
СПІВЗАСНОВНИКИ

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

**Двомісячне
науково-практичне,
медичне видання**

Фармакологія та лікарська токсикологія

Заснований у серпні 2007 р.

Виходить 1 раз на 2 місяці

№ 5(30)/2012

ЗМІСТ

ОГЛЯДИ

- du Souich P., Enna S. J., Ruegg T., LeCount L.* IUPHAR Today3
- Казакова О. О., Небесна Т. Ю., Чекман І. С., Загородний М. І.*
Глосарій з квантової фармакології – науково-педагогічні аспекти9

СУЧАСНІ АСПЕКТИ НЕЙРОФАРМАКОЛОГІЇ

- Єгоров О. М., Бєленічев І. Ф., Соколик О. П., Абрамов А. В.*
Вплив цереброкурину і тіоцетаму на ранню відповідь геному
та морфофункціональний стан нейронів СА-1 зони гіпокампа щурів
за умов пренатальної алкоголізації21

У НАУКОВИХ ЛАБОРАТОРІЯХ

- Бутко Я. О., Дроговоз С. М., Ляпунова А. М.* Вивчення протизапальної
дії крему з мометазоном26
- Клименко К. І., Новохацька Т. В., Кізуб І. В., Соловйов А. І.*
Вплив Ліпофлавоу на сумарний вихідний K^+ -струм у гладеньком'язових
клітинах аорти щурів із цукровим діабетом31
- Кучеренко Л. І., Бобков В. М., Барчина О. І., Волуй А. В., Мазур І. А.,
Крисько А. Г., Ярош О. К.* Серцева тканинна біодоступність та показники
розрахункової фармакокінетики нової кардіотропної сполуки «Лізиній»37
- Мохорт М. А., Серединська Н. М., Омеляненко З. П., Хоменко В. С.,
Бершова Т. А., Павлюк Г. В.* Порівняльна характеристика кардіотропної
дії диклофенаку та німесулідуга за умов ад'ювантного артриту в щурів44
- Новохацька Т. В., Тишкін С. М., Досенко В. Є., Соловйов А. І.* Корекція калієвої
провідності в гладеньком'язових клітинах аорти щурів з генетично детермінованою
гіпертензією шляхом пригнічення експресії гена δ -ізоформи протейнінази С50
-

Степанюк Г. І., Тозюк О. Ю., Воскобойнік О. Ю., Коваленко С. І., Чорноіван Н. Г. Скринінг актопротекторної активності в ряду нових похідних 5-R-тіо-тетразоло[1,5-с]хіназоліну.....	59
Суворова З. С., Вринчану Н. О. Чутливість біоплівки <i>Pseudomonas aeruginosa</i> до дії похідних алкоксіамінопропанолу	62
Ткачова О. В., Лар'яновська Ю. Б., Яковлєва Л. В. Вплив мазі «Пролідоксид» на морфоструктуру шкіри за умов асептичної трафаретної рани в щурів	67
Товчига О. В. Вплив препаратів яглиці звичайної (<i>Aegopodium podagraria</i> L.) на метаболічні процеси в мишей з алоксановим цукровим діабетом	73
Ющенко Т. І., Германюк Т. А., Чорнокнижний С. І., Заїчко Н. В., Король А. П., Прокопчук З. М., Родік Р. В., Чешун Є. А. Антибактеріальна та антиагрегантна активність тетраалкіламонійних похідних калікс[4,6]аренів.....	79
Яковлєва Л. В., Маційчук О. П., Ковальова Є. О., Чорна Н. С. Вплив нових фітопрепаратів на основі соку подорожника на секрецію шлункового соку та стан слизової оболонки шлунка щурів за умов норми та патології	88
Ярош О. К., Мазур І. А., Бобков В. М., Кучеренко Л. І., Барчина О. І., Крисько А. Г., Георгієвський Г. В., Волуй А. В. Профіль фармакокінетики сполуки «Лізіній» у крові після парентерального введення.....	93

РОЗРОБКА НОВИХ МЕТОДИЧНИХ ПРИЙОМІВ

Гудзенко А. В., Цуркан О. О., Ковальчук Т. В. Реалізація сучасних підходів до стандартизації полікомпонентних фітопрепаратів.....	99
--	----

