiviral activity of new substance (against the Flu A H1N1 California/07/2009 and Flu A H3N2 Brisbane/10/2007) was examined in Southern Research Institute – SRI, Birmingham, Alabama. The trial was conducted within the framework of an international program to search new antiviral drugs. According to agreement of collaboration between Institute of Pharmacology and Toxicology of NAMS of Ukraine and Southern Research Institute there were studied the substance **6 h** and active ingredient of Amizon (4-(N-benzyl) aminocarbonyl-1-methylpyridinium iodide). 1-(4<sup>1</sup>-Chlorophenyl)-3-(benzo[1,3]dioxol-5-yl)-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo[1,2-a]azepinium bromide was selected among other new compounds as substance that contains a natural pharmacophore – (benzo[1,3]dioxol-5-yl) for Flu A H1N1 California / 07/2009 and Flu A H3N2 Brisbane/10/2007. Amizon is an original development of SI «Institute of Pharmacology and Toxicology of NAMS of Ukraine» [18], with analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activity.

It is indicated that Amizon has interferonogenic properties [19]. It is noted that Amizon increases the body's resistance to viral infections and its widespread use in Ukraine for the treatment of influenza [20].

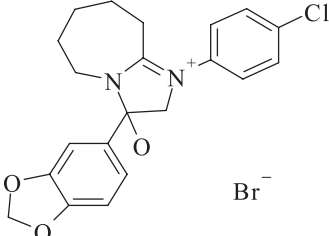
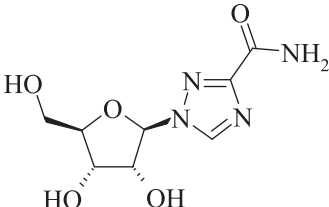
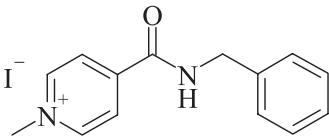
The antiviral activity was studied *in vitro*, using MDCK cell culture [21]. According to this procedure, Ribavirin is always used at the stage of primary antiviral activity screening as positive control in this test. Confluent monolayers of MDCK cells were grown in 96-well plates. Residual cultural medium was completely removed and plates were washed once with phosphate buffered saline (PBS) and then infected with influenza Flu A H1N1 or Flu A H3N2 viruses in dimethylsulfoxide (DMSO) at 0.1–10  $\mu$ g / ml. Sub-

stance **6 h** or active ingredient of Amizon, or Ribavirin (Sigma) in DMSO was added to each well at a final concentration of 0.1 to 10 µg/ml. There were cultured for 48 hours and observed in microscope to evaluate the state MDCK cell culture. Then 100 µl of 70 % acetone was added and each plate well was kept at -20 °C for 1 hour. After drying 100 µl of 0.4 % (w/v) SRB solution (sulforhodamine B) dissolved in 1 % (v/v) acetic acid. After 30 minutes of staining the SRB solution, not bound to the cells, was washed 4 times with 1 % (v/v) acetic acid. After drying, 100 µl 10 mM Tris solution (pH 10.5) was added to each well to dissolve the colored substance at the bottom of the well. Optical density was measured to assess antiviral activity. Cells treated with DMSO alone and cells treated with DMSO and the Flu A H1N1 or Flu A H3N2 viruses were used for control.

**Results and discussion.** For initial screening of the antiviral activity, each compound was tested by plaque inhibition assay in MDCK cells at a fixed concentration (against virus Flu A H1N1 California/07/2009). 1-(4<sup>1</sup>-Chlorophenyl)-3-(benzo[1,3]dioxol-5-yl)-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo[1,2-a]zepinium bromide **6 h** inhibitory effect was observed in concentration by 2.9 times less than for ribavirin, and in 15.7 times less than for Amizon. The selectivity index of compound **6 h** SI > 33 (IC<sub>50</sub> > 100 µg/ml). The selectivity index of ribavirin is higher (SI > 37), but at the same time IC<sub>50</sub> > 320 µg/ml. It should be noted, that if IC<sub>50</sub> for these two substances were the same, then the SI for compound **6h** would be three times greater. Antiviral activity of «Amizon» was lower then **6 h** and ribavirin (Table).

Table

*The Antiviral activity of 1-(4<sup>1</sup>-chlorophenyl)-3-(benzo[1,3]dioxol-5-yl)-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo[1,2-a]zepinium bromide **6 h** against FLU A H1N1 California/ 07/2009 and Flu A (H3N2) Brisbane/10/2007*

| Substance                        | Structure                                                                           | Type of virus                      | EC <sub>50</sub> ,<br>µg/ml | IC <sub>50</sub> ,<br>µg/ml | SI    |
|----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------|
| <b>6 h</b>                       |  | Flu A (H1N1)<br>California/07/2009 | 3                           | > 100                       | > 33  |
|                                  |                                                                                     | Flu A (H3N2)<br>Brisbane/10/2007   | 10                          | 61                          | 6.1   |
| Ribavirin                        |  | Flu A (H1N1)<br>California/07/2009 | 8.7                         | > 320                       | > 37  |
|                                  |                                                                                     | Flu A (H3N2)<br>Brisbane/10/2007   | 6.7                         | > 320                       | > 48  |
| Amizon<br>(active<br>ingredient) |  | Flu A (H1N1)<br>California/07/2009 | 47                          | > 100                       | > 2.1 |
|                                  |                                                                                     | Flu A (H3N2)<br>Brisbane/10/2007   | > 100                       | > 100                       | 0     |

Notes. 1. EC<sub>50</sub> (half maximal effective concentration) refers to the concentration of a drug, antibody or toxicant which induces a response halfway between the baseline and maximum after a specified exposure time. It is commonly used as a measure of a drug's potency. EC<sub>50</sub> is expressed in µg / ml. 2. IC<sub>50</sub> - is a measure of a compound's inhibition (50 % inhibition). IC<sub>50</sub> is expressed in µg / ml. 3. SI - selectivity index (IC<sub>50</sub> / EC<sub>50</sub>).

The selectivity index of **6 h** compound as to the Flu A (H3N2) Brisbane /10/2007 is 6.1 ( $IC_{50} = 61 \mu\text{g/ml}$ ). This indicator of activity is less than such of Ribavirin, but more than of the Amizon substance (Table).

Thus, the proposed new compound provides high antiviral activity against Flu A H1N1 Californiya / 07/2009 and somewhat less activity for Flu A H3N2 Brisbane /10/2007.

The data obtained substantiate the expediency of further studies of 1-(4<sup>1</sup>-chlorophenyl)-3-aryl-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3*H*-imidazo[1,2-*a*]azepinium derivatives as potential antiviral agents.

## Conclusions

1. Under *in vitro* assay on MDCK cell culture 1-(4<sup>1</sup>-Chlorophenyl)-3-(benzo[1,3]dioxol-5-yl)-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3*H*-imidazo[1,2-*a*]azepinium bromide demon-

strates high antiviral activity for Flu A H1N1 California/07/2009:  $EC_{50}$  3.0  $\mu\text{g/ml}$  (lower in 2.9 times than ribavirin) and selectivity index  $SI > 33$ .

2. 1-(4<sup>1</sup>-Chlorophenyl)-3-(benzo[1,3]dioxol-5-yl)-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3*H*-imidazo[1,2-*a*]azepinium bromide has antiviral activity for Flu A H3N2 Brisbane/10/2007:  $EC_{50}$  10  $\mu\text{g/ml}$  and selectivity index ( $SI$ )  $> 6.1$ .

3. The data obtained substantiate the expediency of further studies of derivatives of 1-(4<sup>1</sup>-chlorophenyl)-3-aryl-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3*H*-imidazo[1,2-*a*]azepinium as potential antiviral agents.

*Acknowledgement.* The authors express their appreciation to the Southern Research Institute (SRI, Birmingham, Alabama) for screening antiviral activity of compounds.

1. Shope R. E. Swine influenza. III. Filtration experiments and etiology / R. E. Shope // J. Exp Med. – 1931. – V. 54. – P. 373–385.
2. Sporadic occurrence of zoonotic swine influenza virus infections / C. C. Dacso [et al.] // J. Clin Microbio. – 1984. – V. 20. – P. 833–835.
3. The prevalence of influenza viruses in swine and the antigenic and genetic relatedness of influenza viruses from man and swine / V. S. Hinshaw [et al.] // Virology. – 1978. – V. 84. – P. 51–62.
4. Are swine workers in the United States at increased risk of infection with zoonotic influenza virus? / K. P. Myers [et al.] // Clin Infect Dis. – 2006. – V. 42. – P. 14–20.
5. Swine workers and swine influenza virus infections / G. C. Gray [et al.] // Emerg Infect Dis. – 2007. – V. 13. – P. 1871–1878.
6. Swine influenza virus infections: transmission from ill pigs to humans at a Wisconsin agricultural fair and subsequent probable person-to-person transmission / D. L. Wells [et al.] // JAMA. – 1991. – V. 265. – P. 478–481.
7. Olsen C. W. The emergence of novel swine influenza viruses in North America / C. W. Olsen // Virus Res. – 2002. – V. 85. – P. 199–210.
8. Bartlett J. G. 2009 H1N1 Influenza Bartlett J. G. Just the Facts: What's New and What to Expect / J. G. Bartlett // Published: 09/25/2009 Available at <http://www.medscape.com/>.
9. Emergence of novel swine–origin influenza A (H1N1) virus in human. Novel swine–origin influenza A (H1N1) virus investigation team // The New England Journal of Medicine. – 2009. – V. 10. – P. 1–10.
10. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. Update: drug susceptibility of swine–origin influenza A (H1N1) viruses, April 2009. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). – 2009. – V. 58. – P. 433–435.
11. FDA. Antiviral Drug Advisory Committee. Gaithersburg: Centre for Drug Evaluation and Research 2002; 1–266.
12. Hayden F. WHO Guidelines on the Use of Vaccines and Antivirals during Influenza. Annex 5–Considerations for the Use of Antivirals during an Influenza pandemic, Geneva, 2–4 October, 2002.
13. Філогенетичний аналіз вірусів грипу людей А(Н3N2), виділених в Україні в епідемічному сезоні 2011–2012 років / Л. В. Лейбенко, В. П. Поліщук, Л. В. Радченко, А. П. Міроненко // Мікробіологія і біотехнологія. – 2013. – № 1. – С. 37–47.
14. Синтез і протівірусна активність похідних 1-(2,3-дигідробензо[1,4]діоксан-6-іл)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7,9-Н-імідазо[1,2-*a*]азепінію та субстанції Амізону / С. А. Демченко, Т. А. Бухтіарова, Л. С. Бобкова, А. М. Демченко // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2018. – № 1 (57). – С. 26–31.
15. 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.

16. Laufer S. A. Regiospecific and highly flexible synthesis of 1,4,5-trisubstituted 2-sulfanylimidazoles from structurally diverse ethanone precursors / S. A. Laufer, D. R. J. Hauser, A. J. Liedtke // *Synthesis*. – 2008. – № 2. – P. 253–266. doi: 10.1055/s-2007-1000852.
17. Development of new highly potent imidazo[1,2-b]pyridazines targeting *Toxoplasma gondii* calcium-dependent protein kinase 1 / Moine, Esprance; Dimier-Poisson, Isabelle; Enguehard-Gueiffier, Cécile [et al.] // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2015. – V. 105. – P. 80–105.
18. Патент на винахід UA 6752. Опубл. 29.12.1994. Бюл. № 8. Трінус Ф. П., Даниленко В.П., Бухтіарова Т.А., Рибалко С.Л., Аркадьєв В.Г., Клебанов Б.М., Максимов Ю.М., Фролов А.Ф., Портнягіна В.О., Кузьменко І.Й., Голлінг Е. В., Лиманський Ю.П., Овруцький В.М., Губський Ю.І., Чекман І.С., Жила В.А., Тарнавська М.-Л.І. «4-(п-бензил)амінокарбоніл-1-метилпіридиній йодид – знеболюючий засіб з інтерферогенними, протизапальними та жарознижжучими властивостями».
19. Эффективность Амизона в лечении и профилактике вирусных инфекций (к 10-летию применения препарата в клинической практике). Режим доступа: [http://farmak.ua/publication/effektivnost-amizona\\_v\\_lechenii\\_i\\_profilaktike\\_virusnyh\\_infektsiy\\_k\\_10-etiyyu\\_primeneniya\\_preparata\\_v\\_klinicheskoy\\_praktike](http://farmak.ua/publication/effektivnost-amizona_v_lechenii_i_profilaktike_virusnyh_infektsiy_k_10-etiyyu_primeneniya_preparata_v_klinicheskoy_praktike)
20. Нормативно-директивні документи МОЗ України, Амізон. – Режим доступу : <http://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=20298>
21. Standard Operating Procedure for In Vitro Antiviral Screening Institute for Antiviral Research, Utah State University. Available at [http://arbidol.org/sidwell/NIH\\_SOP\\_03-2006.pdf](http://arbidol.org/sidwell/NIH_SOP_03-2006.pdf)

**S. A. Demchenko, O. E. Yadlovskiy, L. S. Bobkova, A. M. Demchenko**  
**Synthesis and antiviral activity of derivatives of 1-(4<sup>1</sup>-chlorophenyl)-3-aryl-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo[1,2-a]azepinium for Flu A H1N1 California/07/2009 and Flu A H3N2 Brisbane/10/2007**

The problem of acute respiratory viral infections (ARVIs) and flu therapy, especially influenza caused by virus H1N1, because of the prevalence of disease incidence and complications is one of the urgent medical and social problems.

According to the WHO, in the 2008–2009 season in most countries of the European region, the Brisbane / 10/2007 strain (H3N2) was the predominant epidemic agent. In Ukraine, the main cause of the flu epidemic in the 2011–2012 seasons was the strain of the influenza A virus (H3N2), accounting for 99 % of all isolated influenza viruses these seasons.

*The aim of the study* – to synthesize the derivatives of 1-(4<sup>1</sup>-chlorophenyl)-3-aryl-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo [1,2-a]azepinium bromides and to study the antiviral activity of 1-(4<sup>1</sup>-chlorophenyl)-3-(benzo[1,3]dioxol-5-yl)-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo[1,2-a]azepinium bromide for Flu A H1N1 California/07/2009 and Flu A H3N2 Brisbane /10/2007 at primary pharmacological screening stage.

By the reaction of (4<sup>1</sup>-chlorophenyl)-4,5,6,7-tetrahydro-3H-azepin-2-yl)amine with substituted α-bromoacetophenones 1-(4<sup>1</sup>-chlorophenyl)-3-aryl-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo[1,2-a]azepinium bromides were obtained. The antiviral activity of 1-(4<sup>1</sup>-chlorophenyl)-3-(benzo[1,3]dioxol-5-yl)-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo[1,2-a]azepinium bromide and active substance of Amizon was determined *in vitro* on MDCK cell culture with Ribavirin as positive control in this test.

It is shown that the analyzed substances have antiviral activity against the virus Flu A H1N1 California/07/2009 and virus Flu A H3N2 Brisbane/10/2007 in test *in vitro* on cell culture MDCK. The results obtained substantiate the expediency of further studies of 1-(4<sup>1</sup>-chlorophenyl)-3-aryl-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo[1,2-a] azepinium based compounds as potential antiviral agents.

**Key words:** antiviral activity, Ribavirin, Flu A H1N1 California/07/2009 virus, Flu A H3N2 Brisbane/10/2007 virus, Amizon, 1-(4<sup>1</sup>-chlorophenyl)-3-aryl-3-hydroxy-2,5,6,7,8,9-hexahydro-3H-imidazo[1,2-a]azepinium based compounds

**С. А. Демченко, О. Є. Ядловський, Л. С. Бобкова, А. М. Демченко**  
**Синтез і протівірусна активність похідних 1-(4<sup>1</sup>-хлорофеніл)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3H-імідазо[1,2-a]азепінію відносно вірусів грипу А H1N1 та H3N2**

Проблема лікування гострих респіраторних вірусних інфекцій (ГРВІ) і грипу, особливо грипу, викликаного вірусами H1N1 і H3N2, з огляду на поширеність захворювань, тяжкість перебігу та ускладнення, є однією з актуальних медичних та соціальних проблем сучасності.

За даними ВООЗ, у сезоні 2008–2009 років у більшості країн Європейського регіону переважним збудником епідемічного підйому був штам Brisbane/10/2007 (H3N2). В Україні головним збудником епідемії грипу в сезоні 2011–2012 років був штам вірусу грипу А(H3N2), який склав 99 % усіх виділених вірусів грипу в тому сезоні.

**Мета дослідження** – синтезувати та вивчити протівірусну активність похідних бромідів 1-(4<sup>1</sup>-хлорофеніл)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3H-імідазо[1,2-a]азепінію на етапі первинного фармакологічного скринінгу.

Взаємодією (4'-хлорофеніл)-4,5,6,7-тетрагідро-3Н-азепін-2-іл)аміну з заміщеними α-бром-ацетофенонами отримані броміди 1-(4'-хлорофеніл)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3Н-імідазо[1,2-а]азепінію. Оцінено протівірусну активність броміду 1-(4'-хлорофеніл)-3-(бензо[1,3]діоксол-5-іл)-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3Н-імідазо[1,2-а]азепінію та субстанції препарату «Амизон» *in vitro* на культурі клітини MDCK з рибавирином як позитивним контролем у цьому тесті.

Показано, що досліджувані речовини мають протівірусну активність відносно вірусів Flu A H1N1 California/07/2009 та Flu A H3N2 Brisbane /10/2007 в тесті *in vitro* на культурі клітини MDCK. Отримані дані обґрунтовують доцільність подальшого вивчення похідних 1-(4'-хлорофеніл)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3Н-імідазо[1,2-а]азепінію як потенційних протівірусних засобів.

**Ключові слова:** протівірусна активність, рибавирин, вірус Flu A H1N1 California/07/ 2009, вірус Flu A H3N2 Brisbane/10/2007, Амизон, похідні 1-(4'-хлорофеніл)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3Н-імідазо[1,2-а]азепінію

**С. А. Демченко, О. Е. Ядловский, Л. С. Бобкова, А. М. Демченко**

### **Синтез и протівовирусная активність производных 1-(4'-хлорфенил)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3Н-имидазо[1,2-а]азепиния по отношению к вирусам гриппа А H1N1 и H3N2**

Проблема лечения острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) и гриппа, особенно гриппа, вызванного вирусами H1N1 или H3N2, из-за распространенности заболеваний, тяжести протекания и осложнений является одной из актуальнейших медицинских и социальных проблем современности.

По данным ВООЗ, в сезоне 2008–2009 годов в большинстве стран Европейского региона преобладающим возбудителем эпидемии был штамм Brisbane/10/2007 (H3N2). В Украине основным возбудителем эпидемии гриппа в сезоне 2011–2012 годов также был штамм вируса гриппа А (H3N2), который составил 99 % от всех выделенных видов вирусов в том сезоне.

**Цель исследования** – синтезировать, изучить протівовирусную активність производных бромидов 1-(4'-хлорфенил)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3Н-имидазо[1,2-а]азепиния по отношению к вирусам Flu A H1N1 California/07/ 2009 и Flu A H3N2 Brisbane/10/2007 на этапе первичного фармакологического скрининга.

Взаимодействием (4'-хлорфенил)-4,5,6,7-тетрагідро-3Н-азепин-2-ил) амина с замещенными α-бромацетофенонами получены бромиды 1-(4'-хлорфенил)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3Н-имидазо[1,2-а]азепиния. Оценена протівовирусная активність бромидов 1-(4'-хлорфенил)-3-(бензо[1,3] диоксол-5-ил)-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3Н-имидазо[1,2-а]азепиния и субстанции препарата «Амизон» *in vitro* на культуре клеток MDCK с рибавирином в качестве позитивно-го контроля.

Показано, что исследованные соединения проявляют протівовирусное действие по отношению к вирусам Flu A H1N1 California/07/ 2009 и Flu A H3N2 Brisbane/10/2007 в тесте *in vitro* на культуре клеток MDCK. Полученные данные обосновывают целесообразность дальнейшего изучения производных 1-(4'-хлорфенил)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3Н-имидазо[1,2-а]азепиния в качестве потенциальных протівовирусных средств.

**Ключевые слова:** протівовирусная активність, рибавирин, вирус Flu A H1N1 California/07/ 2009, вирус Flu A H3N2 Brisbane/10/2007, Амизон, производные 1-(4'-хлорфенил)-3-арил-3-гідрокси-2,5,6,7,8,9-гексагідро-3Н-имидазо[1,2-а]азепиния

Надійшла: 21 листопада 2018 р.

**Контактна особа:** Демченко А. М., ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 94 18.



Д. В. Литкін

## Вплив інгібіторів ароматази третього покоління на постпрандіальну глікемію та вміст фруктозаміну в сирійських хом'ячків на тлі експериментального метаболічного синдрому

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

*Ключові слова:* екземестан, летрозол, анастрозол, постпрандіальна глікемія, фруктозамін, метаболічний синдром

Сучасне визначення метаболічного синдрому (МС) ідентифікує його як комплекс декількох патологічних станів, серед яких особливо виділяють центральне ожиріння, кардіоваскулярні захворювання, атерогенну дисліпідемію та стійку інсулінорезистентність (у багатьох випадках разом з підвищенням рівня глюкози в плазмі крові натщесерце), що з часом перетворюється на цукровий діабет (ЦД) 2 типу [1]. За даними International Diabetes Federation майже 25 % дорослого населення світу страждають на МС [2]. Майже в половині всіх осіб, хворих на МС, спостерігається підвищення базального вмісту глюкози (47,1 %), а решта поділяються на осіб з нормальною толерантністю до глюкози (14,5 %), з порушенням толерантності до глюкози (4,5 %) і з ЦД (33,9 %) [3].

У більшості випадків у разі МС реєструється дисбаланс статевих гормонів, асоційований зі зміною активності ароматази, що також впливає на маніфестацію клінічних проявів МС (ожиріння, дисліпідемія, підвищена глюкоза натщесерце, інсулінорезистентність) [4, 5]. У ході посилення росту епідермальної та вісцеральної жирової тканини за МС збільшується її ароматазна активність, що призводить до збільшення продукції естрогенів. У свою чергу, естрогени в жировій тканині посилюють сигнальний шлях, відповідальний за проліферацію й реплікацію преадипоцитів, стимулюють ріст жирової тканини та призводять до посилення

ароматизації андрогенів [5]. Дисбаланс статевих гормонів зі збільшенням плазматичного рівня естрогенів асоційований з гіперглікемією й ЦД; негативно впливає на вуглеводний обмін, зменшує чутливість клітин до інсуліну через зниження експресії інсулінзалежного транспортеру глюкози GLUT4 [6]. Таким чином, була висунута гіпотеза щодо можливості фармакокорекції експериментального МС інгібіторами ароматази. Слід також враховувати, що рівень й обмін естрогенів і деякі особливості естрогенового сигналіngu дещо залежить від статі [7], що вплинуло на дизайн даного дослідження.