КЛІНІЧНА ФАРМАКОЛОГІЯ

Горчакова Н. О., Чекман І. С., Галицька А. К., Нагорна О. О. Ранолазин – засіб метаболічної терапії: фармакодинаміка, клінічна фармакологія	107
--	-----

CONTENT	112
---------------	-----

P. du Souich, PhD¹, S. J. Enna, PhD²,
T. Ruegg, PhD³, L. LeCount, CMA²



IUPHAR Today

¹University of Montreal, Canada

²University of Kansas Medical Center, USA

³University of Geneva, Switzerland

Introduction

The International Union of Basic and Clinical Pharmacology (IUPHAR) of today is a very different organization than what began as the Section of Pharmacology (SEPHAR) within the International Union of Physiological Sciences. As the communication and collaboration tools have changed, so has IUPHAR. As the discipline of pharmacology has morphed and expanded, so has IUPHAR. As pharmacology research has spread to new regions, so has IUPHAR. What have not changed over the decades are the dedication and passion imbued in IUPHAR by its many constituents.

Formation

In 1950 a special pharmacology day was arranged at the end of the 18th International Physiological Congress in Copenhagen [1]. An outcome of this gathering was the creation of an informal group called the International Council of Pharmacologists. They convened a public meeting, open to all pharmacologists, in conjunction with the 19th International Physiological Congress in Montreal in 1953. Participants favored an independent pharmacology union so representatives of the International Council of Pharmacologists approached the International Congress of Scientific Unions (now named the International Council for Science) to admit a pharmacology union. The Secretariat at the time recommended they instead seek affiliation with an existing member, the newly formed International Union of Physiological Sciences (IUPS) [2].

Proposals to establish a Section on Pharmacology (SEPHAR) within IUPS were eventually approved in 1959. The elected Council of SEPHAR organized their first pharmacology conference in

Stockholm in August 1961 (Fig. 1). Continuing pressure from pharmacologists for greater recognition and representation led to the establishment of the International Union of Pharmacology (IUPHAR) as an independent organization on September 2, 1965 during the Tokyo General Assembly of IUPS [2]. To reflect the breadth of the discipline, the name of the organization was changed in 2006 to the International Union of Basic and Clinical Pharmacology, although it retained the IUPHAR acronym for its title.

Mission

The mission of IUPHAR is to foster the discipline of pharmacology by:

1. Promoting collaborations among pharmacology societies and related organizations throughout the world.
2. Maintaining and expanding the role of pharmacology as a critical discipline in biomedical research and patient care.

FIRST INTERNATIONAL PHARMACOLOGICAL MEETING

At the International Physiological Congress in Buenos Aires, August 1959, an International Section on Pharmacology was formed as a subdivision of the International Union of Physiological Sciences. It has now been decided to hold the First International Pharmacological Meeting in Stockholm, August 22-25, 1961. The date has been chosen to allow visitors to the International Congress of Biochemistry in Moscow, August 10-16, 1961, to attend the convention in Stockholm on their way back from Russia. The scientific program will be restricted to topics under the general heading of "Mode of Action of Drugs." For further information write Secretary General Dr. Arvid Wretling, Karolinska Institutet, Stockholm 60, Sweden.

The Section on Pharmacology, International Union of Physiological Sciences (IUPS), will receive a grant from the National Institutes of Health, Dept. of Health, Education and Welfare, for the purpose of paying travel expenses for American Scientists to the First International Pharmacological Meeting in Stockholm.

Applications should be made in triplicate to Dr. Carl F. Schmidt, President of the Section on Pharmacology of the IUPS, Dept. of Pharmacology, University of Pennsylvania, School of Medicine, Philadelphia 4. Please give full name, age, address, nationality, earned degree(s), academic affiliation, membership in any biological society, field of research. Please refrain from applying if you are a holder of any government or private grant which allows travel funds. The deadline is May 1, 1961.

Fig. 1. The first international pharmacology meeting was advertised in the *The Physiologist* in 1961 [5] Reproduced with permission.