У багатьох країнах МС та супутні патологічні стани розглядають як маркери преддіабетичного статусу, що передбачає доцільність проведення у таких пацієнтів перорального глюкозотолерантного тесту (ПГТТ) для визначення інсулінорезистентності або ЦД 2 типу [8, 9]. У свою чергу, МС безпосередньо корелює зі збільшеними концентраціями глюкози в крові під час виконання ПГТТ, що пов'язано з розладами як постпрандіальної, так і базальної глікемії [10]. Крім того, постійне або транзиторне збільшення концентрації глюкози з часом виявляється посиленням перебігу реакцій неферментного глікозилювання білків, що є одним з факторів органотоксичності за МС і ЦД [11].

Сьогодні останні дані акцентують увагу на ймовірному взаємозв'язку між патологічними компонентами МС, гормональним дисбалансом і збільшенням ароматазної активності жирової тканини [12, 13]. Мета дослідження – вивчення впливу інгібіторів ароматази третього покоління на окремі показни-

ки вуглеводного обміну на тлі експериментального МС у самців і самок сирійських хом'ячків, а саме на перебіг постпрандіальної глікемії та вміст сироваткового фруктозаміну.

**Матеріали та методи.** Даний фрагмент дослідження репрезентує результати, отримані на 100 аутбредних сирійських хом'ячках (*Mesocricetus auratus*) обох статей віком 2,5 міс на момент початку експерименту, масою 90–130 г. Кожен з етапів дослідження проводили з дотриманням принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та з іншою науковою метою (Страсбург, 1986 р.) [14]. МС у хом'ячків індукували висококалорійною дієтою, багатою на жири та фруктозу, впродовж 6 тижнів. Енергетична цінність модельного раціону в середньому складала 490 Ккал/100 г, приблизно 37 % з якої забезпечували жири, а 29 % – фруктоза [15–17].

Кожний статевий кластер експериментальних тварин поділяли на 5 рівномірних груп по 10 тварин у кожній наступним чином: група № 1 – інтактні тварини (ІК); група № 2 – тварини з експериментальним МС (КП); група № 3 – тварини з експериментальним МС, що отримували екземестан у дозі 3,09 мг/кг; група № 4 – тварини з експериментальним МС, що отримували летрозол у дозі 0,31 мг/кг; група № 5 – тварини з експериментальним МС, що отримували анастрозол у дозі 0,13 мг/кг.

Як досліджувані тест-зразки використовували інгібітори ароматази третього покоління, що зареєстровані на території України: стероїдний інгібітор незворотної дії екземестан («Екземестан-ВІСТА®», S. C. Sindan-Pharma S. R. L., Румунія) і триазольні інгібітори зворотної дії летрозол («Летромара®», ПАТ «Фармак», Україна) та анастрозол («Анастрозол САНДОЗ®», Salutas Pharma GmbH., Німеччина). Тварини починали отримувати досліджувані препарати через 6 тижнів від початку експерименту. Засоби вводили внутрішньошлунково у вигляді дисперсії з водою очищеною (кожну наважку розчиняли в 1 мл розчинника) за допомогою спеціального зонда щодня впро-

довж 21 доби 1 раз на день. Добові дози препаратів для тварин (Animal Equivalent Dose) були перераховані з середньотерапевтичних добових доз людини й міжвидової різниці маси та площі поверхні тіла [18].

Визначення характеру постпрандіальної глікемії в хом'ячків проводили з застосуванням перорального глюкозотолерантного тесту за 48 год до проведення евтаназії. Уміст глюкози визначали в цільній крові натщесерце та через 30, 60, 90 і 120 хв після внутрішньошлункового введення розчину глюкози в дозі 3 г/кг. Вплив препаратів на характер постпрандіальної глікемії оцінювали, виходячи зі ступеня зниження загальної площі під кривою «концентрація глюкози – час», яку було розраховано за сумою площі трапецій в отриманих інтервалах часу спостереження [19].

Евтаназію експериментальних тварин проводили наприкінці 9 тижня експерименту, після тритижневого періоду лікування (або еквівалентного часу очікування в разі груп ІК та КП), через 24 год після останнього введення препаратів. Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під хлороформним наркозом і відбирали кров для отримання сироватки.

Для оцінки характеру постпрандіальної глікемії в динаміці виконували ПГТТ. Рівень глюкози визначали в цільній крові (отриманої з капілярів ясен тварин) електрохімічним експрес-методом за допомогою глюкометра One Touch Ultra Easy® (Life Scan, США) з застосуванням тест-смужок One Touch Ultra® (Life Scan, США) згідно з інструкцією до застосування.

Для оцінки постійної й транзитornoї глікемії впродовж періоду застосування досліджуваних засобів визначали рівень фруктозаміну в сироватці крові, відібраної після декапітації, фотометричним методом за допомогою стандартного набору реактивів «ФРУКТОЗАМІН-кін. «СпЛ»» (ТОВ «СпайнЛаб», Україна) згідно з інструкцією на фотоелектроколометрі КФК-3 за довжини хвилі 540 нм.

Статистичну обробку результатів виконано з використанням базового пакета програм STATISTICA 7.0 та

MS Excel 2007 з розрахунком середнього значення, стандартної похибки середнього та довірчого інтервалу. Для з'ясування міжгрупових відмінностей використовували непараметричні методи аналізу (U-критерій Манна-Вітні) [20].

**Результати та їх обговорення.** Під впливом модельної патології в хом'ячків обох статей зростав рівень базальної та постпрандіальної глікемії, що в підсумку виражалось збільшенням площі під глікемічною кривою. Крім того, в цих тварин значно збільшувався рівень фруктозаміну, що свідчить про тривалу (2–3 тижні) гіперглікемію. У процесі визначення ступеня глікозилювання білків сироватки крові було відзначено, що модельна діета призводить до збільшення рівня сироваткового фруктозаміну на 34,5–39,8 %, що більш ймовірно вказує на постійний високий рівень глюкози в крові, ніж на тимчасові явища гіперглікемії.

У самців хом'ячків на тлі застосування препаратів екземестан і летрозол вихідні рівні глюкози майже не відрізнялися від інтактного контролю ( $p > 0,05$ ), а також відмічалось значне вірогідне зменшення постпрандіальних концентрацій глюкози на всіх етапах ПГТТ порівняно з КП ( $p \leq 0,05$ ); площа під глікемічною кривою в цих тварин зменшувалася на 28,1 і 28,5 % відповідно (рис. 1, таблиця). Однак на графі-

ках концентрації глюкози під час ПГТТ у цих групах спостерігали збільшення піка концентрації глюкози на 30 хв і помірне уповільнення його зменшення порівняно з ІК, що може вказувати на залишкове явище резистентності клітин до інсуліну. На графіку постпрандіальної глікемії самців хом'ячків, що отримували анастрозол, спостерігали відрізок схожий на плато, проте пік і більшість поточних концентрацій глюкози були вірогідно меншими за КП ( $p \leq 0,05$ ); це може свідчити про помірне покращання роботи інсулярного апарату та зменшення толерантності клітин до глюкози; показник площі під глікемічною кривою зменшувався на 14,8 %. Разом з цим було показано, що препарат екземестан був здатний вірогідно зменшувати вміст фруктозаміну в сироватці крові на 16,9 %, летрозол – на 21,8 %, анастрозол – на 14,5 % порівняно з групою КП, що може вказувати на помірну поступову корекцію гіперглікемії впродовж періоду застосування досліджуваних лікарських засобів (рис. 2).

За проведення тесту глюкозного навантаження в самок хом'ячків було продемонстровано, що всі досліджувані препарати ефективно зменшували показники глікемії впродовж усього часу спостереження порівняно з відповідними показниками в групі КП ( $p \leq 0,05$ ), що вказує на значне зменшення

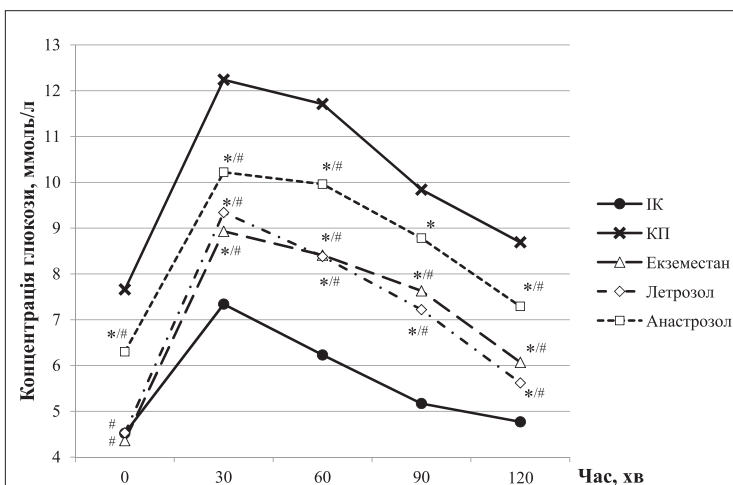


Рис. 1. Динаміка рівня глюкози в крові самців хом'ячків під час перорального глюкозотолерантного тесту впродовж 120 хвилин

Примітка. Тут і на рис. 2–4: \*відмінності вірогідні порівняно з тваринами групи інтактного контролю ( $p \leq 0,05$ ); #відмінності вірогідні порівняно з тваринами групи контрольної патології ( $p \leq 0,05$ ).

**Загальна площа під глікемічною кривою (AUC) на графіку динаміки рівня глюкози під час перорального глюкозотолерантного тесту в крові хом'ячків різної статі ( $M \pm m$ )**

| Експериментальна група            | Площа під кривою, ммоль/л* 120 хв |                 |
|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------|
|                                   | Самці                             | Самки           |
| Інтактний контроль                | 701,6 ± 27,0                      | 753,8 ± 37,3    |
| Контрольна патологія              | 1259,0 ± 65,3*                    | 1358,4 ± 71,6*  |
| Контрольна патологія + Екземестан | 905,6 ± 35,6*/#                   | 876,8 ± 59,8#   |
| Контрольна патологія + Летрозол   | 900,5 ± 37,7*/#                   | 976,4 ± 61,5*/# |
| Контрольна патологія + Анастрозол | 1072,7 ± 58,9*/#                  | 916,7 ± 44,7*/# |

Примітка. \*Відмінності вірогідні порівняно з тваринами групи інтактного контролю ( $p \leq 0,05$ );

#відмінності вірогідні порівняно з тваринами групи контрольної патології ( $p \leq 0,05$ ).

проявів толерантності до глюкози в цих тварин під впливом інгібіторів ароматази (рис. 3). Найбільший ефект відмічався в групі екземестану, де практично всі показники концентрації глюкози вірогідно не відрізнялися від інтактних ( $p > 0,05$ ), окрім пікової концентрації на 30 хв ПГТТ, яка була дещо більшою, що може вказувати на незначні залишкові прояви інсулінорезистентності. Відповідно до цього препарати вірогідно зменшували загальну площу під глікемічною кривою: екземестан – на 34,7 %, летрозол – на 28,1 % й анастрозол – на 32,5 % (таблиця). У тварин жіночої статі досліджувані інгібітори ароматази виявляли дещо менший протиглікозилуючий ефект, що може бути пов'язано зі зміною балансу естрогени/андрогени в протилежний бік під дією препаратів. У самок, на відміну від самців, найбільшу ефективність продемонстрував препарат анастрозол, що зменшував уміст фруктоза-

міну в крові на 12,6 %, тим часом як екземестан і летрозол були здатні зменшувати цей показник лише на 9,0 і 10,9 % відповідно ( $p \leq 0,05$  проти КП; рис. 4).

Таким чином, у ході ПГТТ було виявлено, що інгібітори ароматази здатні покращувати перебіг постпрандіальної глікемії в хом'ячків різної статі з експериментально індукованим МС, зменшувати прояви інсулінорезистентності та толерантності клітин до глюкози. Оскільки не має доказів, що інгібітори ароматази чинять прямий антигіперглікемічний ефект, цілком можливо, що отримані дані пов'язані з їхнім впливом на ароматазну активність жирової тканини та нормалізацією ліпідного й вуглеводного обмінів. Враховуючи, що збільшення ароматазної активності жирової тканини та гіперестрогенемія є факторами ризику маніфестації компонентів МС як у чоловіків, так і в жінок [5], наявність

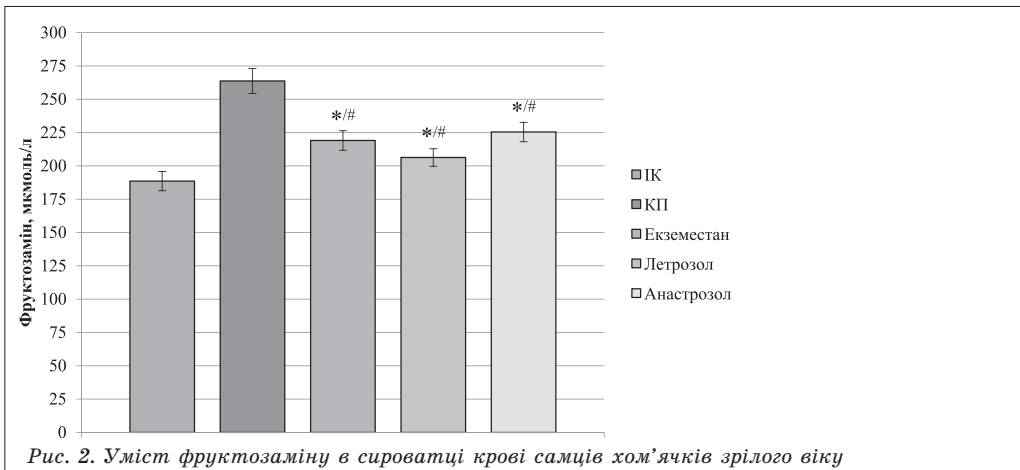
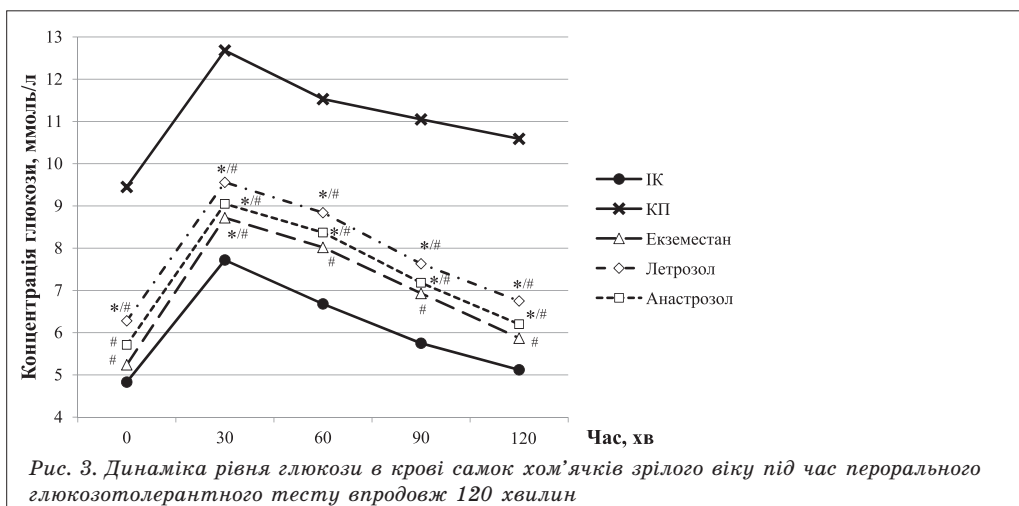


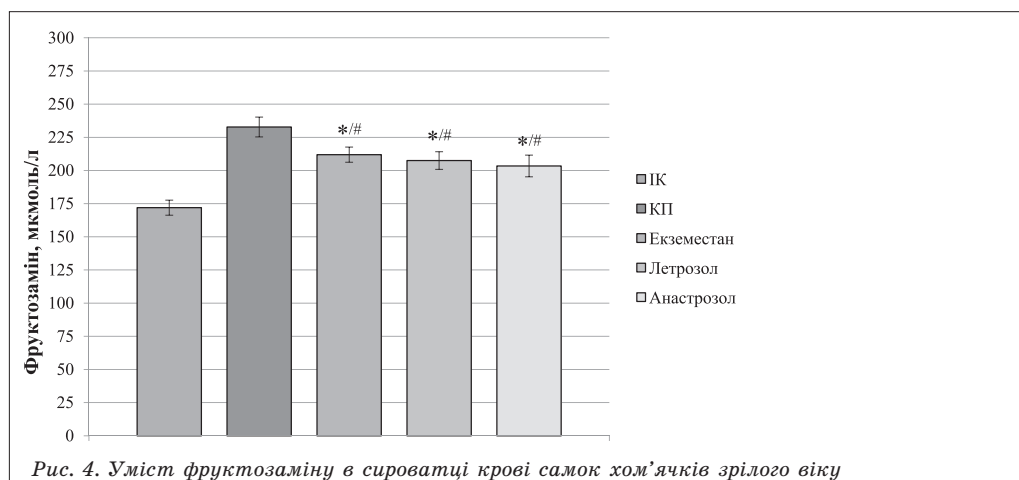
Рис. 2. Уміст фруктозаміну в сироватці крові самців хом'ячків зрілого віку



ефекту в дослідних групах обох статей також вказує на логічність сформованої гіпотези. У першу чергу, на це вказує здатність досліджуваних препаратів у всіх випадках статистично значуще зменшувати пікові концентрації глюкози порівняно з відповідними в групі КП. Через це всі досліджувані препарати зменшували показник площі під глікемічною кривою на графіках динаміки рівня глюкози в ПГТТ. За результатами дослідження ступеня глікозилювання білків сироватки крові хом'ячків можна зробити висновок, що інгібітори ароматази здатні ефективно зменшувати рівень фруктозаміну в сироватці крові в тварин на тлі аліментарно індукованого МС, що віддзеркалює зменшення постійного рівня глюкози впродовж періоду лікування. Враховуючи те, що вміст фруктозаміну як у самок, так і в самців після курсового

застосування будь-якого з досліджуваних засобів не досягав рівня інтактних показників, доцільно припустити, що зменшення рівня глюкози відбувалося поступово разом з корекцією проявів експериментального МС, що виключає наявність значної прямої антиглікозилюючої дії.

Слід зазначити, що в самок, на відміну від самців хом'ячків, на фоні застосування інгібіторів ароматази більш виразне зменшення площі під глікемічною кривою супроводжувалося менш значним зниженням сироваткового фруктозаміну. Така реакція може мати місце в разі гіперкомпенсації інсулярного апарату, коли у відповідь на вживання глюкози відбувається більше вивільнення інсуліну задля нівелювання інсулінорезистентності та толерантності клітин до глюкози, проте фонові базальні концентрації глюкози





є дещо більшою [21]. Також про це свідчать показники глюкози натщесерце в самців і в самок, що отримували препарати екземестан і летрозол.

Таким чином, інгібітори ароматази можуть стати перспективними лікарськими засобами для фармакокорекції порушень вуглеводного обміну на тлі МС зі стійкою гіперестрогенемією та потребують подальших доклінічних і клінічних досліджень для розширення показань до застосування.

## Висновки

Результати дослідження вуглеводного обміну демонструють, що інгібітори ароматази здатні коригувати базальну та постпрандіальну гіперглікемію, зменшувати прояви толерантності клітин до глюкози, зменшувати вміст продуктів неферментативного глікозилювання білків сироватки. Такий вплив досліджуваних препаратів на вуглеводний обмін може

бути пов'язаний з пригніченням ароматазної активності жирової тканини.

1. Застосування препарату екземестан у дозі 3,09 мг/кг сприяє зменшенню площі під глікемічною кривою на 28,1 % і вмісту сироваткового фруктозаміну на 16,9 % у самців хом'ячків з експериментальним МС і на 34,7 і 9,0 % відповідно – у самок.
2. Застосування препарату летрозол у дозі 0,31 мг/кг сприяє зменшенню площі під глікемічною кривою на 28,5 % і вмісту сироваткового фруктозаміну на 21,8 % у самців хом'ячків з експериментальним МС і на 28,1 і 10,9% відповідно – у самок.
3. Застосування препарату анастрозол у дозі 0,13 мг/кг сприяє зменшенню площі під глікемічною кривою на 14,8 % і вмісту сироваткового фруктозаміну на 14,5 % у самців хом'ячків з експериментальним МС і на 32,5 і 12,6 % відповідно у самок.

1. Drug repurposing: *In-vitro* anti-glycation properties of 18 common drugs / S. Rasheed, S. S. Sánchez, S. Yousuf [et al.] // PLoS ONE. – 2018. – V. 13 (1). – e0190509.
2. Metabolic syndrome: pathophysiology, management, and modulation by natural compounds / Y. Rochlani, N. V. Pothineni, S. Kovelamudi [et al.] // Therapeutic Advances in Cardiovascular Disease. – 2017. – № 1 (8). – P. 215–225.
3. Charles M. A. Metabolic syndrome and hyperglycemia: congruence and divergence / M. A. Charles, P. B. Landsman, S. M. Grundy // American Journal of Cardiology. – 2006. – № 98 (7). – P. 982–985.
4. Relation of aging and sex hormones to metabolic syndrome and cardiovascular disease / V. Guarner-Lans, M. E. Rubio-Ruiz, I. Pérez-Torres [et al.] // Experimental Gerontology. – 2011. – № 46 (7). – P. 517–523.
5. Kim C. Endogenous sex hormones, metabolic syndrome, and diabetes in men and women / C. Kim, J. B. Halter // Current Cardiology Reports. – 2014. – № 16 (4). – P. 467.
6. Imbalance in sex hormone levels exacerbates diabetic renal disease / Q. Xu, C. C. Wells, J. H. Garman [et al.] // Hypertension. – 2008. – № 51 (4). – P. 1218–1224.
7. The many faces of estrogen signaling / P. Vrtačnik, B. Ostanek, S. Mencej-Bedrač [et al.] // Biochimica medica. – 2014. – № 24 (3). – P. 329–342.
8. Metabolic syndrome and the development of type 2 diabetes among professionals living in Beijing / P. Zeng, X. Zhu, Y. Zhang [et al.] // Diabetes Research and Clinical Practice. – 2011. – № 94. – P. 299–304.
9. Metabolic syndrome and its components as predictors of incident type 2 diabetes mellitus in an Aboriginal community / S. H. Ley, S. B. Harris, M. Mamakeesick [et al.] // Canadian Medical Association Journal. – 2009. – № 180. – P. 617–624.
10. Metabolic syndrome and the early detection of impaired glucose tolerance among professionals living in Beijing, China: a cross sectional study / P. Zeng, X. Zhu, Y. Zhang [et al.] // Diabetology & metabolic syndrome. – 2013. – V. 5 (1). – P. 65.
11. Using glycosylated hemoglobin to define the metabolic syndrome in United States adults / K. L. Ong, A. W. Tso, K. S. Lam [et al.] // Diabetes care. – 2010. – № 33 (8). – P. 1856–8.
12. Aromatase, breast cancer and obesity: a complex interaction / S. E. Bulun, D. Chen, I. Moy [et al.] // Trends in Endocrinology and Metabolism. – 2012. – № 23. – P. 83–89.
13. Lytkin D. V. The effect of third-generation aromatase inhibitors on aromatase activity in visceral adipose tissue / D. V. Lytkin, A. L. Zagayko, T. O. Briukhanova // Regulatory Mechanisms in Biosystems. – 2018. – № 9 (2). – P. 209–215.
14. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg, 1986. – 53 p.
15. The high-fat/high fructose hamster as an animal model for niacin's biological activities in humans / B. A. Connolly, D. P. O'Connell, S. Lamon-Fava [et al.] // Metabolism. – 2013. – V. 62 (12). – P. 1840–9.