3. Sponsoring international and regional congresses and meetings organized by member societies, and affiliated divisions, sections and committees.
4. Fostering the development and teaching of pharmacology throughout the world, particularly in emerging countries.
5. Encouraging international cooperation and free exchange of scientists and of ideas in research.
6. Facilitating the interaction of pharmacologists with scientists from other disciplines, either directly or under the aegis of international scientific bodies such as the International Council for Science, the World Health Organization, and the United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization.
7. Increasing public awareness of pharmacology and its importance in medical research.
8. Providing information to the scientific and medical communities on the actions, toxicities and therapeutic use of drugs.

Structure

IUPHAR members are national societies of pharmacology or related disciplines. Membership categories include Full Member, Associate Member, Benefactor, and Corporate Member. IUPHAR is governed by a Council composed of delegates appointed by member societies, the division and the sections. The General Assembly of the Council is held during each World Congress, during which the members of the Executive Committee, recommended by the Nominating Committee, are elected for the next four years. The Executive Committee consists of a President, First and Second Vice-Presidents, a Secretary-General, a Treasurer, and five Councilors. The officers of the Clinical Division are automatically appointed to the Executive Committee. The Executive Committee meets annually and is responsible for the overall administration of IUPHAR. In addition, the Membership Committee facilitates the admission of new IUPHAR member societies.

The IUPHAR scientific programs are overseen by experts in various areas of

pharmacology. While the IUPHAR division, sections and committees all report directly to the Executive Committee, each has a degree of autonomy with regard to organizing and sponsoring activities of interest and value to their membership. Currently, IUPHAR has:

One Committee:

- Receptor Nomenclature and Drug Classification (NC-IUPHAR)

One Division:

- **Clinical Pharmacology** and its:

Subcommittee for Clinical Pharmacology in Developing Countries,
Subcommittee for Geriatric Clinical Pharmacology
Liaison group with the World Health Organization.

Six Sections:

- **Drug Metabolism and Drug Transport**
- **Education**
- **Gastrointestinal Pharmacology**
- **Natural Products**
- **Pediatric Clinical Pharmacology**
- **Pharmacogenetics and Pharmacogenomics**

Activities

An active member of the International Council for Science, IUPHAR activities have been recognized and endorsed by a number of global scientific organizations, including the United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization (UNESCO). IUPHAR is a non-governmental organization and a not-for-profit association representing the interests of all pharmacologists in official relations with the World Health Organization and other international bodies. More information can be found at www.IUPHAR.org. A sampling of the many IUPHAR initiatives and meetings follow.

Committee on Receptor Nomenclature and Drug Classification (NC-IUPHAR):

The past year has seen the continuing evolution of the NC-IUPHAR along with major enhancements to the IUPHAR database (IUPHAR-DB: <http://www.IUPHAR-DB.org>). Significantly, the joint initiative with the British Pharmacological Society has led to the recent launch of a new open access portal,

<http://www.GuideToPharmacology.org>, which integrates IUPHAR-DB and the British Pharmacological Society *Guide to Receptors and Channels* (GRAC). This major achievement will ultimately provide a unique, authoritative global resource open to all members of the scientific community to maximize our expanding knowledge of how druggable genes affect health and disease and to discover new ways to diagnose, treat and prevent illness. Most recently, NC-IUPHAR entered an alliance with DiscoverX for research and ligand assignation of orphan G protein-coupled receptors (GPCRs).

NC-IUPHAR benefits from a privileged relationship with the American Society of Pharmacology and Experimental Therapeutics and the British Pharmacological Society, with core nomenclature articles appearing in *Pharmacological Reviews*, while a new series of general “state-of-the-field” review articles are published (alongside database updates) in the *British Journal of Pharmacology*.

The IUPHAR database (IUPHAR-DB):

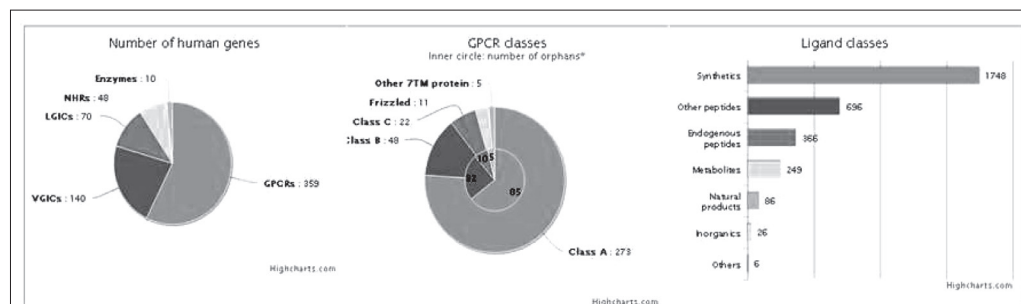
IUPHAR-DB now covers 627 genes encoding GPCRs, voltage- and ligand gated ion channels (VGICs and LGICs), nuclear hormone receptors (NHRs), and the 10 enzymes of the lanosterol biosynthesis pathway. The database contains over 3800 distinct ligand molecules, ranging from synthetic organic chemicals to natural products and peptides. An important recent addition is the curation of the sequences and post-translational modifications of ~500 endogenous peptide ligands. The annotation of sequences, structural and protein precursor data, and database links for all the endogenous peptide ligands of ~39 GPCR families have been completed (Fig. 2).

The database search interface has also been enhanced, allowing for navigation of the ligand chemical structure space covered by IUPHAR-DB and GRAC through text, identity, similarity, sub-structure and SMARTS-pattern queries. External database links are available to DrugBank target pages, to the Human Metabolome Database, to genes in Orphanet, the Portal for Rare Diseases and Orphan Drugs, to BindingDB, to BRENDA, the Comprehensive Enzyme Information System, KEGG, the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, which contains pathway, gene and chemical information, and the IUBMB Enzyme Nomenclature database. The database now receives over 125,000 visits from about 160 countries each year.

Clinical Pharmacology Division:

A 1970 World Health Organization report on the relevance and importance of the discipline of clinical pharmacology to improve the use of drugs in the delivery of health care was recently updated to reflect the ongoing changes in the discipline. A preliminary version appeared as «Clinical Pharmacology in Research, Teaching and Health Care: Considerations by IUPHAR, the International Union of Basic and Clinical Pharmacology» [3].

The final version, edited by Dr. Donald Birkett on behalf of the IUPHAR Clinical Pharmacology Division, and by Professors Michael Orme and Folke Sjöqvist, the editors of the original document, addresses mainly the physician clinical pharmacologist. Careful attention has been paid to acknowledging the multidisciplinary nature of the broader discipline of clinical pharmacology and the contributions to the discipline by a



* Orphans are defined as proteins having similarity to receptors but whose endogenous ligands have not yet been conclusively identified.

Fig. 2. The contents of the IUPHAR Database as of September 2012.

wide range of professional groups involved with improving the use of medicines in the delivery of health care. A high level consortium, comprising IUPHAR, the Council for International Organizations of Medical Sciences, and the World Health Organization, have agreed to jointly publish the document.

Subcommittee for Clinical Pharmacology in Developing Countries:

Professors Lars L. Gustafsson and Björn Pehrson, of the Royal Institute of Technology in Stockholm, were invited to a 2011 Ministry of Health meeting in Tanzania for discussions on how to support and secure drug distribution by IT-based solutions. Several research groups in Africa are involved to further develop and test integrated IT-based solutions for drug ordering and continuous medical education.

During October 2011 a pharmacokinetic/dynamic course for HIV and antimalarial drugs was organized by Makerere University in Uganda and Karolinska Institutet in Sweden in collaboration with IUPHAR. The Subcommittee and organizing group are willing to assist colleagues planning similar courses in Africa, Asia or Latin America.

The World Health Organization headquarter office in Geneva has initiated a global course and site visit on «Interface management of pharmacotherapy», which aims to promote collaboration between hospitals and primary care providers. The course will study and discuss methods for improving selection, communication and adherence based on experience from the Wise List from Stockholm. The Drug and Therapeutics Committee in Stockholm, in collaboration with clinical pharmacologists at Karolinska Institutet and the IUPHAR Subcommittee for Clinical Pharmacology in Developing Countries, are making arrangements to bring together 25–30 leaders of drug and therapeutic committees and managers of healthcare around the globe on September 11–13, 2012.

Subcommittee for Geriatric Clinical Pharmacology:

Designed to support the needs of clinical pharmacologists serving the growing geriatric portion of the population, this recently created Subcommittee will pres-

ent a symposium on geriatric pharmacoepidemiology during the International Society for Pharmacoepidemiology meeting in Munich on April 11–13, 2013.