16. Obetic cholic acid raises LDL-cholesterol and reduces HDL-cholesterol in the Diet-Induced NASH (DIN) hamster model / F. Briand, E. Brousseau, M. Quinsat [et al.] // *European Journal of Pharmacology*. – 2018. – № 5 (818). – P. 449–456.
17. Animal models of metabolic syndrome: a review / S. K. Wong, K. Y. Chin, F. H. Suhaimi [et al.] // *Nutrition & Metabolism*. – 2016. – V. 13. – P. 65.
18. Nair A. B. A simple practice guide for dose conversion between animals and human / A. B. Nair, S. Jacob // *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*. – 2016. – V. 7 (2). – P. 27–31.
19. Jorgensen M. S. Calculation of glucose dose for intraperitoneal glucose tolerance tests in lean and obese mice / M. S. Jorgensen, K. S. Tornqvist, H. Hvid // *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. – 2017. – V. 56 (1). – P. 95–97.
20. Manja V. Principles of use of biostatistics in research / V. Manja, S. Lakshminrusimha // *Neo Reviews*. – 2014. – V.15 (4). – P. 133–150.
21. Araújo T. G. Insulin-resistance-associated compensatory mechanisms of pancreatic Betacells: a current opinion / T. G. Araújo, A. G. Oliveira, M. J. Saad // *Frontiers in endocrinology*. – 2013. – № 4. – P. 146.

#### **Д. В. Литкін**

### **Вплив інгібіторів ароматази третього покоління на постпрандіальну глікемію та вміст фруктозаміну в сирійських хом'ячків на тлі експериментального метаболічного синдрому**

Важливим компонентом перебігу метаболічного синдрому є дисбаланс статевих гормонів, що є наслідком посиленої активності ароматази жирової тканини. Разом з цим на тлі метаболічного синдрому досить часто виникають розлади вуглеводного обміну, що зумовлені транзиторним підвищенням глюкози після їжі та толерантністю клітин до глюкози, що також корелює зі збільшенням активності ароматази. Ряд досліджень демонструє, що інгібітори ароматази потенційно здатні поліпшувати перебіг метаболічного синдрому та інших патологій обміну.

*Мета дослідження* – вивчити вплив інгібіторів ароматази третього покоління на перебіг постпрандіальної глікемії та вміст сироваткового фруктозаміну на тлі експериментального метаболічного синдрому в хом'ячків різної статі.

Дослідження проводили на зрілих сирійських хом'ячках різної статі, в яких викликали експериментальний дієтоіндукований метаболічний синдром. Визначення характеру постпрандіальної глікемії в хом'ячків проводили з застосуванням глюкозотолерантного тесту; рівень глюкози в крові визначали електрохімічним експрес-методом. Оцінку ступеня глікозилювання білків проводили за вмістом фруктозаміну, що вимірювали фотометричним методом.

Дослідження продемонстрували, що інгібітори ароматази третього покоління здатні зменшувати загальну площу під кривою «концентрація глюкози – час» на 14,8–34,7 %, а вміст сироваткового фруктозаміну – на 9,0–21,8 % у хом'ячків різної статі з метаболічним синдромом.

Таким чином, курсове застосування (протягом 21 доби) цих засобів приводить до зменшення базальної та постпрандіальної глікемії в тварин упродовж тривалого часу. Отримані дані вказують, що інгібітори ароматази можуть стати перспективними засобами для корекції розладів вуглеводного обміну за метаболічного синдрому.

*Ключові слова:* екземестан, летрозол, анастрозол, постпрандіальна глікемія, фруктозамін, метаболічний синдром

#### **Д. В. Лыткин**

### **Влияние ингибиторов ароматазы третьего поколения на постпрандиальную гликемию и содержание фруктозамина у сирийских хомячков на фоне экспериментального метаболического синдрома**

Важным компонентом метаболического синдрома является дисбаланс половых гормонов вследствие усиленной активности ароматазы жировой ткани. На фоне метаболического синдрома достаточно часто возникают нарушения углеводного обмена, обусловленные транзиторным повышением глюкозы после еды и толерантностью клеток к глюкозе, что также коррелирует с увеличением активности ароматазы. Ряд исследований показывает, что ингибиторы ароматазы потенциально способны улучшать течение метаболического синдрома и других патологий обмена.

*Цель исследования* – изучить влияние ингибиторов ароматазы третьего поколения на течение постпрандиальной гликемии и содержание сывороточного фруктозамина на фоне экспериментального метаболического синдрома у хомячков разного пола.

Исследования проводили на зрелых сирийских хомячках разного пола с экспериментальным диетиндуцированным метаболическим синдромом. Определение характера постпрандиальной гликемии у хомячков проводили с применением глюкозотолерантного теста; уровень глюкозы в крови определяли электрохимическим экспрес-методом. Оценку степени гликозилирования белков проводили по содержанию сывороточного фруктозамина, который определяли фотометрическим методом.

---

Исследования показали, что ингибиторы ароматазы третьего поколения способны уменьшать общую площадь под кривой «концентрация глюкозы – время» на 14,8–34,7 %, а содержание сыровоточного фруктозамина на 9,0–21,8 % у хомячков разного пола с метаболическим синдромом.

Таким образом, курсовое применение (на протяжении 21 суток) этих средств приводит к уменьшению базальной и постпрандиальной гликемии у животных в течение длительного времени. Полученные данные указывают, что ингибиторы ароматазы могут стать перспективными средствами для коррекции нарушений углеводного обмена при метаболическом синдроме.

*Ключевые слова:* экземестан, летрозол, анастрозол, постпрандиальная гликемия, фруктозамин, метаболический синдром

**D. V. Lytkin**

### **The influence of third generation aromatase inhibitors on postprandial blood glucose and the content of serum fructosamine in hamsters under experimental metabolic syndrome**

An important component of the metabolic syndrome is the imbalance of sex hormones, which usually is the result of increased adipose aromatase. However, in the context of a metabolic syndrome, carbohydrate metabolism disorders often occur due to transient glucose uptake after food and impaired glucose tolerance, which also correlates with the increase in the aromatase activity. A number of studies have shown that aromatase inhibitors are potentially able to treat the metabolic syndrome and other metabolic pathologies.

*The purpose of the research* was to study the effect of third generation aromatase inhibitors on the progression of postprandial blood glucose and the content of serum fructosamine under an experimental metabolic syndrome in hamsters of different sex.

The research was conducted on adult Syrian hamsters both male and female, which were induced metabolic syndrome by the experimental diet. Determination of postprandial blood glucose in hamsters was carried out using glucose tolerant test; the level of glucose in the blood was measured by the electrochemical express method. Estimation of the proteins glycosylation was carried out by the content of fructosamine, which was measured by photometric method.

Studies have shown that third generation aromatase inhibitors are able to reduce the total area under the curve «glucose concentration – time» by 14,8–34,7 %, and the content of serum fructosamine by 9,0–21,8 % in hamsters of different sexes with metabolic syndrome.

Thus, the course administration (for 21 days) of these agents leads to a decrease in basal and postprandial glycemia in animals for a long term. The data obtained indicate that aromatase inhibitors are promising drugs for the correction of carbohydrate metabolic disorders in metabolic syndrome.

*Key words:* exemestane, letrozole, anastrozole, postprandial glycemia, fructosamine, metabolic syndrome

---

*Надійшла: 28 листопада 2018 р.*

**Контактна особа:** Литкін Дмитро Віталійович, центральна науково-дослідна лабораторія, Національний фармацевтичний університет, буд. 53, вул. Пушкінська, м. Харків, 61002.  
Тел.: + 38 0 50 287 69 71. Електронна пошта: d.v.lytkin@gmail.com

І. М. Маньковська<sup>1</sup>, О. О. Гончар<sup>1</sup>, В. І. Носар<sup>1</sup>,  
Л. В. Братусь<sup>1</sup>, І. М. Карабань<sup>2</sup>

## Корекція фіксованою комбінацією мельдонію з гамма-бутиробетаїном мітохондріальної дисфункції печінки щурів за умов ротенонової інтоксикації

<sup>1</sup>Інститут фізіології імені О. О. Богомольця Національної академії наук України, м. Київ

<sup>2</sup>Державна установа «Інститут геронтології імені Д. Ф. Чеботарьова Національної академії медичних наук України», м. Київ

**Ключові слова:** Капікор, ротенон, мітохондрії, окисний стрес, окиснювальне фосфорилювання, прооксидантно-антиоксидантний баланс

Встановлено, що токсини оточуючого середовища, особливо пестициди та гербіциди, які широко використовуються в сільському господарстві, здатні провокувати розвиток тяжких захворювань, у тому числі й хвороби Паркінсона (ХП) у людей з генетичною спадковістю до ХП [1]. Ротенон, один з ліпофільних пестицидів з родини ізофлавоноїдів, який здатний перетинати біологічні мембрани, відомий як специфічний інгібітор переносу електронів у комплексі I дихального ланцюга мітохондрій [2].

Мітохондрії, як відомо, відіграють ключову роль у координації найважливіших клітинних функцій, являючись не тільки джерелом енергетичних еквівалентів, але й мішенню та декодером внутрішньоклітинних сигналів, генератором вторинних месенджерів і проапоптичних факторів [3]. Вважається, що дисфункція мітохондрій є початковим етапом розвитку гепатотоксичності, що неминуче призводить до апоптичної або некротичної загибелі клітини, а самі мітохондрії є первинною мішенню токсинів [4].

Відомо, що інтоксикація ксенобіотиками викликає зсув активності про- та антиоксидантних систем, а також порушення енергетичного метаболізму в тканинах печінки, оскільки печінка вельми чутлива до токсичних впливів

внаслідок її центральної ролі в метаболізмі ксенобіотиків. Електрон-транс-портний ланцюг мітохондрій, редокс-баланс мітохондрій і клітин печінки є чутливими мішеннями, що пошкоджуються за умов токсичного впливу [5, 6].

Функціонально-метаболічні порушення в органах і тканинах після тяжких отруєнь пестицидами супроводжуються надмірною продукцією активних форм кисню (АФК), активацією процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), окисною модифікацією протеїнів (ОМП), що призводить до напруги та подальшої декомпенсації механізмів антиоксидантного захисту організму та розвитку окисного стресу [7]. Це викликає необхідність використання засобів метаболічної терапії, що сприяють підтримці систем антиоксидантного захисту та процесів енергоутворення за умов хронічної інтоксикації, зокрема, ротеноном. У цьому аспекті ми застосували препарат Капікор для корекції мітохондріальної дисфункції та окисного стресу за інтоксикації ротеноном у щурів. Цей препарат (АТ «Олайнфарм», Латвія) є фіксованою комбінацією, одна капсула якої містить мельдонію дигідрату 180 мг і гамма-бутиробетаїну дигідрату 60 мг. Капікор був використаний у пілотних випробуваннях для тестування його терапевтичної ефективності за ХП [8], а також як засіб корекції ендотеліальної дисфункції в хворих на ішемічну хворобу серця, хронічну серцеву та ниркову недостатність [9]. У нашій недавній роботі було показано, що застосування Капікору в

хворих на ХП сприяє попередженню деградації мітохондрій та елімінації пошкоджених мітохондрій у тромбоцитах крові [10]. Щодо того, на які можливі ланки-мішені може діяти комбінація, то молекулярні мішені мельдонію залишаються невідомими, а гамма-бутиробетаїн-дигідрат здатний гальмувати розвиток мітохондріальної дисфункції та зберігати запаси АТФ і креатинфосфату в клітинах за різних патологічних умов [11]. Можливо, ця речовина може діяти через DJ-1-пов'язаний шлях [2]. Як було нещодавно встановлено, білок DJ-1 відіграє значну роль як в елімінації дисфункціональних мітохондрій, так і в антиоксидантному захисті [2].

**Мета дослідження** – дослідити мітопротективну дію Капікору за показниками змін дихання та фосфорилування, про- та антиоксидантного балансу мітохондрій печінки щурів за тривалої інтоксикації ротеноном.

**Матеріали та методи.** Експерименти проводили на 30 щурах-самцях Вістар масою тіла 230–250 г, які знаходились у віварії Інституту фізіології імені О. О. Богомольця та вживали стандартний корм. Тварин розподілили на 5 груп по 6 тварин у кожній: 1 – інтактні без введення препаратів (контроль); 2 – тварини, яким 14 днів щоденно підшкірно вводили ротенон у дозі 3 мг/кг маси тіла (як розчинник використовували суміш ДМСО та поліетиленгліколю 1:1); 3 – тварини, яким після відтворення ротенової інтоксикації ще додатково наступні 2 тижні внутрішньоочеревинно вводили водний розчин препарату Капікор у дозі 50 мг/кг; 4 і 5 – тваринам цих груп вводили розчинник Капікору та фізіологічний розчин відповідно у тих самих об'ємах, що й тваринам 2 і 3 груп. Вибір дози, способу та тривалості введення ротенону був оснований на роботі Мілюхіної та співавторів, в якій співставляли ступінь тяжкості отруєння ротеноном у щурів з результатами спеціальних тестів на його нейротоксичність [12]. Вибір дози Капікору був оснований на даних роботи [10], в якій вивчали мітопротективну дію Капікору в хворих на ХП протягом 2 тижнів.

Тварин декапітували під легким

ефірним наркозом відразу після експерименту. Їх утримували та всі маніпуляції здійснювали відповідно до положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментах та з іншою науковою метою (Страсбург, 1986 р.).

Печінку, видалену в щурів після декапітації, промивали охолодженим 0,9 % розчином NaCl. Усі маніпуляції проводили за температури 0–4 °C. Мітохондрії з гомогенатів печінки отримували методом диференційного центрифугування за допомогою центрифуги Allegra X-22R W/F24024 «Bectan Coulter, GMI Inc, UK» за температури 4 °C, швидкості 500 об/хв на I етапі, 12000 об/хв на II етапі, а також у разі відмивання мітохондрій [13]. Середовище виділення мітохондрій містило 250 ммоль/л сахарози, 10 ммоль/л Tris/ HCl (pH 7,6), 1 ммоль/л EGTA та 0,5 % БСА. Відмивали та ресуспендували мітохондрії в середовищі, яке не містило у своєму складі EGTA та БСА. Мітохондріальні протеїни солюбілізували шляхом додавання в суспензію мітохондрій 0,1 % розчину Тритон X-100 (кінцева концентрація Тритон X-100 становила 0,01 %). Вміст білка визначали за методом Лоурі. У суспензії мітохондрій досліджували вміст вторинних продуктів ПОЛ, що реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-активні продукти) [14], окисну модифікацію протеїнів ОМП – за вмістом карбонільних груп [15]. Про ступінь ОМП робили висновок за кількістю 2,4-динітрофенілгідразонів, визначених спектрофотометрично за довжини хвилі 370 нм, використовуючи коефіцієнт молярного поглинання  $22000 \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$ . Вміст відновленого (GSH) та окисненого (GSSG) глутатіону вивчали за [16]. Активність мітохондріальної глутатіонредуктази (ГР: КФ 1.6.4.2) оцінювали спектрофотометрично за зменшенням вмісту НАДФН за 1 хв на 1 мг білка за довжини хвилі 340 нм [17]. Активність селен-залежної глутатіонпероксидази (ГП: КФ 1.11.1.9) визначали реєстрацією швидкості окиснення НАДФН у присутності відновленого глутатіону, пероксиду водню та надлишку глутатіонредуктази (2,4 U/мл) [17]. Активність



глутатіон-S-трансферази (ГТ) (КФ1.5.1.18) оцінювали за методом М. Warholm et al., 1985 р., який ґрунтується на ферментативному зв'язуванні глутатіону з 1-хлор-2,4-динітробензолом з утворенням кон'югатів, що мають максимум світлопоглинання за довжини хвилі 340 нм [18]. Активність НАДФ<sup>+</sup>-ізоцитратдегідрогенази (НАДФ<sup>+</sup>-ІЦДГ) (КФ1.1.1.42) визначали реєстрацією швидкості відновлення НАДФ<sup>+</sup> у середовищі 50 ммоль/л трис-НСІ буферу (рН 7,8), що містило 1,5 ммоль/л ізоцитрату, 0,25 ммоль/л НАДФН [17].

Процеси окиснювального фосфорилування в мітохондріях печінки вивчали за допомогою полярографічного методу з використанням закритого електрода Кларка та оксиграфа (Standart Oxygraph System, «Hansatech», Велика Британія). Функціональний стан мітохондрій визначали за методом Chance, Williams [19], використовуючи середовище інкубації (300 ммоль/л сахарози, 2 ммоль/л НСІ-буфера, 1 ммоль/л NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; рН 7,4). Реєстрували стаціонарну швидкість дихання у стані 4 ( $V_4^s$ ) за умов окиснення субстрату (5 ммоль/л сукцинату чи 5 ммоль/л глутамату + 2,5 ммоль/л малату) за відсутності АДФ; швидкість активного дихання за додавання 200 мкмоль/л АДФ ( $V_3$ ); швидкість контрольованого дихання ( $V_4^{ATF}$ ), коли в системі відбувається вичерпання доданого акцептора фосфору – АДФ; дихальний контроль ( $V_3/V_4^{ATF}$ ), що є показником ефективності регуляції дихання мітохондрій, та коефіцієнт ефективності фосфорилування (АДФ/О), який відображає кількісний зв'язок між споживанням O<sub>2</sub> і синтезом АТФ [20]. Активність АТФ-залежного калієвого каналу визначали за різницею швидкості дихання, яку реєстрували в присутності та відсутності 1 ммоль/л Mg<sup>2+</sup>, 300 мкмоль/л АТФ та 2 мкмоль/л олігоміцину [21]. Для оцінки швидкості АТФ-залежного входу калію в матрикс мітохондрій використовували відомі стехіометричні коефіцієнти між споживанням кисню та транспортом одновалентного катіона: 1:10 та 1:7 у присутності відповідно глутамату та сукцинату як субстратів дихання. Фінальна концентрація білка була 1,5–2,0 мг/мл.

Результати досліджень обробляли загальноприйнятими методами варіаційної статистики за допомогою програми «Origin 7,0». Вірогідність розходжень між групами порівняння була визначена методом дисперсійного аналізу (ANOVA) з наступним тестом Bonferroni (post-hoc test).

**Результати та їх обговорення.** Починаючи з 4-го дня підшкірного введення ротенону, у щурів відмічалися загальнотоксичні прояви у вигляді гіпокінезії, слинотечі, ригідності м'язів, втрати маси тіла, трофічних виразок шкіри. У подальшому приєднувалися напади каталепсії, птоз, поява характерного «горбатого силуету» і постуральної нестабільності.

Результати, отримані в тварин 4 і 5 груп, не відрізнялися достовірно від значень у щурів 1 і 2 груп, тому вони не були включені до таблиці та рисунків для запобігання перевантаження тексту.

За дослідження окиснювального фосфорилування в мітохондріях печінки щурів за умов ротенонової інтоксикації було встановлено наступне. Було показано, що у тварин після введення ротенону за умов окиснення як сукцинату (ФАД-залежного субстрату), так і глутамату з малатом (НАД-залежних субстратів) у мітохондріях, виділених з тканини печінки, розвивалися ознаки дисфункції. Так, сповільнювалося АДФ-стимульоване дихання, зменшувалося супряження дихання з фосфорилуванням на тлі зменшення ефективності споживання кисню (таблиця). Зазначені зміни були більш вираженими в разі використання НАД-залежних субстратів, ніж ФАД-залежних субстратів: так,  $V_3$  зменшувалася на 26,6 і 10 % відповідно ( $P < 0,05$ ); дихальний контроль – на 31 і 16 % відповідно ( $P < 0,05$ ); АДФ/О – на 22 і 8,3 % відповідно ( $P < 0,05$ ) порівняно з контрольними значеннями. Таким чином, було показано, що інгібування ротеноном активності мітохондріального комплексу I призводить до широкого спектра мітохондріальних дисфункцій, а саме – інгібування НАДН-оксидазного шляху окиснення, зменшення супряження дихання з фосфорилуванням і

Показники дихання та фосфорилування в мітохондріях печінки щурів за окиснення різних субстратів за умов тривалої інтоксикації ротеноном та впливу Капікору ( $M \pm m, n = 6$ )

| Група тварин                      | $V_4^s$                                         | $V_3$         | $V_4^{ATФ}$  | $V_3/V_4^{ATФ}$                                 | АДФ/О       | $V_4^s$        |                | $V_3$        | $V_4^{ATФ}$   | $V_3/V_4^{ATФ}$ | АДФ/О |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------|---------------|--------------|-------------------------------------------------|-------------|----------------|----------------|--------------|---------------|-----------------|-------|
|                                   | (нмоль $O_2 \cdot хв^{-1} \cdot мг^{-1}$ білка) |               |              | (нмоль $O_2 \cdot хв^{-1} \cdot мг^{-1}$ білка) |             |                |                |              |               |                 |       |
|                                   | 5 ммоль/л сукцинату                             |               |              |                                                 |             |                |                |              |               |                 |       |
|                                   | 5 ммоль/л глутамату+ 2,5 ммоль/л малату         |               |              |                                                 |             |                |                |              |               |                 |       |
| Інтактні (контроль)               | 20,0 ± 2,92                                     | 74,20 ± 3,07  | 23,20 ± 1,39 | 3,19 ± 0,11                                     | 1,68 ± 0,11 | 13,10 ± 1,23   | 57,50 ± 2,48   | 17,40 ± 1,19 | 3,30 ± 0,28   | 2,58 ± 0,11     |       |
| Ротенонова інтоксикація           | 21,40 ± 2,69                                    | 66,70 ± 2,87* | 25,0 ± 2,11  | 2,67 ± 0,22*                                    | 1,54 ± 0,11 | 13,70 ± 1,54   | 42,20 ± 2,88*  | 19,40 ± 1,0  | 2,27 ± 0,24*  | 2,0 ± 0,09*     |       |
| Ротенонова інтоксикація + Капікор | 23,30 ± 2,09                                    | 74,90 ± 3,38# | 25,50 ± 2,42 | 2,94 ± 0,18                                     | 1,53 ± 0,05 | 22,50 ± 2,90** | 49,70 ± 1,77** | 18,20 ± 1,45 | 2,73 ± 0,30** | 2,34 ± 0,11**   |       |

Примітка.\*Вірогідно відносно контролю ( $P < 0,05$ ), \*\*вірогідно відносно показників 2 групи.