Drug Metabolism and Drug Transport Section (DMTS):

The DMTS has most recently lent support to Professor Duborija-Kovacevic Natasa for the Xenobiotic Metabolism and Toxicity Congress of Southeastern Europe (XeMeT), held in Budva, Montenegro during July 2012. This series of congresses has a long-standing association with the DMTS. In collaboration with the Education Section, Drs. Collen Masimirebwa and Andrew Walubo, in conjunction with Professor Obolaji from Obafemi Awolowo University in Nigeria, organized a drug metabolism/transporter symposium at the All Africa Congress of Pharmacology in Accra, Ghana, also during July 2012. Lectures addressed the clinical importance of drug metabolism, drug transport, pharmacogenomics and screening for enzyme and transporter interactions during drug discovery.

Education Section:

The Education Section aims to support educators in pharmacology, in particular to foster and promote innovative teaching, learning and assessment of basic, clinical and translational pharmacology to higher education pharmacology students and wider audiences across the globe. The Education Section expanded the activities of the IUPHAR Integrative Organ Systems Pharmacology (IOSP) initiative in Africa and the Arab world. An IOSP workshop was held in Lagos, Nigeria in June 2012, as a pre-conference workshop to the 5th All Africa Congress on Basic and Clinical Pharmacology, held in Accra, Ghana.

Gastrointestinal Pharmacology (GI) Section:

Members of the GI section co-organized and attended the 6th International Symposia on Cell/Organ Injury & Cytoprotection/Organoprotection in St. Petersburg, Russia during October 2011. The main focus of the international meeting series are the mechanisms, pharmacologic prevention and treatment of GI diseases. The IUPHAR International Symposium on GI Pharmacology was

recently held in Tokyo, Japan during July, 2012. There were 13 countries represented among the participants.

Natural Products Section:

The Second World Conference on the Pharmacology of Natural and Traditional Medicines is co-sponsored by the Natural Products Section, the Chinese Pharmacological Society, the International Society for Chinese Medicine and the University of Macau. The Conference will be held November 6–8, 2012, in Macau, China. The theme is “Pushing forward the study of natural and traditional medicines with new ideas and technologies”.

Pediatric Clinical Pharmacology Section:

The IUPHAR Pediatric Section has secured a Third Party status in relation to the Global Research in Pediatrics (GRIP) International Consortium. GRIP is funded by the EU 7th Framework program for five years with a Euro Network of Excellence grant. The Third Party agreement makes available to IUPHAR funds for work supporting the aims of GRIP, and in particular, the development of a joint pediatric clinical pharmacology international training program. Most recently, GRIP provided support for the first IUPHAR Latin American Pediatric Clinical Pharmacology Workshop, organized by Dr Garcia-Bournissen in Buenos Aires, Argentina on October 28, 2011.

The Executive Committee members of the Pediatric Clinical Pharmacology Section have written a review article entitled, «The status of pediatric medicines initiatives around the world – what has happened and what has not?» on the current status of the pediatric initiatives, which was published in January, 2012 [4]. In addition, many of these individuals have been invited by the World Health Organization to participate in meetings, peer-reviews and initiatives during the past year.

Pharmacogenetics/genomics (PGx) Section:

The PGx section co-organized a symposium on «Pharmacogenomics of psychoactive drugs» together with the Turkish Association for Psychopharmacology

during the 4th International Congress of Psychopharmacology held November 23–26, 2011, in Antalya. The symposium covered different aspects of pharmacogenetics contributing to drug efficacy, behavior and drug safety. Members of the PGx Section co-organized the meeting of the Latin American Pharmacogenetics Network, with the FDA and the Brazilian Pharmacological Society. The PGx Section also hosted a keynote lecture by Professor Magnus Ingelman-Sundberg and a symposium on «Recent Progress in the Pharmacogenomics of Drug Transporters» during the conference in Rio de Janeiro, Brazil on June 28–29, 2012.

Publications:

The IUPHAR newsletter, *Pharmacology International*, is distributed electronically to all member societies every June and December. A Member Directory is published on-line at <http://www.IUPHAR.org/memberships> to assist pharmacologists in contacting societies within their interests and/or geographical location.

Congresses:

Every four years an IUPHAR member society organizes the World Congress of Basic and Clinical Pharmacology. The basic and clinical meetings have been combined into a single, full spectrum, offering. The 2014 World Congress of Basic and Clinical Pharmacology will be held in Cape Town, South Africa. The Scientific Program Committee invites session proposals through November 15, 2012 (www.WCP2014.org) (Fig. 3).

The 2018 World Congress of Basic and Clinical Pharmacology will be hosted in Kyoto, Japan. National society members submit bids during the General Assem-



Fig. 3. The next IUPHAR Congress of Basic and Clinical Pharmacology will take place July 13–18, 2014 in Cape Town, South Africa (www.WCP2014.org).

blies to host these congresses. The process for selecting the 2022 World Congress host has begun.

Career Center:

IUPHAR sponsors www.PharmacologyCareers.org, which is dedicated to pharmacology and the related disciplines. In addition to listing job openings, individuals who belong to an affiliated society may utilize the online tutorials to help in the preparation of CVs and to improve their interview skills.

Conclusion

Pharmacology communication has progressed from typewriters to email while collaboration opportunities have evolved from handshakes to social media. The dis-

cipline has witnessed the separation and reintegration of the many specialty areas within pharmacology. Its research is now conducted on every continent and nearly every country. IUPHAR has and will continue to embrace the changes in order to facilitate improved health through pharmacology education and research.

Acknowledgments

The IUPHAR officers acknowledge and thank the division, section and committee chairs for their contributions to this article.

The IUPHAR officers also wish to express their gratitude to the Association of Ukrainian Pharmacologists for the opportunity to publish this information.

1. *Uvnäs B.* From Physiologist to Pharmacologist-Promotion or Degradation? Fifty Years in Retrospect // Annual Review of Pharmacology and Toxicology.– 1984.– V. 24.– P. 1– 19.
2. *Schmidt C. F.* Editorial: On International Meetings // Circulation Research.– 1962.– V. 11.– P. 229– 232.
3. Clinical Pharmacology in Research, Teaching and Health Care: Considerations by IUPHAR, the International Union of Basic and Clinical Pharmacology/ Orme M., Sjöqvist F., Birkett D. [et all.] // Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology.– 2010.– V. 107.– P. 531 – 559.
4. The status of paediatric medicines initiatives around the world – what has happened and what has not? / Hoppu K., Anabwani G., Garcia-Bournissen F. [et all.] // European Journal of Clinical Pharmacology.– 2012.– V. 68 (1).– P. 1–10.
5. *Schmidt C. F.* First International Pharmacological Meeting / Schmidt C. F. // The Physiologist.– 1961.– Issue 1.– P. 26.

P. du Souich, PhD, S. J. Enna, PhD, T. Ruegg, PhD, L. LeCount, CMA **IUPHAR сьогодні**

Міжнародний союз фундаментальної та клінічної фармакології (IUPHAR) був офіційно заснований у 1965 році. Враховуючи, що за останні десятиріччя фармакологія отримала значний розвиток, IUPHAR з метою задоволення потреб його членів також адаптувався та змінився. Сьогодні IUPHAR забезпечує повний спектр послуг та заходів для фармакологів усього світу з урахуванням сучасних технологій, місця розташування та інтересів. У даній статті наведено вибірку з багатьох заходів, що пропонує IUPHAR та його підрозділи.

P. du Souich, PhD, S. J. Enna, PhD, T. Ruegg, PhD, L. LeCount, CMA **IUPHAR сьогодні**

Международный союз фундаментальной и клинической фармакологии (IUPHAR) был официально учрежден в 1965 году. Учитывая, что за последние десятилетия фармакология получила значительное развитие, IUPHAR с целью удовлетворения потребностей его членов также адаптировался и изменился. Сегодня IUPHAR обеспечивает полный спектр услуг и мероприятий для фармакологов всего мира с учетом современных технологий, местоположения и интересов. В данной статье представлена выборка из многих мероприятий, предлагаемых IUPHAR и его подразделениями.

Надійшла: 12.09. 2012 р.