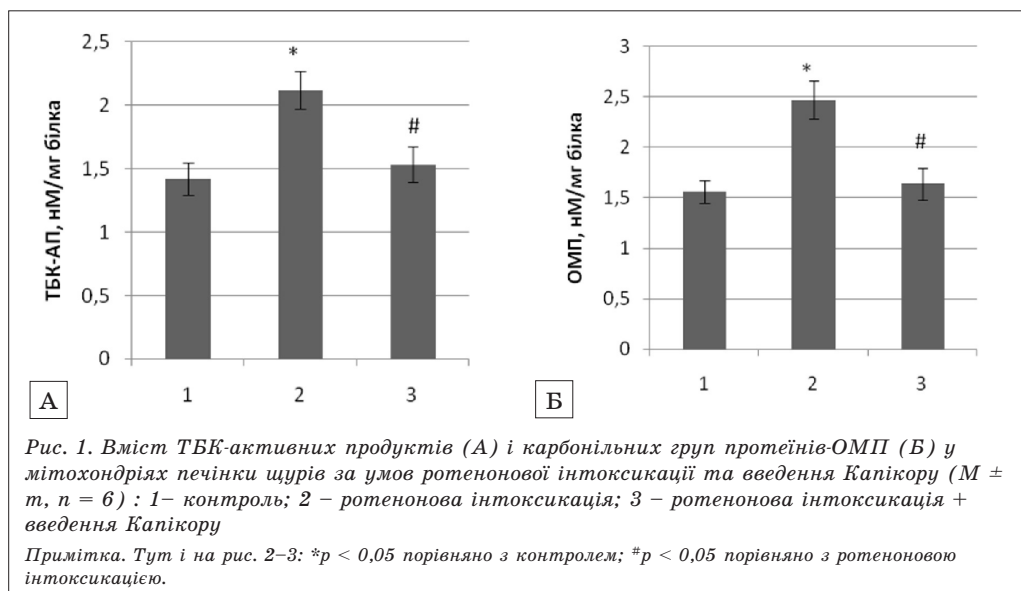
продукції АТФ, порушення  $Ca^{2+}$ -регулюючих систем, гальмування входу калію в матрикс мітохондрій тощо.

Після введення Капікору за умов окиснення сукцинату показники електронтранспортної системи мітохондрій печінки поверталися до рівня контрольних значень (таблиця). За умов окиснення НАД-залежних субстратів дія Капікору супроводжувалася односпрямованими, але менш значними змінами показників окиснювального фосфорилування в мітохондріях, порівняно з такими в тварин 2 групи. При цьому функціонування АТФ-залежних калієвих каналів за умов окиснення сукцинату не змінювалось, у той час, як за окиснення НАД-залежних субстратів вхід калію в матрикс мітохондрій був вищий на 15 % порівняно з даними в щурів за введенням ротенону без корекції Капікором.

У той самий час сукцинат-оксидазний шлях окиснення в мітохондріях виявився більш стабільним за інтоксикації ротеноном, що дозволяє компенсаторне використання мітохондріального комплексу II, як короткого шляху транспорту електронів до комплексу III. Крім того, розвиток мітохондріальної дисфункції зумовлює спалах вільнорадикальних процесів, що було підтверджено в подальших дослідях.

Тривале введення ротенону призводило до окисного пошкодження ліпідів і білків мітохондрій печінки щурів, про що свідчить зростання вмісту ТВК-АП на 49 % і карбонільних груп протеїнів на 58 % порівняно з контролем ( $P < 0,05$ ) (рис. 1).

Відомо, що за різних патологічних станів окисна модифікація протеїнів розглядається як один з надійних маркерів окисного стресу, оскільки продукти ОМП більш стабільні, порівняно з продуктами ПОЛ. Окисна модифікація може викликати утворення внутрішньо- і міжмолекулярних зшивок, агрегацію та фрагментацію протеїнів, зміну їхньої гідрофобності, чутливості до протеолізу, а головне – суттєво впливати на активність ензимів аж до повної їхньої інактивації; окрім того, самі ОМП здатні виступати додатковим



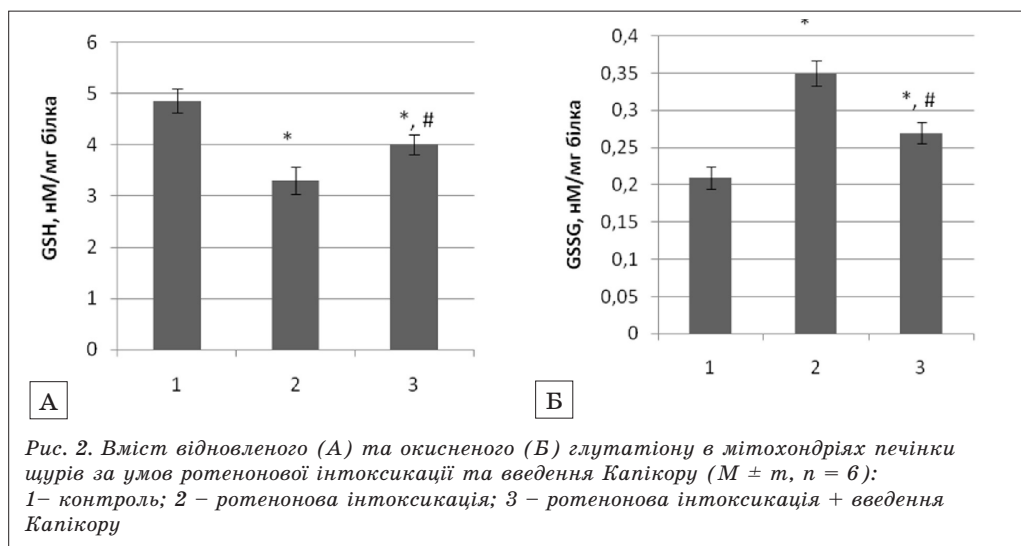
джерелом вільних радикалів, виснажувати запаси таких антиоксидантів, як аскорбінова кислота та глутатіон [22].

У наших дослідженнях розвиток окисного стресу призводив до зниження антиоксидантного потенціалу мітохондрій: концентрація GSH зменшувалася на 32 % ( $P < 0,05$ ), у той час як вміст GSSG був на 67 % ( $P < 0,05$ ) вище відповідних контрольних значень (рис. 2).

Таке зрушення балансу GSH/GSSG у бік накопичення окисненого глутатіону свідчить про збереження в мітохондріях окиснювальних процесів і зниження відновлювального потенціалу глутатіону. Відомо, що GSH здатний впливати на процеси генерації вільних радикалів

у дихальному ланцюгу мітохондрій, тому порушення дисбалансу в глутатіоновій системі може бути однією з причин розвитку патологічних процесів у тканині печінки за умов токсичного впливу ротенону [8, 9, 23]. Слід зауважити, що в наших дослідженнях активність ферментів метаболізму глутатіону в мітохондріях печінки щурів корелювала з вмістом глутатіону. Зокрема, реєстрували зниження активності ферментів глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази та НАДФ<sup>+</sup>-ІЦДГ на 22, 29 і 18 % відповідно порівняно з контролем ( $P < 0,05$ ) (рис. 3).

Оскільки GSSG не може бути експортовано з мітохондрій до цитозолу,



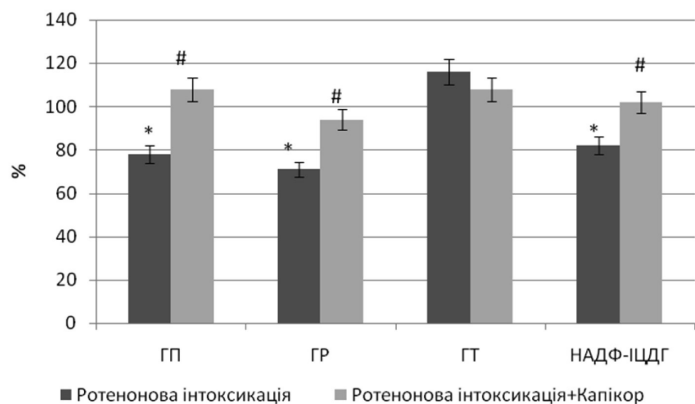


Рис. 3. Активність ферментів глутатіонпероксидази (ГП), глутатіонредуктази (ГР), глутатіонтрансферази (ГТ), та НАДФ<sup>+</sup>-ізоцитратдегідрогенази (НАДФ<sup>+</sup>-ІЦДГ) за умов ротенонової інтоксикації та введення Капікору ( $M \pm m$ ,  $n = 6$ ). Активність ферментів у тварин контрольної групи прийнято за 100 %

мітохондріальний НАДФН залишається важливим відновним еквівалентом у регенерації GSH за допомогою ГР [23]. Припускають, що у мітохондріях з усіх ферментів-донорів НАДФ<sup>+</sup>-ізоцитратдегідрогенази належить вагома роль [24]. Показано значне зростання продукції АФК, фрагментація ДНК, інтенсифікація процесів ПОЛ, падіння рівня АТФ у мітохондріях за зниження експресії ІЦДГ [24]. Зменшення активності GSH-залежних та НАДФН-генеруючих ферментів, а також накопичення токсичного GSSG, який здатний утворювати змішані дисульфіди з тіолвмісними ферментами, тим самим порушуючи їхню активність [25], свідчать про наявність дисбалансу в про- та антиоксидантній системі мітохондрій печінки за умов ротенонової інтоксикації. Виявлену в тварин цієї групи активацію ГТ на тлі зниження активності ГП можна розглядати як компенсаторну реакцію, оскільки існує комплементарність ГП та ГТ у метаболізмі ендогенних перекисних сполук [26, 27].

Введення Капікору мало позитивний вплив на про/антиоксидантний баланс у мітохондріях печінки щурів. У тварин 3 групи відбувалося зниження вмісту вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів, карбонільних груп протеїнів, а також GSSG на 28, 33 та 23 % відповідно порівняно з тваринами 2 групи ( $P < 0,05$ ) (рис. 1 і 2), що свідчить про послаблення інтенсивності окисних процесів.

Застосування Капікору в щурів 3 групи призводило до поступового відновлення глутатіонового пулу мітохондрій печінки щурів (вміст GSH зростав на 32 %,  $P < 0,05$ ) на відміну від щурів 2 групи (рис. 2). Цьому могло сприяти зростання активності ГР (на 23 %,  $P < 0,05$ ) (рис. 3), оскільки поповнення мітохондріального пулу GSH, поряд з експортом його з цитозолу, залежить від швидкості відновлення утворюваного GSSG, яке здійснюється в глутатіонредуктазних реакціях [26, 27]. Зростання активності ГР до рівня контролю, зумовлено, ймовірно, підвищенням активності ІЦДГ на 20 % ( $P < 0,05$ ), а таким чином, і достатньою кількістю внутрішньоклітинних запасів НАДФН. Ці дані, а також позитивна кореляція активності ГР і НАДФ<sup>+</sup>-ІЦДГ ( $r = 0,76$ ) дозволяють стверджувати, що синтез НАДФН у НАДФ<sup>+</sup>-ІЦДГ реакціях за умов застосування Капікору може бути одним з суттєвих джерел відновлених еквівалентів у мітохондріях печінки щурів, що впливають на антиоксидантний потенціал мітохондрій. Про підвищення антиперекисного захисту мітохондрій за умов використання Капікору свідчить зростання активності ГП у печінці щурів на 30 % ( $P < 0,05$ ) за збереження активності ГТ на рівні контролю (рис. 3). Ми вважаємо, що підвищення вмісту відновленого глутатіону в клітинах печінки щурів після введення Капікору може бути пов'язано як з процесами синтезу GSH *de novo*,

так і з відновленням окисненого глутатіону в супряженій системі НАДФН-глутатіонредуктаза /глутатіонпероксидаза, що сприяє координації дії ферментів глутатіонового редокс-циклу і, як наслідок, збереженню глутатіонового пулу.

Таким чином, застосування Капікору призводить до нормалізації ротеноноіндукованого дисбалансу про- та антиоксидантної системи мітохондрій печінки щурів, про що свідчить посилення ендогенного антиоксидантного захисту на тлі послаблення окисних процесів. Капікор здатний модулювати стан глутатіонового пулу мітохондрій за рахунок підвищення активності глутатіон-залежних та НАДФ<sup>+</sup>-генеруючих ферментів.

Отримані результати дозволяють рекомендувати Капікор як засіб профілактики окисного стресу та біоенергетичних порушень у мітохондріях печінки за умов хронічної інтоксикації ротеноном (за винятком випадків тяжких уражень печінки та нирок).

## Висновки

1. Комбінація мельдонію з гамма-бутиробетайном (Капікор) сприяє гальмуванню розвитку мітохондріальної дисфункції за умов ротенонової інтоксикації завдяки підвищенню швидкості АДФ-стимульованого дихання, супряження дихання з фосфорилуванням, енергетичної ефективності синтезу АТФ, активності АТФ-залежних калієвих каналів у мітохондріях печінки щурів.
2. Застосування комбінації призводить до послаблення виразності оксидативного стресу в мітохондріях печінки щурів з ротеноновою інтоксикацією, про що свідчить відновлення про- та антиоксидантного балансу внаслідок зниження вмісту малонового діальдегіду (ТБК-АП) та окисної модифікації протеїнів, нормалізації глутатіонової системи антирадикального захисту.
3. Комбінація впливає на стан глутатіонового пулу мітохондрій за рахунок підвищення активності глутатіон-залежних і НАДФ<sup>+</sup>-генеруючих ферментів.

1. Parkinsonism and occupational exposure to pesticides / L. S. Engel, H. Checkoway, M. C. Keifer [et al.] // *Occup Environ Med.* – 2001. – V. 58. – P. 582–589.
2. Pharmacological targeting of mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease: approaches and perspectives / Drug I. Mankovska, O. Gonchar, K. Rozova [et al.] // *Target Review.* – 2018. – V. 03. – P. 49–53.
3. Addabbo F. Mitochondria and reactive oxygen species / F. Addabbo, M. Montagnani, M. S. Goligorsky // *Hypertension.* – 2009. – 53. – P. 885–892.
4. Hauser D. N. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in Parkinson's disease and monogenic parkinsonism / D. N. Hauser, T. G. Hastings // *Neurobiology of Disease.* – 2013. – V. 51. – P. 35–42.
5. The effects of rotenone-induced toxicity via the NF- $\kappa$ B-iNOS pathway in rat liver / J. Xiaowen, F. Xinxin, H. Hui [et al.] // *Toxicol. Mechanisms Meth.* – 2017. – V. 27 (4). – P. 318–325.
6. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress promote apoptotic cell death in the striatum via cytochrome c/caspase-3 signaling cascade following chronic rotenone intoxication in rats / T. K. Lin, C. H. Cheng, S. D. Chen [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2012. – V. 13 (7). – P. 8722–39.
7. Mechanism of toxicity in rotenone models of Parkinson's disease / T. B. Sherer, R. Betarber, C. M. Testa [et al.] // *J. Neurosci.* – 2003. – V. 23. – P. 10756–10764.
8. Корегувальний вплив Капікору при експериментальному паркінсонізмі та хворобі Паркінсона / К. В. Розова, І. М. Маньковська, О. О. Гончар [та ін.] // *Український вісник психоневрології.* – 2017. – № 25 (1). – С. 102–103.
9. Динаміка ендотеліальної вазодилататорної відповіді та показників функції нирок у пацієнтів із хронічною серцевою недостатністю на фоні лікування фіксованою комбінацією мельдонію з гамма-бутиробетайном / Л. Г. Воронков, Г. Є. Дудник, А. С. Солонович, А. В. Ляшенко // *Ліки України.* – 2018. – № 5–6. – С. 24–28.
10. Вплив капікору на патогенетичні ланки хвороби Паркінсона / І. М. Маньковська, К. В. Розова, О. О. Гончар [та ін.] // *Фізіологічний журнал.* – 2018. – № 64 (1). – С. 16–24.
11. Артюшкова Е. В. Увеличение уровня гамма-бутиро-бетаина – фармакологическая мишень для коррекции эндотелиальной дисфункции / Е. В. Артюшкова // *Кубанский научно-мед. бюл.* – 2009. – № 4. – С. 72–75.
12. Выраженность симптомов болезни Паркинсона у крыс при различных способах введения ротенона / И. В. Милохина, И. Н. Абдурасулова, Д. Э. Коржевский, В. М. Клименко // *Болезнь Паркинсона и расстройства движений (Руководство для врачей): под ред. С. Н. Иллариошкина, О. С. Левина.* – Москва, 2011. – С. 380–381.



13. Buege J. Microsomal lipid peroxidation / Buege J., Aust S. // *Methods Enzymol.* – 1978. – № 52. – P. 302–308.
14. Стальная И. Д. Современные методы в биохимии / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили. – Москва : Медицина, 1977. – С. 66–68.
15. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins / R. L. Levine, D. Garland, C. N. Oliver [et al.] // *Meth. Enzymol.* – 1990. – V. 186. – P. 464–478.
16. Anderson M. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples / M. Anderson // *Meth. Enzymol.* – 1985. – V. 113. – P. 548–551.
17. Путилина Ф. Е. Методы биохимических исследований / Ф. Е. Путилина. – Ленинград : Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. – 272 с.
18. Habig W. H. Glutathione S-Transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation / W. H. Habig, M. J. Pabst, W. B. Jakoby // *J. Biol. Chem.* – 1974. – V. 249. – P. 7130–7139.
19. Chance B. The respiratory chain and oxidative phosphorylation / B. Chance, G. Williams // *Adv Enzymol.* – 1956. – V. 17. – P. 65–134.
20. Estabrook R. W. Mitochondrial respiratory control and the polarographic measurement of ADP/O ratios / R. W. Estabrook // *Meth. Enzymol.* – 1967. – V. 10. – P. 41–47.
21. Beavis A. D. Upper and lower limits of the charge translocation stoichiometry of mitochondrial electron transport / A. D. Beavis // *J. Biol. Chem.* – 1987. – V. 262 (13). – P. 6165–6173.
22. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation / R. T. Dean, S. Fu, R. Stocker, M. J. Davies // *Biochem. J.* – 1997. – V. 324. – P. 1–18.
23. Mitochondrial glutathione, a key survival antioxidant / M. Mari, A. Morales, A. Colell [et al.] // *Antiox. Redox. Sign.* – 2009. – V. 11. – P. 2685–2700.
24. Cytosolic NADP<sup>+</sup>-dependent isocitrate dehydrogenase status modulates oxidative damage to cells / S. M. Lee, H. J. Koh, D. C. Park [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2002. – V. 32. – P. 1185–1196.
25. Control of mitochondrial redox balance and cellular defense against oxidative damage by mitochondrial NADP<sup>+</sup>-dependent isocitrate dehydrogenase / S. Jo, M. Son, H. Koh [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2001. – V. 276. – P. 16168–16176.
26. Dickinson D. Cellular glutathione and thiols metabolism / D. Dickinson, H. Forman // *Biochem. Pharmacol.* – 2002. – V. 64. – P. 1019–1026.
27. Hayes J. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a coordinately regulated defense against oxidative stress / J. Hayes, L. McLellan // *Free Rad. Res.* – 1999. – V. 31. – P. 273–300.

**І. М. Маньковська, О. О. Гончар, В. І. Носар, Л. В. Братусь, І. М. Карабань**  
**Корекція фіксованою комбінацією мельдонію з гамма-бутиробетаїном**  
**мітохондріальної дисфункції печінки щурів за умов ротенонової інтоксикації**

Вивчали біофізичні та біохімічні характеристики розвитку мітохондріальної дисфункції та оксидативного стресу в печінці щурів за тривалої ротенонової інтоксикації, а також вплив на ці процеси препарату Капікор (мельдоній дигідрат у комбінації з гамма-бутиробетаїн дигідратом). Показано, що тривале підшкірне введення ротенону викликає виражені порушення про- та антиоксидантної рівноваги в мітохондріях печінки, а також пригнічення НАДН-оксидазного шляху окиснення та зниження продукції АТФ у мітохондріях. Під дією Капікору в печінці щурів з ротеноновою інтоксикацією відбувалося послаблення інтенсивності оксидативних процесів зі зниженням вмісту вторинних продуктів ПОЛ (на 28 %) і карбонільних груп протеїнів (на 33 %), відновленням глутатіонового пулу, підвищенням антиперекисного захисту мітохондрій (зростання активності глутатіонпероксидази на 30 %). Капікор сприяв підвищенню швидкості АДФ-стимульованого дихання, супряження дихання з фосфорилуванням, енергетичної ефективності синтезу АТФ у мітохондріях.

*Ключові слова:* Капікор, ротенон, мітохондрії, окисний стрес, окиснювальне фосфорилування, прооксидантно-антиоксидантний баланс

**И. Н. Маньковская, О. А. Гончар, В. И. Носарь, Л. В. Братусь, И. Н. Карабань**  
**Коррекция фиксированной комбинацией мельдония с гамма-бутиробетаином**  
**митохондриальной дисфункции печени крыс в условиях ротеноновой**  
**интоксикации**

Исследовали биофизические и биохимические характеристики развития митохондриальной дисфункции и оксидативного стресса в печени крыс при длительной интоксикации ротеноном, а также влияние на эти процессы препарата Капикор (мельдоний дигидрат в комбинации с гамма-бутиробетаин дигидратом). Показано, что длительное подкожное введение ротенона (3 мг/кг массы тела) вызывает выраженные нарушения про- и антиоксидантного баланса в митохондриях печени, а также угнетение НАДН-оксидазного пути окисления и снижение продукции АТФ в митохондриях. Под действием Капикора в печени крыс с ротеноновой интоксикацией регистрировалось уменьшение интенсивности оксидативных процессов со снижением содержания вторичных продуктов ПОЛ (на 28 %) и карбонильных групп протеинов (на 33 %), восстановление глутатионового

---

пула с повышением антиперекисной защиты митохондрий (повышение активности глутатионпероксидазы на 30 %). Капикор способствовал повышению скорости АДФ-стимулированного дыхания, сопряжения дыхания с фосфорилированием, энергетической эффективности синтеза АТФ в митохондриях.

*Ключевые слова:* Капикор, ротенон, митохондрии, оксидативный стресс, окислительное фосфорилирование, прооксидантно-антиоксидантный баланс

**I. M. Mankovska, O. O. Gonchar, V. I. Nosar, L. V. Bratus, I. M. Karaban**  
**Correction of rat liver mitochondrial dysfunction under rotenone intoxication by fixed combination of meldonium with gamma-butyrobetaine**

It was studied the influence of Capicor (containing meldonium dihydrate and gamma-butyrobetaine dihydrate) on the mitochondrial dysfunction and oxidative stress development in rat liver mitochondria under rotenone intoxication. Rats were divided into 5 groups: I – intact rats (n = 6); II – rotenone was injected subcutaneously at dose 3 mg/kg per day along 2 weeks (n = 6); III – Capicor was injected intraperitoneally at dose 50 mg/kg per day along 2 weeks (n = 6); IV–V groups served as two additional controls for rotenone and Capicor solvent (n = 6).

It was shown that prolonged subcutaneous rotenone administration significantly disturbed the pro- and antioxidant balance in liver mitochondria with a marked increase in TBA-active products content (by 49 %) and a decrease in antioxidant enzymes activity (glutathione reductase – by 29 %, glutathione peroxidase – by 22 %, NADPH<sup>+</sup> – isocitrate dehydrogenase – by 18 %) and in content of reduced glutathione (by 32 %) compared to control (P < 0,05). It was also demonstrated that rotenone intoxication led to a reduction in mitochondrial respiration rate V<sub>3</sub> (by 23 %), respiration control V<sub>3</sub>/V<sub>4</sub><sup>ATP</sup> (by 31%), ADP/O ratio (by 22 %), and activity of mitochondrial K<sup>ATP</sup>-channel compared to control (P < 0,05). Under the action of rotenone with Capicor, there was demonstrated a reduction in oxidative stress expressiveness in liver mitochondria with a decrease in TBA-active products content (by 28 %), a rise in glutathione peroxidase (by 30 %), glutathione reductase (by 23 %) and NADPH<sup>+</sup>-isocitrate dehydrogenase (by 20 %) activities compared to the action of rotenone only (P < 0,05). The tested combination influences on the state of glutathione pool in liver mitochondria due to a rise in glutathione – dependent and NADPH<sup>+</sup> – generating enzymes activity. After Capicor administration, there was shown the significant increase in mitochondrial respiration rate as well as in effectiveness of ATP synthesis (V<sub>3</sub>/V<sub>4</sub><sup>ATP</sup>, ADP/O) and K<sup>ATP</sup>-channel activity.

So, Capicor is shown to be effective in the reduction of mitochondrial dysfunction and oxidative disturbances in rat liver mitochondria under rotenone intoxication.

*Key words:* Capicor, rotenone, mitochondrial respiration and phosphorylation, oxidative stress, pro- and antioxidant balance

---

*Надійшла: 13 листопада 2018 р.*

**Контактна особа:** Маньковська І. М., професор, Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України, м. Київ, 01024. Тел.: + 38 0 44 253 76 90.

А. И. Яцина<sup>1</sup>, А. В. Паршиков<sup>2</sup>, Р. С. Вастьянов<sup>1</sup>,  
Ф. И. Костев<sup>1</sup>, И. В. Данова<sup>2</sup>

## Влияние эстрадиола и тестостерона на сократительную активность мочевого пузыря крыс

<sup>1</sup>Одесский национальный медицинский университет  
Министерства здравоохранения Украины

<sup>2</sup>Государственное учреждение «Институт фармакологии и токсикологии  
Национальной академии медицинских наук Украины», г. Киев

**Ключевые слова:** гиперактивный мочевого  
пузырь, эстрадиол, тестостерон,  
сократительная активность детрузора

Синдром гиперактивного мочевого пузыря (ГМП) является распространенным хроническим заболеванием у людей пожилого возраста, возникающим в результате дисфункции нижних отделов урогенитального тракта. Возрастное снижение уровня эстрогенов и андрогенов у женщин чаще, чем у мужчин приводит к структурным изменениям и нарушениям функции мочевого пузыря (МП), с чем связано увеличение частоты мочеиспускания, недержание и ноктурия [1–3].

Эстрогены оказывают трофическое действие на различные ткани и используются для проведения заместительной гормональной терапии (ЗГТ) цистоуретальной и вагинальной атрофии у женщин в пери- и постменопаузе [4, 5]. Многолетняя клиническая практика свидетельствует, что в отличие от природных фитоэстрогенов, системное применение экзогенных гормонов (эстрогена/прогестина) для компенсации изменений гормонального статуса не дает однозначных результатов в лечении ГМП и имеет противопоказания, особенно в долгосрочной перспективе [6, 7].

В настоящее время изучение патогенетической роли возрастного дефицита андрогенов и влияния комплексной заместительной терапии на симптоматику ГМП у женщин становится перспективным направлением исследований [8–10]. Известно, что физиологиче-

ские эффекты андрогенов проявляются непосредственно в результате взаимодействия с андрогенными рецепторами (геномными и негеномными), а также опосредованно, путем тканевой трансформации в эстрогены при участии ароматазы (Cyp19a1) и активации пула эстрогенных рецепторов [11]. Андрогены способны вызывать однотипные с эстрогенами изменения в тканях МП, что затрудняет анализ результатов ЗГТ. Как показано в экспериментах на крысах, введение тестостерона стимулирует восстановление рефлекторных путей автономной нервной регуляции, ответственных за накопление мочи в МП, а эстрадиол усиливает кровоснабжение урогенитального тракта [12–15]. Тогда как в клинической практике отмечено релаксирующее действие тестостерона на кровеносные сосуды урогенитального тракта у женщин в постменопаузе, что предотвращает развитие ишемической гипоксии, как возможной причины возрастных нарушений мочеиспускания [16]. Последствия совместного влияния эстрогенов и андрогенов на регуляцию сократительной деятельности МП в условиях сохранения естественного гормонального фона окончательно не установлены.

**Цель исследования** – изучение миогенных и нейрогенных реакций детрузора крыс с экспериментальной моделью ГМП до и после курсового введения низких доз эстрадиола, тестостерона и их комбинации.

**Материалы и методы.** Исследование проводили на 30 взрослых крысах самках популяции Вистар массой 250–300 г,

которых содержали в условиях вивария. Животных распределяли на группы: 1 – контрольные животные (К); 2 – животные с экспериментальной моделью ГМП (ГМП); 3 – животные с ГМП, которым ежедневно на протяжении 2 недель вводили  $17\beta$ -эстрадиол в трансдермальной форме (Divigel, Orion Corporation, Финляндия) в дозе 1 мг/кг (Е); 4 – животные с ГМП, которым ежедневно на протяжении 2 недель вводили тестостерона пропионат (Фармак, Украина), внутримышечно в дозе 2 мг/кг (Т); 5 – животные с ГМП, которым на протяжении 2 недель вводили эстрадиол в комбинации с тестостероном, ежедневно в соответствующих дозах (1 и 2 мг/кг, Е/Т). Экспериментальную модель ГМП у крыс воспроизводили путем внутрибрюшинного введения препарата Хомвиотензин (Маурман-Арцнаймиттель КГ, Германия) ежедневно в течение 2 недель в дозе 0,45 мг/кг в расчете на действующее вещество резерпин. Как известно, длительное введение резерпина вызывает опустошение депо катехоламинов и снижение уровня норадреналина в крови, что приводит к нарушению рефлекторного контроля сократительной деятельности МП, опосредованного участием  $\alpha 1$ -адренорецепторов парасимпатических нервных окончаний и  $\beta 3$ -адренорецепторов гладких мышц [21].

Эвтаназию животных проводили под тиопенталовым наркозом на 30 сут. эксперимента. Все процедуры с животными выполняли в соответствии с правилами проведения экспериментальных исследований [17].

У крыс сразу после эвтаназии выделяли МП и помещали в охлажденный раствор Кребса следующего состава (ммоль/л): 132 NaCl, 4,7 KCl, 1,4  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 1,0  $\text{MgCl}_2$ , 1,8  $\text{CaCl}_2$ , 25  $\text{NaHCO}_3$ , 6,5 глюкозы, pH 7,4 поддерживали с помощью газовой смеси 5 %  $\text{CO}_2$ /95 %  $\text{O}_2$ . Изолированный МП разрезали на фрагменты (полоски толщиной до 2 мм). Полоски размещали в проточной камере (1 мл) в растворе Кребса (35 °C) и растягивали на металлических крючках с предварительной нагрузкой 1 г (10 mN). Для регистра-

ции силы мышечных сокращений детрузора в изометрическом режиме использовали тензометрические датчики (FTK-0.1, Украина), адаптер LabTrax 4-CDA (WPI, США), программное обеспечение DataTrax 2 (WPI, США). Максимальную амплитуду сокращений полосок в гиперкалиевом растворе Кребса (100 ммоль/л KCl) принимали за 100 % при расчетах относительного уровня сократительной активности (% KCl).

Нейрогенные реакции детрузора изучали с использованием двух протоколов трансмуральной стимуляции электрическим полем (СЭП). Во-первых, регистрировали фазные сокращения полосок при СЭП с частотой 20 Hz (стимуляция 10 с с интервалом 2 мин, длительность импульса 0,25 мс, 40 V). Изменения реакции полосок до (А) и после (В) блокирования М-холинорецепторов атропином рассчитывали в %  $(B/A \cdot 100)$  [18]. Во-вторых, изучали изменения амплитуды фазных сокращений полосок в зависимости от частоты СЭП 1-50 Hz (частотно-зависимый эффект, стимуляция 5 с с интервалом 2 мин., длительность импульса 0,4 мс, 60 V). Вклад холинергического компонента в регуляцию нейрогенных реакций детрузора оценивали на основании расчетов максимальной амплитуды СЭП-сокращений полосок ( $E_{\text{max}}$ , % KCl) до и после добавления атропина [19]. Миогенные реакции детрузора изучали при стимуляции тонических сокращений под действием карбахолина [20].

В работе использовали соли квалификации х. ч. отечественного производства, карбахолин (КХ) и атропин (АТ) производства Sigma-Aldrich (США). Достоверность результатов оценивали с помощью t-критерия Стьюдента, различия считали достоверными при  $p \leq 0,05$ . Статистический анализ результатов проводили с помощью OriginPro 8.1 (OriginLab Co, США) и Exel (Microsoft, США).

**Результаты и их обсуждение.** Функциональная нестабильность МП у крыс, вызванная угнетением адренергических механизмов нейрогенной и миогенной регуляции, характеризуется повышением базального тонуса, возбудимости и амплитуды сокращений

детрузора [22]. Предполагается, что использование этой экспериментальной модели при изучении комплексных эффектов эстрогенов и андрогенов поможет определить, каким образом изменения гормонального статуса влияют на сократительную активность детрузора ГМП.

Исследование сократительных реакций детрузора под действием высокой концентрации KCl (100 ммоль/л, mN) показало, что амплитуда ответов полосок из группы Е ( $26,8 \pm 2,6$  mN) значительно выше, чем у полосок из групп К ( $18,1 \pm 2,1$  mN), ГМП ( $17,0 \pm 2,4$  mN), Т ( $18,4 \pm 1,8$  mN) и Е/Т ( $20,0 \pm 1,5$  mN). Также наблюдали разнонаправленные изменения амплитуды сокращений детрузора ( $E_{\max}$ , % KCl) под действием КХ ( $10^{-5}$  моль/л) у группы ГМП ( $209,9 \pm 9,8$  %) и Е ( $144,9 \pm 4,0$  %) в сравнении с контролем ( $180,4 \pm 10,5$  %), Т ( $161,7 \pm 9,1$  %) и Е/Т ( $177,9 \pm 10,2$  %).

Исследование сократительных реакций детрузора ( $E_{\max}$ , % KCl) при стимуляции электрическим полем с постоянной нагрузкой (СЭП, 20 Hz) показало, что амплитуда нейрогенных ответов полосок из группы ГМП ( $160,7 \pm 4,3$  %) значительно выше, чем у полосок контроля ( $104,7 \pm 11,3$  %), Е ( $102,5 \pm 8,1$  %), Т ( $101,4 \pm 13,3$  %) и Е/Т ( $98,1 \pm 10,8$  %) (рис. 1).

После блокирования холинергического компонента СЭП-сокращений детрузора в присутствии АТ ( $10^{-6}$  моль/л) наблюдали повышенную АТ-резистентную сократительную активность у полосок из группы Е ( $60,1 \pm 3,1$  %) в сравнении с показателями полосок из групп К ( $49,3 \pm 2,7$  %), ГМП ( $46,5 \pm 3,9$  %), Т ( $52,1 \pm 1,8$  %) и Е/Т ( $48,1 \pm 2,2$  %).

Известно, что наряду с основным возбуждающим сокращение нейромедиатором ацетилхолином (холинергическим компонентом) и сопутствующим нейромедиатором АТФ (пуринергическим компонентом), которые высвобождаются при стимуляции парасимпатических нервных окончаний, в поддержании нормального цикла наполнения/опорожнения МП участвуют различные сигнальные системы (катехола-

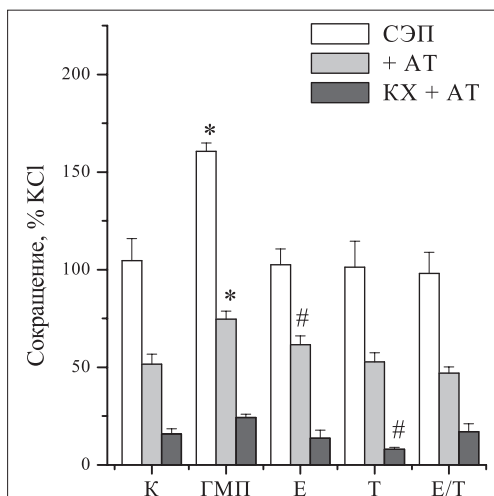


Рис. 1. Сократительные реакции детрузора крысы в ответ на стимуляцию электрическим полем (СЭП, 20 Hz); после добавления  $10^{-6}$  моль/л атропина (+АТ); после добавления  $10^{-5}$  моль/л карбахолина и  $10^{-6}$  моль/л атропина (КХ + АТ). Полоски МП, изолированные у животных контроля (К), группы гиперактивного мочевого пузыря (ГМП), групп, получавших эстрадиол (Е), тестостерон (Т) и комбинации эстрадиола и тестостерона (Е/Т)

Примечание. \* $P \leq 0,05$  по отношению к контролю, # $P \leq 0,05$  по отношению к контролю и ГМП,  $n = 10-14$ .

мины, простаноиды, нейропептиды, NO) [3, 24]. Взаимодействие медиаторных механизмов в регуляции фазных сокращений детрузора может происходить по принципу отрицательной обратной связи, как это показано в случае нейрогенной активации холинергического, пуринергического и других вспомогательных компонентов [19].

Участие холинергического компонента в модуляции СЭП-сокращений детрузора оценивали после кратковременной инкубации (до 5 мин) полосок с КХ ( $10^{-5}$  моль/л) перед добавлением АТ. Установлено, что дополнительная активация М-холинорецепторов на фоне СЭП приводит к снижению амплитуды АТ-резистентных ответов у всех исследованных полосок (рис. 1). При этом угнетение сократительных ответов выражено в большей степени у полосок Т ( $7,9 \pm 1,2$  %) в сравнении с полосками из группы контроля ( $15,1 \pm 2,6$  %), ГМП ( $15,2 \pm 1,7$  %), Е ( $13,6 \pm 4,2$  %) и Е/Т ( $17,0 \pm 4,1$  %).



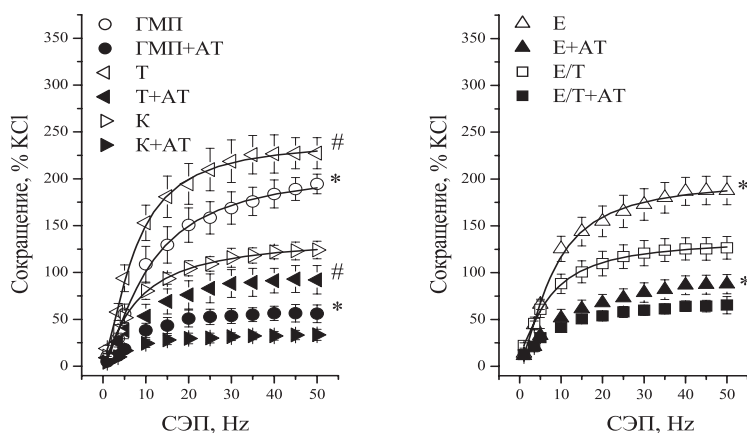


Рис. 2. Сократительные реакции детрузора крысы в ответ на стимуляцию электрическим полем переменной частоты (СЭП, 1–50 Hz) до и после добавления  $10^{-6}$  моль/л атропина (+АТ). Полоски, изолированные у животных контроля (К), группы гиперактивного мочевого пузыря (ГМП), групп, получавших эстрадиол (Е), тестостерон (Т) и комбинацию эстрадиола и тестостерона (Е/Т)

Примечание. \* $P \leq 0,05$  по отношению к контролю, # $P \leq 0,05$  по отношению к контролю и ГМП,  $n = 8-10$ .

Исследование динамики изменения амплитуды сокращений полосок в зависимости от частоты СЭП (1–50 Hz) до и после добавления АТ позволило оценить участие холинергического компонента и пула нехолинергических компонентов в нейрогенных реакциях детрузора при достижении пороговой интенсивности электростимуляции (рис. 2). В этих условиях эксперимента максимальные амплитуды СЭП-сокращений ( $E_{\max}$ , % KCl) полосок из групп ГМП ( $212,7 \pm 9,9$  %), Е ( $198,9 \pm 5,7$  %) и Т ( $241,4 \pm 4,4$  %) превосходили показатели полосок Е/Т ( $136,0 \pm 2,0$  %) и контроля ( $138,4 \pm 2,1$  %). При этом АТ-резистентные ответы ( $E_{\max+AT}$ , % KCl) у полосок Е ( $104,0 \pm 6,3$  %), Т ( $111,1 \pm 8,0$  %) и Е/Т ( $69,1 \pm 2,4$  %) значительно выше, чем у полосок из групп ГМП ( $57,7 \pm 0,9$  %) и контроля ( $34,1 \pm 0,8$  %).

Данные, полученные при изучении резерпиновой модели ГМП у крыс, свидетельствуют, что повышение амплитуды нейрогенных ответов детрузора обусловлено активацией холинергического и пуринергического компонентов при участии простагландин [25–28]. Прирост амплитуды СЭП-сокращений у полосок Е и Т был связан исключительно с активацией нехолинергических механизмов, тогда как активность холинергического компонента оставалась на

уровне контроля или снижалась, как у полосок из группы Е/Т.

Таким образом, установлено, что введение эстрадиола животным с ГМП вызывало значительные изменения в регуляции сократительной деятельности детрузора, а именно, повышение чувствительности к  $K^+$ -деполяризации, снижение миогенных ответов на КХ и нейрогенных реакций на СЭП с постоянной частотой 20 Hz (средней интенсивности). Подобные изменения обычно наблюдаются в связи с развитием обструктивных и/или ишемических нарушений функции МП [1–4, 23, 25]. Нестабильность детрузора проявлялась также в повышении амплитуды АТ-резистентных нейрогенных реакций на СЭП с переменной частотой 1–50 Hz (возрастающей интенсивности). В этих условиях отмечено усиление нейрогенных реакций детрузора у животных, получавших тестостерон, а у животных, получавших комбинацию эстрадиола и тестостерона, амплитуда сокращений детрузора соответствовала уровню контрольной группы.

Известно, что гормональное истощение у самок крыс (старение, овариэктомия) ведет к увеличению частоты мочеиспускания, структурным изменениям в МП (атрофии), повышению чувствительности детрузора к пуринергической стимуляции, снижению чувствительности детрузора к холино- и адре-

номиметикам. Эстрадиол и тестостерон могут препятствовать развитию морфологических и функциональных нарушений в МП [12, 29, 30]. Результаты исследований на самках крыс с экспериментальным ГМП свидетельствуют, что искусственный дисбаланс стероидов, вызванный введением эстрадиола или тестостерона по отдельности, потенцировал гиперактивный ответ детрузора. Тогда как введение комбинации эстрадиола и тестостерона способствовало снижению сократительной активности детрузора. Аналогичные данные получены при исследовании влияния стероидных гормонов на морфологические изменения и экспрессию NO-синтазы в тканях ГМП у самок крыс, связанные с избыточной продукцией NO. В частности, только введение комбинации эстрадиола и тестостерона повышало соотношение маркеров конститутивных изоформ (eNOS, nNOS) и

индуцибельной NO-синтазы (iNOS), что оказывало положительный эффект на восстановление регуляции NO-эргической системы в стенке ГМП [31].

Комбинированное применение стероидных гормонов позволит повысить безопасность и эффективность ГЗТ при симптоматическом лечении органов урогенитального тракта.

## Выводы

1. Введение эстрадиола (1 мг/кг) и тестостерона пропионата (2 мг/кг) в монорежиме на протяжении 2 недель самкам крыс с экспериментальной моделью ГМП усиливало нестабильность детрузора.
2. Введение самкам крыс с ГМП комбинации эстрадиола и тестостерона пропионата способствовало нормализации нейрогенных сокращений детрузора за счет снижения активности холинергического компонента.