Контактна особа: Corresponding author Lynn LeCount, CMA, Administrative Officer,
IUPHAR Secretary-General Office, University of Kansas Medical Center, 3901 Rainbow Boulevard,
Mail Stop 4016, Kansas City, Kansas 66160 USA, E-mail: IUPHAR@kumc.edu

О. О. Казакова², Т. Ю. Небесна¹, І. С. Чекман¹, М. І. Загородний¹

Глосарій з квантової фармакології – науково-педагогічні аспекти

¹Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ²Інститут хімії поверхні імені О. О. Чуйка НАН України, м. Київ

Прогрес у розвитку квантової хімії, фізики та механіки, молекулярної біології, комп'ютерних технологій заклав теоретично-методичні засади та сприяв розвитку досліджень нової науки – квантової фармакології. Термін «квантова фармакологія» з'явився в науковій літературі в 1987 році [1].

Квантова фармакологія як інтегральна наука використовує досягнення багатьох інших дисциплін, зокрема: фізико-хімії, квантової хімії, квантової фізики, квантової механіки, фізичної та медичної хімії, молекулярної біології, фізіології, статистики, комп'ютерного моделювання [2–4]. На основі аналізу даних літератури та з урахуванням власних досліджень можна дати таке визначення. Квантова фармакологія – це наука, що застосовує принципи теоретичної хімії, квантової фізики, квантової механіки та методи комп'ютерного моделювання для дослідження молекулярної структури лікарських засобів, механізмів їхньої взаємодії з рецепторами, біомолекулами організму з метою встановлення первинної фармакологічної реакції медикаментів, а також цілеспрямованого синтезу оригінальних препаратів та раціонального застосування їх у клінічній практиці [5].

Основними напрямками наукових досліджень з квантової фармакології є такі: вивчення квантово-хімічної структури лікарських засобів, встановлення зв'язку між хімічною структурою та активністю речовин різного походження (QSAR), встановлення ролі розчинника в механізмі дії лікарських засобів, а також фармакофорів лікарських засобів – необхідного просторового розташування молекулярних фрагментів, що забезпечують структуру, фізико-хімічні та квантово-фармакологічні

властивості, які, у свою чергу, зумовлюють фармакологічну активність речовини [6–8]. Суттєве значення квантова фармакологія надає розробці *de novo* дизайну лікарських засобів, встановленню білок-лігандних взаємодій для вивчення реакцій між лікарськими засобами та біомолекулами людини [9–13]. Усі ці аспекти дослідження із квантової фармакології спрямовані на вивчення ключових механізмів дії лікарських засобів з метою синтезу і впровадження в медичну практику нових, високоефективних і безпечних лікарських засобів для лікування та профілактики різних захворювань і невідкладних станів.

При проведенні досліджень із квантової фармакології суттєве значення має правильне тлумачення квантово-хімічних та квантово-фармакологічних термінів. Тому в цій статті узагальнені дані літератури щодо систематизації термінології з квантової фармакології з метою впровадження в наукові дослідження та педагогічний процес при викладанні хімії, фізики, фармацевтичної хімії, фармакології.

Ab initio calculations / неемпіричні розрахунки (лат. *ab initio* – «з перших принципів», «з початку») – основний метод розрахунку в сучасній квантовій хімії. Вихідними даними є заряди ядер і їхнє положення в молекулі або кристалі та набори базисних функцій (як правило, слейтеровського або гауссового типів). Це найточніший з обчислювальних методів. Зазвичай полягає в розв'язанні одноелектронних рівнянь Хартрі-Фока або Кона-Шема з урахуванням електронної кореляції. Найчастіше при розв'язанні використовують наближення МО ЛКАО (молекулярних орбіталей у вигляді лінійної комбінації атомних орбіталей).

Absolute hardness / абсолютна жорсткість – індекс реакційної здатності, введений Р. Пірсоном у 1986 році в рамках теорії МО.

Абсолютну жорсткість (η) молекули визначають за формулою:

$$\eta = 1/2 (E_{\text{нвмо}} - E_{\text{взмо}}),$$

де $E_{\text{нвмо}}$ – енергія нижчої вакантної, $E_{\text{взмо}}$ – енергія вищої зайнятої молекулярних орбіталей.