1. Steers W. D. Pathophysiology of Overactive Bladder and Urge Urinary Incontinence / W. D. Steers // *Rev. Urol.* – 2002. – V. 4 (Suppl 4). – P. S7–S18.
2. Patra P. B. Research Findings on Overactive Bladder / P. B. Patra, S. Patra // *Curr Urol.* – 2015. – V. 8 (1). – P. 1–21.
3. Patra P. B. Sex Differences in the Physiology and Pharmacology of the Lower Urinary Tract / P. B. Patra, S. Patra // *Curr Urol.* – 2013. – V. 6 (4). – P. 179–188.
4. Oestrogens and overactive bladder / D. Robinson, L. Cardozo, I. Milsom [et al.] // *Neurourol Urodyn.* – 2014. – V. 33 (7). – P. 1086–1091.
5. Quinn S. D. The effects of hormones on urinary incontinence in postmenopausal women / S. D. Quinn, C. Domoney // *Climacteric.* – 2009. – V. 12 (2). – P. 106–113.
6. Effects of estrogen with and without progesterin on urinary incontinence / S. L. Hendrix, B. B. Cochrane, I. E. Nygaard [et al.] // *JAMA.* – 2005. – V. 293 (8). – P. 935–948.
7. Clinical Study: Effect of Supplementation with High Genistein Soybean Isoflavones and Pumpkin Standardized Extract on Urinary Incontinence in Western Perimenopausal Women / J. A. Maranon, C. Lozano, L. Martinez-Campesino [et al.] // *J Gynecol Women's Health.* – 2017. – V. 4 (1), 555627. DOI: 10.19080/JGWH.2017.04.555627.
8. Androgen in postmenopausal women / T. Yasui, S. Matsui, A. Tani [et al.] // *J Med Invest.* – 2012. – V. 59 (1–2). – P. 12–27.
9. Panzer C. Testosterone replacement therapy in naturally and surgically menopausal women / C. Panzer, A. Guay // *J Sex Med.* – 2009. – V. 6. – P. 8–18.
10. Androgen levels in adult females: Changes with age, menopause, and oophorectomy / S. L. Davison, R. Bell, S. Donath [et al.] // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2005. – V. 90. – P. 3847–3853.
11. Molecular Mechanisms of Bladder Outlet Obstruction in Transgenic Male Mice Overexpressing Aromatase (Cyp19a1) / W. Lin, N. A. Rahman, J. Lin [et al.] // *Am J Pathol.* – 2011. – V. 178 (3). – P. 1233–1244.
12. Testosterone supplementation's effects on age-related bladder remodeling – experimental study in rats / C. A. De Barros, F. Lorenzetti, V. Ortiz, M. Dambros // *Aging Male.* – 2013. – V. 16 (3). – P. 102–107.
13. Hall R. Effects of testosterone on neuromuscular transmission in rat isolated urinary bladder / R. Hall, P. L. Andrews, C. H. Hoyle // *Eur J Pharmacol.* – 2002. – V. 449 (3). – P. 301–309.
14. Differential effects of estradiol, progesterone, and testosterone on vaginal structural integrity / M. A. Pessina, Jr. R. F. Hoyt, I. Goldstein, A. M. Traish // *Endocrinol.* – 2006. – V. 147 (1). – P. 61–69.
15. Testosterone increase blood flow and expression of androgen and estrogen receptors in the rat vagina / A. M. Traish, S. W. Kim, M. Stancovic [et al.] // *J Sex Med.* – 2007. – V. 4. – P. 609–619.
16. Evidence that parenteral testosterone therapy may improve endothelium-dependent and endothelium-independent vasodilatation in postmenopausal women already receiving estrogen / S. Worboys, D. Kostopoulos, H. Teede [et al.] // *J Clin Endocr Met.* – 2001. – V. 86 (1). – P. 158–161.

17. Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» // Відомості Верховної Ради України. – 2006. – № 27. – С. 990.
18. *Triguero D.* Changes in nerve-mediated contractility of the lower urinary tract in a mouse model of premature ageing / D. Triguero, A. Lafuente-Sanchis, A. Garsia-Pascual // *Brit J Pharmacol.* – 2014. – V. 171. – P. 1687–1705.
19. Plasticity of non-adrenergic non-cholinergic bladder contractions in rats after chronic spinal cord injury / H. H. Lai, A. Munoz, C. P. Smith [et al.] // *Brain Res Bull.* – 2011. – V. 86 (1–2). – P. 91–96.
20. *Owen S. J.* Dietary phytoestrogens maintain contractile responses to carbachol with age in the female rat isolated bladder / S. J. Owen, R. B. Rose-Meyer, H. M. Massa // *Life Sci.* – 2011. – V. 89. – P. 213–220.
21. Костев Ф. І. Енерготропний ефект препарату кверцетин на гіперактивний сечовий міхур в експерименті / Ф. І. Костев, Р. В. Савчук // *Одеський медичний журнал.* – 2008. – № 5. – С. 33–35.
22. *Araklitis G.* Safety issues associated with using medication to treat overactive bladder / G. Cardozo // *Expert Opin Drug Saf.* – 2017. – V. 16 (11). – P. 1273–1280.
23. *Kullmann F. A.* Effects of  $\beta 3$ -Adrenergic Receptor Activation on Rat Urinary Bladder Hyperactivity Induced by Ovariectomy / F. A. Kullmann, B. J. Limberg, D. E. Artim [et al.] // *J Pharm Exp Ther.* – 2009. – V. 330 (3). – P. 704–717.
24. Reactivity of Urinary Bladder Smooth Muscle in Guinea Pigs to Acetylcholine and Carbachol: Participation of Acetylcholinesterase / J. Mokry, M. Jakubesova, J. Švihra [et al.] // *Physiol. Res.* – 2005. – V. 54. – P. 453–458.
25. *Andersson K. E.* Urinary bladder contraction and relaxation: physiology and pathophysiology / K. E. Andersson, A. Arner // *Physiol Rev.* – 2004. – V. 84. – P. 935–986.
26. *Burnstock G.* Purinergic signaling in the urinary tract in health and disease / G. Burnstock // *Purinergic Signalling.* – 2014. – V. 10. – P. 103–155.
27. Activation of muscarinic receptors in rat bladder sensory pathways alters reflex bladder activity / F. A. Kullmann, D. E. Artim, L. A. Birder, W. C. De Groat // *J Neurosci.* – 2008. – V. 28. – P. 1977–1987.
28. *Dobrek L.* The role of prostanoids in the urinary bladder function and a potential use of prostanoid-targeting pharmacological agents in bladder overactivity treatment / L. Dobrek, P. J. Thor // *Acta Pol Pharm – Drug Res.* – 2015. – V. 72 (1). – P. 13–19.
29. The effect of testosterone alone and testosterone-estradiol therapy on bladder functions and smooth muscle/collagen content in surgically menopause induced rats / F. Cayan, M. Tek, E. Balli [et al.] // *Maturitas.* – 2008. – V. 60 (3–4). – P. 248–252.
30. Effects of steroid hormones on morphology and vascular endothelial growth factor expression in female bladder. / Y. Yu, Z. Shen, X. Zhou, S. Chen // *Urology.* – 2009. – V. 73 (6). – P. 1210–1217.
31. *Iatsyna O.* Morphological assessment of NO-synthase distribution in overactive bladder and stress urine incontinence in animal models administered with experimental pharmacocorrection regimens / O. Iatsyna, S. Vernygorodskyi, F. Kostyev // *Georgian med news.* – 2018. – V. 279 (6). – P. 143–150.

**А. И. Яцина, А. В. Паршиков, Р. С. Вастьянов, Ф. И. Костев, И. В. Данова**

### **Влияние эстрадиола и тестостерона на сократительную активность мочевого пузыря крыс**

Исследовали влияние эстрадиола и тестостерона на регуляцию сократительной деятельности детрузора у самок крыс с гиперактивным мочевым пузырем (ГМП). Экспериментальную модель ГМП вызывали путем введения 0,45 мг/кг резерпина. Животным с ГМП вводили 17 $\beta$ -эстрадиол (Е, 1 мг/кг), тестостерон пропионат (Т, 2 мг/кг) и их комбинацию (Е/Т, 1 мг/2 мг на кг). Регистрировали изменения амплитуды миогенных и нейрогенных реакций (стимулированных электрическим полем, СЭП) полосок мочевого пузыря, изолированных у животных после 2 недель введения препаратов.

Наблюдали повышение амплитуды сокращений на KCl (100 ммоль/л) и снижение миогенных ответов на карбахолин ( $10^{-5}$  мкмоль/л) у полосок из группы Е по сравнению с другими экспериментальными группами. При стимуляции нейрогенных реакций с постоянной частотой (СЭП, 20 Hz) амплитуда сокращений полосок из группы ГМП значительно превосходила показатели контрольной группы и всех групп, получавших гормоны. В условиях стимуляции с возрастающей частотой (СЭП, 1–50 Hz) уровень нейрогенных сокращений полосок ГМП, Е и Т значительно выше, чем у полосок из группы Е/Т и контроля. Эти различия в регуляции сократительной активности детрузора не устранялись после добавления атропина и были связаны с участием нехолинергического компонента. Исследования показали, что искусственный дисбаланс стероидных гормонов (повышение уровня эстрадиола или тестостерона) способствует нарушениям в регуляции сократительной деятельности ГМП. Тогда как применение эстрадиола и тестостерона в комбинации может препятствовать ухудшению функции мочевого пузыря.

*Ключевые слова:* гиперактивный мочевой пузырь, эстрадиол, тестостерон, сократительная активность детрузора

---

**О. І. Яцина, О. В. Паршиков, Р. С. Вастьянов, Ф. І. Костєв, І. В. Данова**  
**Вплив естрадіолу та тестостерону на скоротливу активність сечового міхура щурів**

Досліджували вплив естрадіолу та тестостерону на регуляцію скоротливої діяльності детрузора в самок щурів з гіперактивним сечовим міхуром (ГСМ). Експериментальну модель ГСМ викликали шляхом введення 0,45 мг/кг резерпіну. Тваринам з ГСМ вводили 17 $\beta$ -естрадіол (Е, 1 мг/кг), тестостерону пропіонат (Т, 2 мг/кг) та їхню комбінацію (Е/Т, 1 мг/2 мг на кг). Реєстрували зміни амплітуди міогенних та нейрогенних реакцій (стимульованих електричним полем, СЕП) смужок сечового міхура, ізольованих у тварин після 2 тижнів введення препаратів.

Спостерігали підвищення амплітуди скорочення на КСІ (100 ммоль/л) і зниження міогенних відповідей на карбахолін ( $10^{-5}$  моль/л) у смужок з групи Е порівняно з іншими експериментальними групами. За умови стимуляції нейрогенних реакцій з постійною частотою (СЕП, 20 Hz) амплітуда скорочень смужок з групи ГСМ значно перевищувала показники контрольної групи та всіх груп, які отримували гормони. За умови стимуляції зі зростанням частоти (СЕП, 1–50 Hz) рівень нейрогенних скорочень у смужок ГСМ, Е, і Т був значно вищим, ніж у смужок з групи Е/Т і контролю. Ці відмінності в регуляції скоротливої активності детрузора залишалися після додавання атропіну й були пов'язані з участю нехолінергічного компоненту. Дослідження показали, що штучний дисбаланс стероїдних гормонів (підвищення рівня естрадіолу або тестостерону) сприяє порушенням в регуляції скоротливої діяльності ГСМ. Тоді як застосування естрадіолу та тестостерону в комбінації може запобігати погіршенню функції сечового міхура.

*Ключові слова:* гіперактивний сечовий міхур, естрадіол, тестостерон, скоротлива активність детрузора

**О. І. Iatsyna, O. V. Parshykov, R. S. Vastianov, F. I. Kostiev, I. V. Danova**  
**Effect of estradiol and testosterone on bladder contractile activity in rats**

The influences of estradiol and testosterone on regulation of contractile activity of the detrusor in female rats with the overactive bladder (OB) were studied. An experimental OB model was obtained by reserpine treatment (0,45 mg/kg) of animals. Animals with OB were administrated 17 $\beta$ -estradiol (E, 1mg/kg), testosterone propionate (T, 2 mg/kg) each alone, and a combination thereof (E/T 1 mg/2 mg per kg). Changes in the amplitude myogenic and neurogenic (electric field stimulated, EFS) contractile responses of the bladder strips isolated from animals after 2 weeks medicines administration were determined.

There were observed an increase in the amplitude of contractions as response to KCl (100 mM) and a decrease in myogenic responses to carbachol ( $10^{-5}$  M) in group E bladder strips compared to those in other experimental groups. Under the condition of stimulation of neurogenic reactions with constant frequency (EFS, 20 Hz) the amplitude of bladder strips contraction from the OB group significantly exceeded meanings of the control group and all hormone treated groups. Under the condition of stimulation with increasing frequency (EFS, 1–50 Hz) the levels of the bladder strips neurogenic contractions in OB, E and T groups were significantly higher than in E/T and control groups. These differences in regulation of the detrusor contractile activity persisted after addition of atropine and were associated with the involvement of the non-cholinergic component.

The study demonstrated that an artificial imbalance of steroid hormones (enhancement of estradiol or testosterone levels) may increase the instability of the detrusor and contribute to disturbances in the regulation of OB myogenic and neurogenic contractions. Administration to animals with OB estradiol together with testosterone contributed to the normalization of neurogenic detrusor contractions by reducing the activity of the cholinergic component.

It is assumed that the use of a combination of estradiol and testosterone can prevent the deterioration of the bladder function in women, including those that are not directly related to changes in the hormonal status. The management of OB with steroid hormones in combination with other medicines requires further study.

*Key words:* overactive bladder, estradiol, testosterone, contractile activity of the detrusor

---

*Надійшла: 28 листопада 2018 р.*

**Контактна особа:** Яцина Олександр Іванович, старший науковий співробітник,  
Національний інститут раку, буд. 33/43, вул. Ломоносова, м. Київ, 03022. Тел.: + 38 0 67 698 55 11.  
Електронна пошта: yatsyna@gmail.com

Г. В. Зайченко<sup>1</sup>, Є. О. Танцура<sup>2</sup>

## **Частота поліморфізму гена цитохрому Р-450 3А4 серед дітей з фармакорезистентними формами епілепсії**

<sup>1</sup>Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ<sup>2</sup>Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

**Ключові слова:** поліморфізм гена СYP3A4, діти, фармакорезистентні епілепсії

Сучасний період фармакологічної науки називають післягеномним, а її розділ – фармакогенетика – сьогодні набуває стрімкого розвитку. Вивчення фармакогенетичних особливостей закладає підґрунтя персоніфікованого підходу до діагностики й відповідно більш успішного та безпечного лікування захворювань.

У процесі вивчення геному людини з'ясувалося, що від індивідуальних генетично детермінованих особливостей організму залежать і ризик виникнення, і характер перебігу багатьох захворювань, ефективність і безпечність фармакотерапії, особливо якщо вона призначається на тривалий час і передбачає одночасне застосування декількох лікарських препаратів. Відомо, що залежно від швидкості біотрансформації одна й та сама лікарська речовина в терапевтичній дозі може по-різному впливати на різних індивідуумів: від відсутності ефективності до вираженої токсичної дії [1]. Саме це стосується такого захворювання як епілепсія, а особливо її фармакорезистентних форм, у разі яких, зазвичай, призначають комбіновану фармакотерапію, а пацієнти вимушені тривалий час, а інколи пожиттєво приймати антиепілептичні препарати (АЕП) [2–3].

Одним з найважливіших для успіху фармакотерапії є стан системи цитохрому Р-450, зокрема СYP3A4, який біотрансформує близько 50–60 % від усіх лікарських препаратів [4], тому зусилля вчених багатьох країн спрямовані на вивчення гена СYP3A4, що кодує одиниць фермент, однак отримані

результати неоднозначні, залишається багато невирішених питань. В опублікованих роботах питання фармакогенетики часто не були основними, а кількість проаналізованих зразків – недостатньою, досліджувався метаболізм одного АЕП, що не співпадає зі щоденною практикою епілептологів і неврологів, особливо у випадках призначення двох і більше лікарських засобів [5]. До останнього часу вважалося, що ген СYP3A4 зберігає стійкість до мутацій, не має вираженого поліморфізму, але дослідження останніх років виявляють нові алейні варіанти (на цей час відомо 23). Більшість з них пов'язують з впливом на активність ензимів, що беруть участь у першій фазі детоксикації ксенобіотиків, зниженням їхньої активності. Найважливіше значення має поліморфізм гена СYP3A4\*1В, він найвивченіший з точки зору впливу на функціональний стан ферментів системи цитохрому Р-450, впливу та представництва в різних расових та етнічних групах. Існуючі популяційні дослідження показали значні міжрасові генетичні відмінності, зокрема в поширеності генотипу СYP3A4\*1В, який сповільнює метаболізм більшості ксенобіотиків, у тому числі й багатьох АЕП. Такий алейний варіант зустрічається в 53 % афроамериканців, у 9 % кавказців і зовсім не зустрічається в азіатів [6].

Відомі ще щонайменше три ізоферменти цитохрому Р-450, які також беруть участь у біотрансформації АЕП – СYP2C9, СYP2C19, СYP2D6, однак участь та роль кожного з них у складних процесах метаболізму цих препаратів залишається до кінця не визначеною [7].

*Мета дослідження* – визначення частоти поліморфізму гена цитохрому



P-450 3A4 у дітей, які страждають на фармакорезистентні форми епілепсії в Україні.

**Матеріали та методи.** Нами були проаналізовані результати фармакогенетичного обстеження 68 пацієнтів (дітей та підлітків), з них хлопчиків – 42 (62,69 %), дівчаток – 26 (37,31 %), віком від 5 місяців до 18 років, середній вік був  $(9,60 \pm 5,65)$  років. Усі діти страждають на тяжкі, рефрактерні до лікування форми епілепсії, коли незважаючи на застосування моно-, а потім і політерапії (прийом від 1 до 4 АЕП), довготривалий підбір АЕП, епілептичні напади продовжуються. Термін захворювання був від 1 місяця до 16 років. Усі обстежені пацієнти – мешканці України, слов'яни. Діти знаходяться під спостереженням фахівців ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України». Попередньо було отримано письмову згоду батьків на проведення даного дослідження. Дослідження було дозволене Комітетом з етики ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України».

Усім дітям були проведені генетичні дослідження в ДУ «Інститут геронтології НАМН України», лабораторії епігенетики (м. Київ), методом алельспецифічної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Геномну ДНК з клінічного матеріалу (лейкоцитів цільної крові) виділяли за допомогою реагенту «ДНК-сорб-В» («ІнтерЛабСервіс», Росія). Алельні варіанти гена CYP3A4 встановлювали з використанням діагностичних наборів «SNP-експрес» виробництва НВФ «Літех», Росія. Була застосована наступна програма ампліфікації: 93° – 1 хв; 93° – 10 с, 64° – 10 с, 72° – 20 с, 35 циклів; 72° – 1 хв. Розділення продуктів ампліфікації проводили методом горизонтального електрофорезу. У 3 % агарозний гель вносили по 15 мкл ампліфіката в послідовності, що відповідала нумерації проб. Напруга джерела складала 10–15 В/см гелю (для камери з відстанню між електродами 27 см і максимального напругою 150 В). Фрагменти ДНК проявляли під ультрафіолетовим випромінюванням за довжини хвилі 310 нм.

За допомогою алельспецифічних

праймерів визначали однонуклеотидний поліморфізм 392A > G гена CYP3A4\*1B (rs2740574).

Статистичну обробку результатів (встановлення достовірності відмінностей між групами) проводили з використанням критерію  $\chi$ -квадрат, різницю вважали достовірною в разі  $p < 0,05$ .

**Результати та їх обговорення.** У проведеному фармакогенетичному дослідженні з визначенням частоти, з якою фіксувалися генотипи CYP3A4 у групі дітей з фармакорезистентними епілепсіями, домінувала алель CYP3A4\*1A, вона зустрічалася в 61 пацієнта (89,71 %). Цей генотип характерний для більшості людей і відповідає за нормальний метаболізм лікарських засобів, у тому числі АЕП. Алель CYP3A4\*1B була присутня в 7 пацієнтів (10, 29 %) (хлопчики – 5, дівчатка – 2). Для неї характерним є повільний метаболізм лікарських засобів, у тому числі й АЕП.

У 3 дітей був тільки один поліморфізм гена – CYP3A4\*1B, а в 4 інших мало місце його поєднання з генотипами CYP2C9\*2 і CYP2C19\*2, які також кодують ензими «повільної» дії та додатково сповільнюють метаболізм АЕП. У таблиці 1 наведено поліморфізм CYP3A4\*1B і його поєднання з іншими генотипами в дітей з фармакорезистентними епілепсіями.

Не існує єдиної думки щодо переліку АЕП, які біотрансформуються за допомогою ферментів цитохрому P-450 – CYP3A4, а з появою нових досліджень їхня кількість весь час збільшується. У таблиці 2 наведено дослідження, що стосуються біотрансформації АЕП цитохромом 3A4.

Дотепер в Україні дослідження з визначення частоти поліморфізму генотипу CYP3A4 у загальній популяції в дорослих і дітей, хворих як на курасельні епілепсії, так і фармакорезистентні, не проводилися.

Результати популяційних фармакогенетичних досліджень, проведених у різних країнах, з визначенням частоти, з якою зустрічається «повільна» алель гена, що кодує ензим CYP3A4\*1B, наведено в таблиці 3.

В інших країнах проведені тільки поодинокі дослідження частоти алельного варіанту гена CYP3A4\*1B у

**Поліморфізм гена CYP3A4 та його поєднання з іншими генотипами в дітей з фармакорезистентними формами епілепсії**

| № п/п | Ініціали | Стать | Вік                 | Поліморфізм                        |
|-------|----------|-------|---------------------|------------------------------------|
| 1     | С. Т.    | Ч     | 1 рік 6 місяців     | CYP3A4*1B                          |
| 2     | Б. С.    | Ч     | 13 років 10 місяців | CYP3A4*1B                          |
| 3     | В. Д.    | Ч     | 8 років 6 місяців   | CYP3A4*1B                          |
| 4     | Г. А.    | Ч     | 1 рік 3 місяці      | CYP3A4*1B<br>CYP2C9*2              |
| 5     | М. Д.    | Ч     | 7 років             | CYP3A4*1B<br>CYP2C9*2<br>CYP2C19*2 |
| 6     | С. К.    | Ж     | 10,5 місяців        | CYP3A4*1B<br>CYP2C9*2              |
| 7     | Л. А.    | Ж     | 4 роки              | CYP3A4*1B<br>CYP2C19*2             |

дітей, хворих на резистентні до лікування епілепсії. Так, мексиканськими фахівцями було проведено дослідження з визначенням частоти генетичного поліморфізму CYP3A4\*1B у 23 дітей з фармакорезистентними епілепсіями та в 7 дітей з епілепсіями, які добре піддаються лікуванню. Показано достовірну різницю – geno-

тип CYP3A4\*1B був зафіксований у 78,3 % дітей з фармакорезистентними епілепсіями й у 14,3 % дітей з контрольної групи. На основі отриманих результатів автори роблять припущення про важливу роль алельного варіанту CYP 3A4\*1B у перебігу епілепсій, вважають, що його присутність є фактором ризику розвитку резистентності до лікування.

Згідно з отриманими нами даними, де частота генотипу CYP3A4\*1B у дітей з фармакорезистентними епілепсіями складає 10,29 %, не має достовірної різниці ( $p > 0,05$ ) і майже співпадає з результатами популяційних досліджень серед кавказців, в яких частота алельного варіанту CYP3A4\*1B складає 9,00 % [12].

У 4 (57,13 %) дітей з 7 спостерігали небажані побічні реакції на лікарські засоби та погіршення перебігу захворювання, пов'язані з лікуванням АЕП. Небажаними побічними реакціями були алергічні прояви та патологічні зміни з боку нервової системи.

#### Висновки

1. Серед дітей з фармакорезистентними формами епілепсії генотип цитохрому Р-450 3A4\*1B зустрічається в 10,29 % і достовірно не відрізняється ( $p > 0,05$ ) від показника, який

Таблиця 2

**Антиепілептичні препарати, які метаболізуються за допомогою CYP3A4**

| Антиепілептичний препарат                                                                               | Література                                      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Карбамазепін<br>Тіагабін<br>Фелбамат                                                                    | U. Zander et. al.,<br>2008 [8]                  |
| Карбамазепін<br>Етосуксимід<br>Тіагабін<br>Зонізамід                                                    | E. Perucca,<br>2006 [9]                         |
| Карбамазепін<br>Клобазам<br>Клоназепам<br>Етосуксимід<br>Фелбамат<br>Тіагабін<br>Зонізамід<br>Топірамат | S. I. Johannessen,<br>C. Landmark,<br>2010 [10] |

*Дані популяційних досліджень щодо частоти поліморфізму гена CYP3A4*

| Країна, раса, етнічна група            | Кількість досліджених, n | CYP3A4*1B, % | Література |
|----------------------------------------|--------------------------|--------------|------------|
| Боснія та Герцоговина                  | 140                      | 5,1          | [11]       |
| Мексика                                | 69                       | 11,0         | [12]       |
| США, білі американці                   | 273                      | 3,6          | [13]       |
| США, афроамериканці                    | 186                      | 54,6         | [13]       |
| США, американці іспанського походження | 188                      | 9,3          | [13]       |
| США, американці японського походження  | 77                       | 0,0          | [13]       |
| США, американці китайського походження | 78                       | 0,0          | [13]       |

фіксується в загальній популяції кавказців – 9,00 %.

2. У більшості випадків (57,13 %) було зафіксовано поєднання алельного варіанту CYP3A4\*1B з іншими генотипами (CYP2C9\*2 і CYP2C19\*2), які контролюють відповідні ензими та сповільнюють метаболізм АЕП.

3. Фармакогенетичне тестування може стати важливим інструментом персоналізованого лікування педіатричних пацієнтів з фармакорезистентними формами епілепсії та знизити ризики ускладнень медикаментозної терапії.

1. Клиническая фармакогенетика: учебное пособие; под редакцией В. Г. Кукеса, Н. П. Бочкова / Д. А. Сычев, Г. В. Раменская, И. В. Игнатъев, В. Г. Кукес. – Москва : ГЕОТАР-Медиа, 2007. – 248 с.
2. Kwan P. Combination therapy in epilepsy: When and what to use / P. Kwan, M. J. Brodie // *Drugs*. – 2006. – № 66. – P. 1817–1829.
3. Louis E. K. Truly «rational» polytherapy: Maximizing efficacy and minimizing drug interactions, drug load, and adverse effects / E. K. Louis // *Curr Neuropharmacol*. – 2009. – № 7. – P. 96–105.
4. Cohen N. Pharmacogenomics and Personalized Medicine / N. Cohen. – Humana Press, 2010. – 528 p.
5. Полуненко Т. О. Фармакогенетичні аспекти сучасної медикаментозної терапії / Т. О. Полуненко, П. Б. Антоненко, В. И. Кресюн // *Досягнення біохімії та медицини*. – 2016. – № 2 (28). – С. 61–67.
6. Genetic Polymorphisms of the CYP3A4 Enzyme and Potential Influence on Drug Efficacy and/or Safety / Evidence – based medicine consult. Editor-in-Chief, A. J. Busti, 2015.
7. Anderson G. D. Pharmacokinetic, pharmacodynamic, and pharmacogenetic targeted therapy of antiepileptic drugs / G. D. Anderson // *Ther. Drug Monit*. – 2008. – V. 30. – P. 173–180.
8. Functional pharmacogenetic/genomic of human cytochrome P450 involved in drug biotransformation. Anal / U. Zander, M. Turpinen, K. Klein, M. Schwab // *Bioanal Chem*. – 2008. – № 392. – P. 1093–1108.
9. Perucca E. Clinically relevant drug interaction with antiepileptic drugs / E. Perucca // *British Journal of Clinical Pharmacology*. – 2006. – № 61 (3). – P. 246–256.
10. Johannessen S. I. Antiepileptic Drug Interaction – Principles and Clinical Implication / S. I. Johannessen, C. Landmark // *Current Neuropharmacology*. – 2010. – № 8 (3). – P. 254–267.
11. Analysis of CYP3A4\*1B and CYP3A5\*3 polymorphisms in population of Bosnia and Herzegovina / S. Semiz, T. Dujc, B. Ostanec [et al.] // *Med Glas (Zenica)*. – 2011. – № 8 (1). – P. 84–89.
12. Population distribution and effects on drug metabolism of a genetic variant in the 5 promoter region of CYP3A4 / S. E. Ball, J. Scatina, J. Kao [et al.] // *Clin Pharmacol Ther*. – 1999. – № 66 (3). – P. 288–94.
13. Influence of genetic variants of CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 and CYP3A4 on antiepileptic drug metabolism in pediatric patients with refractory epilepsy / M. A. López-García, I. A. Fera-Romero, H. Serrano [et al.] // *Pharmacol Rep*. – 2017. – № 69 (3). – P. 504–511.

---

**Г. В. Зайченко , Є. О. Танцура**

### **Частота поліморфізму гена цитохрому P-450 3A4 серед дітей з фармакорезистентними формами епілепсії**

Проведено фармакогенетичне дослідження з визначенням поліморфізму гена CYP3A4 у 68 дітей (хлопчики – 62,69 %, дівчатка – 37,31 %) віком від 5 місяців до 18 років, які страждають на тяжкі, рефрактерні до лікування форми епілепсії. Термін захворювання був від 1 місяця до 16 років. Усі обстежені пацієнти – мешканці України, слов'яни. Генетичні дослідження проведені методом алель-специфічної полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР) з подальшою візуалізацією продуктів ампліфікації в агарозному гелі. За допомогою алельспецифічних праймерів визначали однонуклеотидний поліморфізм 392A > G гена CYP3A4\*1B (rs2740574).

У 61 (89,71 %) дитини домінувала алель CYP3A4\*1A. Цей генотип характерний для більшості людей і відповідає за нормальний метаболізм. Алель CYP3A4\*1B була присутня у 7 (10,29 %) пацієнтів (хлопчики – 5, дівчатка – 2). Для неї характерним є повільний метаболізм лікарських засобів, у тому числі й антиепілептичних препаратів (АЕП). Частота поліморфізму CYP3A4\*1B – 10,29 %, достовірно не відрізняється ( $p > 0,05$ ) від показників у загальній популяції кавказців, де вона становить 9,00 %. У більшості випадків (57,13 %) було зафіксовано поєднання алельного варіанту CYP3A4\*1B, з іншими генотипами (CYP2C9\*2 і CYP2C19\*2), які контролюють відповідні ензими та додатково сповільнюють метаболізм АЕП. У 4 (5,71 %) дітей з 7 спостерігали небажані побічні реакції на лікарські засоби та погіршення перебігу захворювання, пов'язані з лікуванням АЕП. Небажаними побічними реакціями були алергічні прояви та патологічні зміни з боку нервової системи.

Фармакогенетичне тестування може стати важливим інструментом персоналізованого лікування педіатричних пацієнтів з фармакорезистентними формами епілепсії та знизити ризики ускладнень медикаментозної терапії.

*Ключові слова: поліморфізм гена CYP3A4, діти, фармакорезистентні епілепсії*

**А. В. Зайченко , Е. А. Танцура**

### **Частота полиморфизма гена цитохрома P-450 3A4 среди детей с фармакорезистентными формами эпилепсии**

Проведено фармакогенетическое исследование с определением полиморфизма гена CYP3A4 у 68 детей (мальчики – 62,69 %, девочки P-450 37,31 %) в возрасте от 5 месяцев до 18 лет с тяжелыми, рефрактерными к лечению формами эпилепсии. Длительность заболевания была от 1 месяца до 16 лет. Все обследованные пациенты – жители Украины, славяне. Генетические исследования проведены методом аллельспецифической полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующей визуализацией продуктов амплификации в агарозном геле. С помощью аллельспецифических праймеров определяли однонуклеотидный полиморфизм 392A > G гена CYP3A4\*1B (rs2740574).

У 61 (89,71 %) ребенка доминировала аллель CYP3A4\*1A. Этот генотип характерен для большинства людей и отвечает за нормальный метаболизм. Аллель CYP3A4\*1B присутствует у 7 (10,29 %) пациентов (мальчики – 5, девочки – 2). Для нее характерен медленный метаболизм лекарственных средств, в том числе и антиэпилептических препаратов (АЭП).

Частота полиморфизма CYP3A4\*1B – 10,29 %, достоверно не отличается ( $p > 0,05$ ) от показателей, фиксирующихся в общей популяции кавказцев, где она составляет 9,00 %. В большинстве случаев (57,13 %) было зафиксировано сочетание аллельного варианта CYP3A4\*1B, с другими генотипами (CYP2C9\*2 и CYP2C19\*2), которые контролируют соответствующие ферменты и замедляют метаболизм АЭП. У 4 (5,71 %) детей из 7 наблюдали нежелательные побочные реакции на лекарственные средства и ухудшение течения заболевания, связанные с приемом АЭП. Нежелательными побочными реакциями были аллергические проявления и патологические изменения со стороны нервной системы.

Фармакогенетическое тестирование может стать важным инструментом персонализированного лечения педиатрических пациентов с фармакорезистентными формами эпилепсии и снизить риски осложнений медикаментозной терапии.

*Ключевые слова: полиморфизм гена CYP3A4, дети, фармакорезистентные эпилепсии*

**G. V. Zaychenko, Y. O. Tantsura**

### **Frequency of gene polymorphism of cytochrome P-450 3A4 in children with pharmacoresistent forms of epilepsy**

We conducted a pharmacogenetic study to determine the polymorphism of the CYP3A4 gene in 68 children (boys – 62,69 %, girls – 37,31 %), aged from 5 months to 18 years, suffering from severe, refractory to the treatment form of epilepsy. The period of the disease was from 1 month to 16 years. All patients that were examined are Ukrainians, Slavs. Genetic studies were carried out using the allelic-specific polymerase chain reaction (PCR) method followed by the visualization of agarose gel amplification products. Due to the allelic-specific primers we identified a single-nucleotide polymorphism of the 392A > G of gene CYP3A4\*1B (rs2740574).

---

In 61 children (89,71 %), the allele CYP3A4\*1A was dominated, this genotype is typical for most people and is responsible for normal metabolism. Allele CYP3A4\*1B was present in 7 (10,29 %) patients (boys – 5, girls – 2). This allele is characterized by a slow metabolism of drugs, including antiepileptic drugs (AED).

The rate of polymorphism CYP3A4\*1B – 10,29 %, does not significantly differ ( $p > 0,05$ ) from the indicator which is recorded in the general population among the Caucasians, where it is 9,00 %. In most cases (57,13 %) was recorded a combination of allelic variants of CYP3A4\*1B and other genotypes (CYP2C9\*2 and CYP2C19\*2) that control enzymes and slow down the metabolism of AED. In 4 (57,13 %) of 7 children, we identified undesirable side-effects on drug and worsening of the disease associated with AED treatment. Undesirable side effects occurred in the form of allergic manifestations and pathological changes of the nervous system.

Pharmacogenetic testing can become an important tool for personalized treatment of pediatric patients with pharmacoresistant forms of epilepsy and reduce the risks of complications of drug therapy.

*Key words: CYP3A4 gene polymorphism, children, pharmaco-resistant epilepsy*

---

*Надійшла: 30 серпня 2018 р.*

**Контактна особа:** Танцура Євген Олександрович, асистент, кафедра загальної сімейної медицини, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, буд. 4, майдан Свободи, м. Харків. 61022. Тел.: + 38 0 50 598 40 70. Електронна пошта: [\\_tantsura@ukr.net](mailto:_tantsura@ukr.net)



И. Л. Кечин

## Сравнительная фармакодинамика амлодипина при ректальном и энтеральном путях введения у больных с синдромом легочной гипертензии на фоне кардиальных гипертензивных кризов

Запорожский государственный медицинский университет

*Ключевые слова: ректальные суппозитории с амлодипином, легочная артериальная гипертензия, фибрилляция предсердий, кардиальный гипертензивный криз*

Легочная артериальная гипертензия (ЛАГ) характеризуется повышением легочного сосудистого сопротивления, прогрессирующей дисфункцией правых отделов сердца и ассоциируется с высокой инвалидизацией и смертностью [1]. Несмотря на научный прогресс, достигнутый за последние 30 лет в диагностике ЛАГ, в фармакотерапии синдрома остается множество нерешенных проблем. В частности, практически все препараты, одобренные FDA для нормализации давления в бассейне легочной артерии, или не представлены на украинском фармацевтическом рынке, или остаются в недоступном ценовом сегменте для отечественных потребителей [2].

Артериальная гипертензия (АГ) является одним из независимых факторов риска развития фибрилляции предсердий. Расширение и фиброз устьев полых вен считается главной триггерной зоной развития пароксизма фибрилляции предсердий при патологии левых отделов сердца [3]. В физиологических условиях 15–20 % конечного диастолического объема левого желудочка (ЛЖ) поступает в его полость в результате систолы левого предсердия. При ригидности стенок ЛЖ диастолический вклад левого предсердия увеличивается до 45–50 % конечного диастолического объема. У больных с патологической ригидностью стенок ЛЖ фибрилляция предсердий нарушает согласованность сокращений саркомеров миокарда лево-

го предсердия и в результате этого нивелируется предсердная фаза диастолического наполнения ЛЖ. Рост среднего давления в левом предсердии вызывает ретроградную легочную венозную, а позднее – и легочную артериальную гипертензии [4].

В настоящее время с точки зрения доказательной медицины неопределена приоритетная терапия ЛАГ у больных с неклапанной патологией ЛЖ. Целью терапии таких пациентов является максимальное сохранение сократительной функции правых отделов сердца и предупреждение прогрессирования ЛАГ, которая ведет к правожелудочковой сердечной недостаточности. Согласно рекомендациям Американского торакального общества, блокаторы медленных L-кальциевых каналов (амлодипин, дилтиазем, нифедипин) являются препаратами выбора для недорогого лечения пациентов с ЛАГ с явлениями правожелудочковой сердечной недостаточности. В ряде клинических исследований установлено, что назначение амлодипина оказывает значительное влияние на 5-летнюю выживаемость больных с ЛАГ [5]. Перед принятием решения о целесообразности назначения амлодипина рекомендовано проведение острого фармакологического теста при помощи катетеризации правых отделов сердца для отбора пациентов перспективных для длительного лечения. Анализ базы данных интернет ресурса (PubMed, USA) дает основания считать, что фармакологическая проба считается позитивной при уменьшении среднего давления в легочной артерии не менее чем на 20 % от исходного уровня, или снижении легочного сосу-

дистогического сопротивления более чем на 30 % без уменьшения сердечного выброса на фоне давления в правом предсердии не более 10 мм рт. ст. [4]. В клинической практике инвазивный вазореактивный тест с блокаторами кальциевых каналов проводится редко и только с научными целями не более, чем у 10 % пациентов с ЛАГ из-за недоступности проведения инвазивного вмешательства в большинстве лечебных учреждений Украины. Ранее нами разработан и апробирован неинвазивный метод для скрининга пациентов с ЛАГ и адекватным гемодинамическим ответом сосудов малого круга кровообращения на введение блокаторов медленных кальциевых каналов L типа, позволяющий с высокой точностью отобрать больных для дальнейшей фармакотерапии [6].

Известно, что всасывание ксенобиотиков из ампулы прямой кишки через нижние и средние геморроидальные вены осуществляется непосредственно в нижнюю полую вену, что дает возможность доставить субстанцию препарата непосредственно в малый круг кровообращения, минуя портальную систему и печеночную биотрансформацию ксенобиотиков при «первом печеночном прохождении». Ранее нами установлено преимущество трансмукозного аппликационного введения антигипертензивных препаратов для купирования неосложненных гипертензивных кризов [7].

Учитывая вышеизложенное, в Запорожском государственном медицинском университете были разработаны и разрешены к медицинскому применению ректальные суппозитории с контролируемым высвобождением субстанции амлодипина в дозе 10 мг на полимерной основе [8, 9]. Можно предположить, что ректальное введение амлодипина позволит получить адекватный гипотензивный ответ в бассейне легочной артерии при введении меньших доз действующей субстанции амлодипина по сравнению с энтеральным путем введения.

*Цель исследования* – изучить антигипертензивный эффект в отношении легочной артериальной гипертензии амлодипина при ректальном введении у больных АГ с гипертензивным серд-

цем на фоне развития кардиального гипертензивного криза (персистирующая фибрилляция предсердий) по сравнению с референтным препаратом – амлодипином в таблетках.

**Материалы и методы.** В исследование включено 54 пациента с кардиальными гипертензивными кризами, манифестировавшими персистирующей фибрилляцией предсердий, длящейся более 48 ч на фоне АГ II стадии 4 категории риска с гипертензивным сердцем и сохраненной систолической функцией ЛЖ (фракция выброса ЛЖ > 50 %) и ЛАГ II функционального класса (51–75 мм рт. ст.), поступивших в Запорожский областной центр сердечно-сосудистых заболеваний с диагнозом АГ II стадии с персистирующей фибрилляцией предсердий на фоне гипертензивной ремодуляции ЛЖ сердца (индекс массы миокарда  $(154,6 \pm 12,1) \text{ г/м}^2$ ) и позитивно ответивших на острый фармакологический тест с амлодипином при проведении эхокардиодоплерографии.

После скрининга случайным «слепым» методом были сформированы 2 группы пациентов по 27 человек, принимавших амлодипин в таблетках (10 мг) или ректальные суппозитории с контролируемым высвобождением субстанции (10 мг) 2 раза в сутки утром до завтрака и через 12 ч в течение 10 дней. Уровень давления в легочной артерии определяли стандартным эходоплерографическим методом на аппарате Vivid-3 Expert, USA дважды: до и после 10-дневного лечения, включавшего ректальные суппозитории с контролируемым высвобождением амлодипина или таблетки амлодипина. Все пациенты получали стандартную терапию (дигоксин, варфарин, торасемид, верошпирон, рамириприл в среднесуточных дозировках) [10].

Конечными точками для оценки эффективности терапии амлодипином при обоих путях введения выбраны изменение переносимости физических нагрузок с помощью теста 6-минутной ходьбы (6MWD) и среднего давления в легочной артерии (ДЛАДср.) на 10 день терапии по сравнению с исходными данными. Суррогатные точки наблюдения: динамика системного артериального

давления (АД), градиент давления на трикуспидальном клапане (TRPG max), суммарное сопротивление резистентных легочных сосудов, а также индекс одышки по шкале Борга [11.].

Статистические исследования проведены на кафедре высшей математики Запорожского национального университета доцентом Е. П. Волковой. Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакетов программ: Microsoft Office Excel 2007, (Microsoft, США), Statistica 6,0 (StatSoft, Inc., США), BioStat2008 Professional 5.1.3.1. В зависимости от характера данных использовали: ранговый однофакторный дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса в сочетании с апостериорными критериями Ньюмена-Кейлса (множественные сравнения для выборок одинакового объема); непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Для проверки типа распределения

использовали критерий Шапиро-Уилка. Статистически значимыми расценивались эффекты при  $p < 0,05$ .

Критерии исключения из исследования: пациенты с синусовым ритмом, инфарктом миокарда, клапанными пороками сердца, тиреотоксикозом, алкоголизмом, тромбоэмболиями (проба с D-димером отрицательная), сахарным диабетом, хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ), острым коронарным синдромом, с индексом массы тела более  $30 \text{ кг/м}^2$ . Перед исследованием получено разрешение Этического комитета Запорожского государственного медицинского университета. Больные были информированы о проведении экспериментальной терапии и дали добровольное согласие на участие в исследовании.

**Результаты и их обсуждение.** Результаты исследования представлены в таблице.

Таблица

*Показатели легочной гемодинамики под влиянием лечения амлодипином в таблетках и ректальных суппозиториях*

| Показатель/группа                                        | 1 группа (суппозитории)<br>n = 27 |                               | 2 группа (таблетки)<br>n = 27 |                               |
|----------------------------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|                                                          | исходный уровень                  | через 10 дней лечения         | исходный уровень              | через 10 дней лечения         |
| Тест 6-минутной ходьбы, дистанция в метрах               | 304,21 ± 21,20                    | 448,0 ± 17,4<br>$p < 0,001$   | 308,45 ± 22,03                | 384,24 ± 15,32<br>$p < 0,001$ |
| Среднее давление в легочной артерии, мм рт. ст.          | 53,59 ± 9,27                      | 32,63 ± 2,32<br>$p < 0,001$   | 54,88 ± 8,99                  | 35,86 ± 5,60<br>$p < 0,001$   |
| Градиент давления на трикуспидальном клапане, мм рт. ст. | 31,85 ± 1,80                      | 16,45 ± 2,20<br>$p < 0,001$   | 28,40 ± 3,33                  | 18,60 ± 2,31<br>$p < 0,001$   |
| Васкулярная резистентность, дин/с/см <sup>5</sup>        | 1008 ± 347                        | 584 ± 73<br>$p < 0,001$       | 1018 ± 422                    | 651 ± 56<br>$p < 0,001$       |
| Артериальное давление систолическое, мм рт. ст.          | 164,50 ± 12,54                    | 124,50 ± 11,05<br>$p < 0,001$ | 167,50 ± 12,30                | 132,87 ± 10,10<br>$p < 0,001$ |
| Артериальное давление диастолическое, мм рт. ст.         | 100,52 ± 8,43                     | 68,33 ± 5,43<br>$p < 0,001$   | 104,44 ± 12,40                | 74,3 ± 8,1<br>$p < 0,001$     |
| Частота сердечных сокращений, уд/мин                     | 81,6 ± 8,7                        | 64,50 ± 7,25<br>$p < 0,05$    | 79,1 ± 9,3                    | 74,8 ± 8,2                    |
| Одышка по Боргу, балл                                    | 5,51 ± 1,70                       | 2,35 ± 0,40<br>$p < 0,05$     | 5,40 ± 1,80                   | 3,26 ± 0,80<br>$p < 0,05$     |

Примечание. p – по сравнению с исходным уровнем.

Как видно из представленных в таблице данных, у пациентов с кардиальными гипертензивными кризами, развившимися на фоне рецидива фибрилляции предсердия, отмечалось повышение системного систолического и диастолического АД, повышение среднего АД в легочной артерии, что сопровождалось выраженным снижением сопротивления в резистивных легочных сосудах. Гемодинамические нарушения клинически манифестировали усилением одышки на фоне уменьшения толерантности к физической нагрузке, дискомфортом в грудной клетке и неангинозными болями.

В результате 10-дневной базисной терапии (дигоксин, варфарин, торасемид, верошпирон, рамиприл в среднесуточных дозировках), дополнительно включающей амлодипин в виде ректальных суппозиториях (1 группа) и таблеток (2 клиническая группа) в эквивалентных дозах, достигнуто существенное улучшение общего состояния пациентов обеих групп. У пациентов, получавших ректальные суппозитории с амлодипином индекс одышки по шкале Борга уменьшился на 47,7 %, при лечении таблетированным амлодипином – на 39,6 %; ( $p < 0,05$  между группами). Систолическое и диастолическое АД достоверно снизились в обеих группах ( $p < 0,001$ ), что, по-видимому, способствовало уменьшению растяжения левого предсердия и рефлекторному снижению легочного сопротивления. У больных, получавших амлодипин в виде ректальных суппозиториях, давление в легочной артерии снизилось более значительно, чем в группе пациентов, принимавших амлодипин в виде таблеток: на 39,1 % ( $p < 0,001$ ) и на 34,6 % ( $p < 0,001$ ) соответственно. Известно, что амлодипин обладает выраженным прямым вазодилатирующим эффектом, что и наблюдалось при анализе динамики общего сопротивления резистивных легочных артерий под влиянием обеих лекарственных форм амлодипина. Легочное сосудистое сопротивление снизилось под влиянием обеих лекарственных форм амлодипина, однако, более выраженное снижение продемонстрировал амлоди-

пин при ректальном введении. При лечении суппозиториями общее сопротивление легочных сосудов снизилось на 42 %, под влиянием таблетированного амлодипина – на 36 % ( $p < 0,05$  между группами). С высокой степенью достоверности ( $p < 0,001$ ) под влиянием обоих препаратов снизился градиент давления на трикуспидальном клапане у пациентов обеих групп, что является прямым подтверждением снижения легочного АД [10]. На фоне лечения амлодипином в обеих лекарственных формах отмечали положительную динамику в тесте 6-минутной ходьбы. Если перед назначением амлодипина средняя дистанция при 6-минутной ходьбе у пациентов обеих групп существенно не различалась ( $304,21 \pm 21,50$ ) и ( $308,45 \pm 22,03$ ) метров в 1 и 2 группах соответственно, то в группе лечения суппозиториями амлодипина через 10 дней терапии дистанция 6-минутной ходьбы увеличилась на 143 м, тогда как в группе, получавшей амлодипин в таблетках – на 76 м ( $p < 0,05$ ).

Выраженных побочных действий и нежелательных эффектов не выявлено.

Таким образом, на основании анализа полученных результатов можно заключить, что у больных АГ с кардиальными гипертензивными кризами, спровоцированными фибрилляцией предсердий и осложнившимися дополнительным повышением давления в бассейне легочной артерии, назначение амлодипина в виде ректальных суппозиториях с контролируемым высвобождением субстанции позволяет достичь клинически значимого снижения системного и легочного давления на фоне выраженной редукции сосудистого сопротивления в русле легочной артерии, что проявляется значительным клиническим улучшением, особенно заметным при проведении теста 6-минутной ходьбы. Благоприятные клинические и прогностические эффекты антагонистов кальция, применяемых в высоких дозах у больных легочной гипертензией с положительной острой пробой, были показаны ранее в одноцентровых нерандомизированных исследованиях [8].

Перспективно дальнейшее проведение исследований фармакодинамики и

фармакокинетики суппозитория с контролируемым высвобождением действующей субстанции амлодипина в клинических условиях у больных с синдромом ЛАГ, ассоциированной с систолической дисфункцией и другими неклапанными заболеваниями левых отделов сердца.

## Выводы

Трансмукозный путь введения действующей субстанции амлодипина в виде ректальных суппозитория с контролируемым высвобождением субстанции у больных с синдромом ЛАГ, ассоциированным с персистирующей фибрилляцией предсердий на фоне АГ, является

эффективным способом доставки действующей субстанции амлодипина в малый круг кровообращения. Ректальный путь введения не требует значительных финансовых затрат и позволяет получить адекватный гипотензивный ответ в малом круге кровообращения.

*В заключение, выражаю благодарность заведующему кафедре технологии лекарств Запорожского государственного медицинского университета профессору В. В. Гладышеву за изготовленные и предоставленные для исследования суппозитории с амлодипином 10 мг. Конфликта интересов при проведении исследования нет.*

1. Quezada L. Trends in Pulmonary Hypertension over a period of 30 years: Experience from a Single Referral Centre / L. Quezada, M. Velazquez, L. Jiménez // Rev. Esp. Cardio. (Engl. Ed.). – 2017. – V. 30, № 17. – P. 175–185.
2. Backley M. S. Combination therapy in the management of pulmonary arterial hypertension / M. S. Backley, R. L. Staib, L. M. Wicks // Int. J. Pract. Suppl. – 2013. – V. 179, № 5. – P. 13–23.
3. Left atrial remodeling and function in advanced heart failure with preserved or reduced ejection fraction / V. Malenovsky [et al.] // Circ. Heart Fail. – 2015. – V. 8, № 2. – P. 295–303.
4. Dupius J. Pathophysiology and Clinical Relevance of Pulmonary Remodeling in Pulmonary Hypertension due to Left Heart Diseases / J. Dupius, V. Guazzi [Электронный режим] // Canadian Journal of Cardiology. Pub. OnlineOctober 13, 2014, DDI. [Режим доступа до журналу] <http://dx.doi.org/10.1016/j.cjca.10.012>
5. Рекомендации Европейского общества кардиологов и Европейского респираторного общества по диагностике и лечению легочной гипертензии 2015 г. // Артериальная гипертензия. – 2016. – Т. 1. – 45 с.
6. Noninvasive pharmacological test designed to establish vasoreactivity during pulmonary arterial hypertension at patients with Q-postinfarctional remodeling Heart Failure via rectal administration of Amlodipine / S. Kechyn, I. L. Kechyn, N. Gorchakova // 6<sup>th</sup> European Congress of Pharmacology – EPHAR Congress 2012 – Granada (Spain), July 17–20, 2012. – Poster № 272.
7. The experience of treatment of uncomplicated hypertensive crises with drug for transmucosal application / I. L. Kechyn // X Congress European Federation Internal Medicine – Athens, Greece, 2011. – Poster № PP103.
8. Гладышев В. В. Розробка й біофармацевтичні дослідження супозиторіїв з амлодипіном / В. В. Гладышев, І. Л. Кечин, Фаді Ал Зедан // Медична хімія. – 2011. – № 2. – С. 72–75.
9. Виготовлення супозиторіїв ректальних з амлодипіном. Інформ. лист Укрмедпатентінформ МОЗ України [Состав. Кечин І. Л., Гладышев В. В., Фаді Ал Зедан]. – Київ, 2012. – № 187.
10. Guidelines for the echocardiographic assessment of the right heart in adults: a report from the American Society of Echocardiography endorsed by the European Association of Echocardiography, a registered branch of the European Society of Cardiology, and the Canadian Society of Echocardiography / L. G. Rudski [et al.] // J. Am. Soc. Echocardiogr. – 2010. – V. 23, № 3. – P. 685–713; quiz 786–688.
11. Exercise testing in the clinical management of patients affected by pulmonary arterial hypertension / S. Paolillo [et al.] // Eur. J. Prev. Cardiol. – 2012. – V. 5, № 4. – P. 960–971.

## И. Л. Кечин

### Сравнительная фармакодинамика амлодипина при ректальном и энтеральном путях введения у больных с синдромом легочной гипертензии на фоне кардиальных гипертензивных кризов

Изучена легочная гемодинамика под влиянием 10-дневного лечения амлодипином (20 мг в сутки) в таблетках и ректальных суппозиториях у 54 пациентов с кардиальными гипертензивными кризами, легочной артериальной гипертензией II ФК на фоне персистирующей фибрилляции предсердий. Уровень давления в легочной артерии определялся эходоплерографически до и после лечения.



В результате 10-дневной терапии достигнуто значительное улучшение общего состояния пациентов обеих групп. Под влиянием амлодипина в ректальных суппозиториях давление в легочной артерии снизилось более значительно, чем в группе пациентов, принимавших амлодипин в таблетках: на 39,1 % ( $p < 0,001$ ) и на 34,6 % ( $p < 0,001$ ) соответственно. Показатель одышки на шкале Борга также более существенно снизился у пациентов, получавших ректальные суппозитории с амлодипином ( $p < 0,001$ ). Более выраженное снижение легочного сосудистого сопротивления было продемонстрировано в группе амлодипина в суппозиториях. Существенно увеличилась дистанция в тесте 6-минутной ходьбы у пациентов опытной группы.

Основываясь на результатах исследования, можно сделать вывод, что трансмукозный путь введения амлодипина в виде ректальных суппозиториях с контролируемым высвобождением, вещества у пациентов с кардиальным типом гипертензивных кризов, ассоциированных с синдромом легочной артериальной гипертензии, на фоне персистирующей фибрилляции предсердий является эффективным способом доставки активного вещества амлодипина в малый круг кровообращения, не требующим значительных финансовых затрат.

*Ключевые слова: ректальные суппозитории с амлодипином, легочная артериальная гипертензия, фибрилляция предсердий, кардиальный гипертензивный криз*

**I. Л. Кечин**

### **Порівняльна фармакодинаміка амлодипіну за ректального й ентерального шляхів уведення в пацієнтів з синдромом легеневої гіпертензії на тлі серцевих гіпертонічних кризів**

Вивчено легеневу гемодинаміку під впливом 10-денного лікування амлодипіном (20 мг на добу) у таблетках і ректальних супозиторіях у 54 пацієнтів з кардіальними гіпертензивними кризами, легеневою артеріальною гіпертензією II ФК на тлі персистуючої фібриляції передсердь. Рівень тиску в легеневій артерії визначали еходоплерографічно до і після лікування.

У результаті 10-денної терапії досягнуто значне поліпшення загального стану пацієнтів обох груп. Під впливом амлодипіну в ректальних супозиторіях тиск у легеневій артерії знизився більше, ніж в групі пацієнтів, що приймали амлодипін у таблетках ( $p < 0,001$ ). Показник задишки за шкалою Борга також більш суттєво знизився в пацієнтів, які отримували ректальні супозиторії з амлодипіном ( $p < 0,001$ ). Більш виражене зниження легеневого судинного опору було продемонстровано в групі амлодипіну в супозиторіях.

Виходячи з результатів дослідження, можна зробити висновок, що трансмукозний шлях введення амлодипіну у вигляді ректальних супозиторіїв з контрольованим вивільненням речовини в пацієнтів з кардіальним типом гіпертензивних кризів, асоційованих з синдромом легеневої артеріальної гіпертензії на тлі персистуючої фібриляції передсердь, є ефективним способом доставки активної речовини амлодипіну в мале коло кровообігу, що не вимагає значних фінансових витрат.

*Ключові слова: ректальні супозиторії з амлодипіном, легенева артеріальна гіпертензія, фібриляція передсердь, кардіальний гіпертензивний криз*

**I. L. Kechyn**

### **Comparative pharmacodynamics of amlodipine in rectal and enteral routes of administration in patients with pulmonary hypertension syndrome in the presence of cardiac hypertensive crises**

Taking into account the significant positive effect of amlodipine on the 5-year survival rate of patients with pulmonary arterial hypertension of various etiologies, as well as data on the benefits of the rectal route of administration of drugs: the ability to deliver the substance directly into the pulmonary circulation, bypassing the hepatic biotransformation xenobiotics with the «first hepatic passage», an innovative trans-mucosal rectal dosage form – amlodipine suppositories with controlled release of a substance was developed.

*The aim of the study was to compare the antihypertensive effect on pulmonary arterial hypertension of amlodipine at rectal and enteral administration in patients with hypertension during the development of a cardiac hypertensive crisis (persistence of atrial fibrillation).*

Pulmonary pressure dynamics was studied in 54 patients with cardiac hypertensive crises that manifested the persistence of atrial fibrillation on the background of hypertension II stage. with a hypertensive heart (myocardial mass index is  $154,6 \pm 12,1$  g/m<sup>2</sup>) and pulmonary hypertension (51–75 mm Hg) and responding positively to an acute pharmacological test with amlodipine during echocardiography (reduction of average arterial pressure in the pulmonary artery  $> 20$  % of the crisis level). The patients were distributed by the «blind» method into 2 groups of 27 patients who took amlodipine tablets (10 mg) and suppositories (10 mg) 2 times a day in the morning before breakfast and after 12 hours for 10 days. Average arterial pressure in the pulmonary artery was determined by the echo-Doppler method using Vivid-3 Expert, USA twice: before and after 10 days of treatment. Endpoints assessing of the therapy effectiveness: the dynamics of tolerance to physical activity (test 6-minute walk (6MWD) and the average pressure in the pulmonary artery on day 10 of therapy compared with baseline data. Surrogate observation points:

---

the dynamics of systemic arterial pressure, the pressure gradient on the tricuspid valve (TRPG max), the total resistance of resistant pulmonary vessels, and the Borg scale dyspnea index. Statistics: Kruskal-Wallis analysis of variance combined with the Newman-Keuls a posteriori criterion (multiple comparisons for samples of the same volume); non-parametric Mann-Whitney U-test. To check the type of distribution used criterion Shapiro-Wilk. The effects were statistically significant at  $p < 0,05$ .

It was shown that in the experimental group (suppositories) the dyspnea index decreased by 47,7 %, the the comparison group (tablets) – by 39,6 %; ( $p < 0,05$ ). Systolic and diastolic blood pressure decreased significantly in both groups ( $p < 0,001$ ), while pulmonary artery pressure decreased respectively by 39,1 % ( $p < 0,001$ ) and by 34,6 % ( $p < 0,001$ ); resistance of pulmonary vessels decreased by 42 % in the experimental group of patients, under the influence of amlodipine tablets – by 36 % ( $p < 0,05$  between groups). Under the influence of both drug's forms the pressure gradient on the tricuspid valve decreased in patients of both groups ( $p < 0,001$ ). After 10 days treatment with amlodipine patients in both groups showed a positive trend in the 6-minute walk test: in the group with rectal amlodipine walking distance increased by 143 m; in the group with amlodipine tablets – by 76 m ( $p < 0,05$ ). No adverse effects were identified.

Thus, the rectal route of amlodipine administration to patients with pulmonary arterial hypertension associated with persistent atrial fibrillation in the presence of a cardiac hypertensive crisis is an inexpensive, effective and safe method of amlodipine delivering to the pulmonary circulation, allowing an adequate hypotensive response in the pulmonary circulation.

*Key words: rectal suppositories, pulmonary arterial hypertension, atrial fibrillation, cardiac hypertensive crisis*

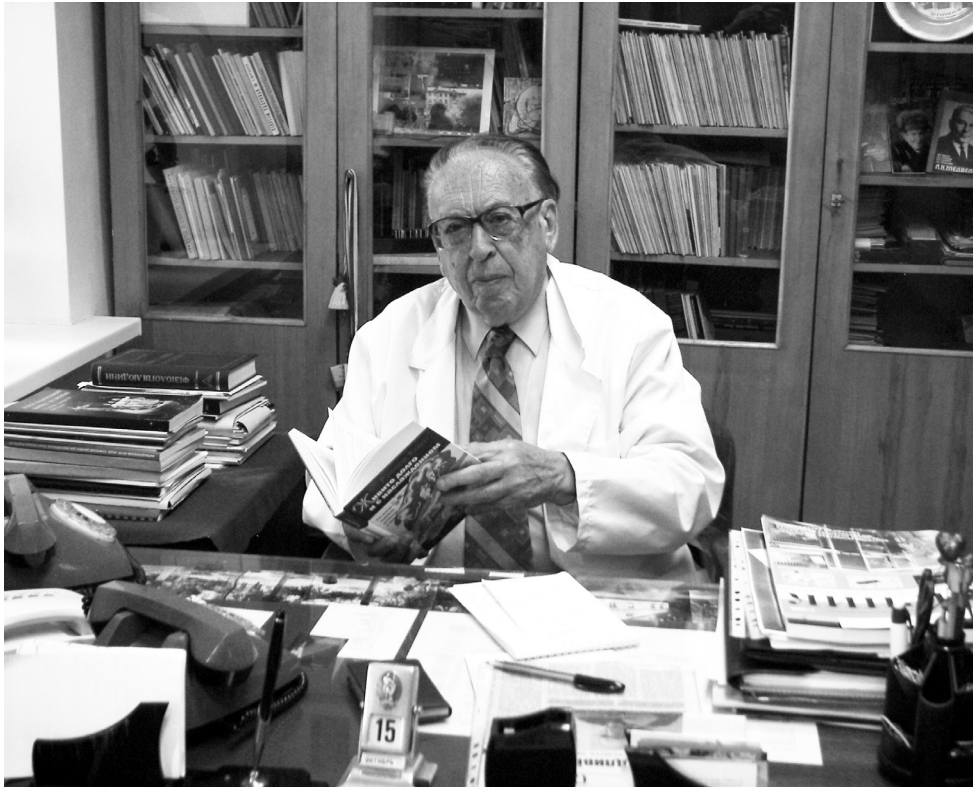
---

*Надійшла: 13 червня 2018 р.*

**Контактна особа:** Кечин Ігор Леонідович, доктор медичних наук, кафедра внутрішніх хвороб №1, Запорізький державний медичний університет, буд. 26, просп. Маяковського, м. Запоріжжя, 69035. Тел.: + 38 0 67 611 00 33. Електронна пошта: kkkigorl@icloud.com

# ІСААК МИХАЙЛОВИЧ ТРАХТЕНБЕРГ

**Академік НАМН України, член-кореспондент НАН України,  
заслужений діяч науки і техніки,  
лауреат Державної премії в галузі науки і техніки**



11 листопада виповнилося 95 років з дня народження видатного українського вченого в галузі медицини праці, профілактичної токсикології, медичної екології академіка НАМН України, члена-кореспондента НАН України, заслуженого діяча науки України, лауреата Державної премії в галузі науки і техніки Ісаака Михайловича Трахтенберга.

Випусник Київського медичного інституту перших повоєнних років І. М. Трахтенберг розпочав свою науково-дослідницьку та педагогічну діяльність, яка тривала чверть віку, у стінах того самого інституту. У 1972 році

перейшов на дослідницьку роботу в Київський інститут гігієни праці та профзахворювань (нині Інститут медицини праці імені Ю. І. Кундієва Національної академії медичних наук України), де донині очолює науковий колектив токсикологів-експериментаторів.

Основні напрями наукової діяльності Ісаака Михайловича – експериментальна токсикологія, гігієна промислового середовища та довкілля, лікарська токсикологія.

І. М. Трахтенберг є автором понад 500 наукових праць, у тому числі 29 монографій, керівництв, підручників, 28 науково-популярних видань. Широко

відомі його науково-популярні книжки, мемуари, публіцистичні нариси.

Під керівництвом академіка І. М. Трахтенберга підготовлено 15 докторів і 40 кандидатів наук.

Академік І. М. Трахтенберг – лауреат Державної премії України в галузі науки і техніки (2002 р.), премії НАМН України з профілактичної медицини (1995 р., 2002 р., 2009 р., 2015 р.), премії НАН України імені О. О. Богомольця (2009 р.), заслужений діяч науки і техніки (1994 р.).

Ісаак Михайлович удостоєний звання «Почесний член Наукового товариства гігієністів Болгарії» (1988 р.), звання «Почесний професор Інституту мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України» (2012 р.), звання «Почесний професор Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського» (2013 р.), звання «Почесний доктор Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького» (2013 р.), звання «Почесний професор Національного медичного університету імені О. О. Богомольця» (2018 р.).

Академік І. М. Трахтенберг очолює комісію з науки правління Наукового товариства гігієністів, член наукових товариств гігієністів, токсикологів, фармакологів України, член наукових рад, редколегій і редакційних рад низки наукових періодичних видань.

Ісаак Михайлович нагороджений орденом «За заслуги» III, II і I ступеня

та 11 медалями, серед яких «За оборону Києва» і «За доблесну працю у період Великої Вітчизняної війни 1941–1945 рр.», Почесними грамотами Верховної Ради України, Президії НАН і НАМН України, Міністерства охорони здоров'я України, почесними відзнаками державних і громадських організацій, у тому числі нагородами «Медаль імені М. М. Амосова» і «Медаль Леонардо да Вінчі» Європейської академії природничих наук.

Викликає захоплення, що академік І. М. Трахтенберг зустрічає славетний ювілей сповнений творчих планів і задумів, та, як завжди, продовжує багато працювати.

Колеги та друзі вітають Вас, вельмишановний Ісаак Михайлович, з ювілеєм, шанують як видатного вченого, учителя, людину глибоких і різносторонніх знань, громадського діяча, талановитого зберігача історії медичної науки.

Бажаємо Вам міцного здоров'я, довгих років активного творчого життя, натхнення!

*ВГО «Асоціація фармакологів  
України»*

*ДУ «Інститут фармакології та  
лікарської токсикології НАМН України»  
Редколегія журналу «Фармакологія  
та лікарська токсикологія»*