Absolute softness / абсолютна м'якість – індекс реакційної здатності, уведений Р. Пірсоном у 1986 році в рамках теорії МО.

$$S = 1/2\eta, \text{ де } \eta - \text{абсолютна жорсткість.}$$

Введення абсолютних жорсткості η і м'якості S нівелювало чітку межу між твердими й м'якими сполуками: кожній системі притаманні обидві ці властивості. Тепер поняття переваги взаємодій «жорсткий-жорсткий» і «м'який-м'який» замінюються поняттям переваги взаємодій сполук електрофільної та нуклеофільної природи із близькими значеннями η і S .

Activation energy (energy barrier) / енергія активації (енергетичний бар'єр) – енергія, яку необхідно надати системі, щоб відбулася реакція. Розраховується як різниця між нижчими енергетичними рівнями перехідного стану та реагентів з урахуванням температурної поправки й енергії нульових коливань.

AM1 (Austin Model 1) / модель Остін 1 – напівемпіричний квантово-хімічний метод, що використовує одну з параметризацій модельного гамільтоніана, запропонованих групою М. Дьюара, яка працює в університеті міста Остін, штат Техас, США. Параметрами метода є енергії електрона на валентній орбіталі вільного атома, двоцентрові одноелектронні інтеграли, резонансні інтеграли, калібровані за теплотами утворення молекул в основному електронному стані. Параметри скориговані на завищення остов-остовного відштовхування на відстані більшій ніж 3 Å. Методом AM1 знаходять оптимізовані геометричні конфігурації, загальну енергію молекул, електронні властивості та

теплоту утворення. Метод корисний для молекул, що містять елементи першого і другого періодів періодичної таблиці, але не перехідні метали. Результати у більшості випадків наближаються до рівня розрахунків *ab initio*, і перевершують інші напівемпіричні методи, особливо при описі водневих зв'язків.

Angstrom / ангстрем – одиниця довжини, що дорівнює 10^{-10} м.

Atomic units (au or a. u.) / атомні одиниці – застосовуються для спрощення розрахунків у квантовій хімії. Приймають, що $m = 1$, $e = 1$, $\hbar = 1$. При такому виборі одиницями довжини та енергії є величини $\hbar^2/me^2 = 1$ Бор = $0,529177 \cdot 10^{-8}$ см, $me^4/\hbar^2 = 1$ Хартрі = $27,2116$ еВ = $2625,5$ кДж/моль = $627,5$ ккал/моль, одиницею швидкості – величина $e^2/\hbar = 2,18769 \cdot 10^8$ см·с $^{-1}$, а одиницею часу $\hbar^3/me^4 = 2,41888 \cdot 10^{-17}$ с. В атомних одиницях вимірюють й інші фізичні величини.

Basis set superpositional error (BSSE) / суперпозиційна помилка базисних наборів – помилка, яка виникає при обчисленні енергії взаємодії молекул варіаційним методом через те, що для розрахунку всіх молекул комплексу використовують більш широкий набір базисних функцій порівняно з базисом, в якому розраховувалася кожна молекула окремо. Ігнорування цього факту призводить до штучного заниження енергії комплексу, тобто до завищення енергії взаємодії. Щоб виправити цю помилку, енергію кожної окремої молекули розраховують, включаючи до базису функції, центровані на атомних центрах сусідніх молекул. При цьому вважають, що заряди ядер останніх дорівнюють нулю, і беруть число електронів рівним такому в окремій розглянутій молекулі.

Binding energy of the molecule / енергія зв'язування молекули – енергія, що чисельно дорівнює роботі, яку необхідно виконати для розриву хімічних зв'язків у молекулі. Тобто, чим вище енергія зв'язків, тим стабільніша молекула.

Biological activity / біологічна активність – властивість молекули викликати певні біологічні зміни.

Biotarget / біомішень – макромолекула в організмі людини, на яку майбутні ліки повинні впливати, зв'язуючись із нею. У переважній більшості випадків такою мішенню буває білок (зазвичай рецептор або фермент), але це може бути молекула ДНК й інші важливі біомолекули.

Bond length / довжина зв'язку – відстань між атомами молекули, пов'язаними хімічним зв'язком. Дані про довжини зв'язків отримані фізичними дослідженнями, головним чином, рентгеноструктурним аналізом кристалів, методом електронографії та нейтронографії парів, а також за допомогою спектрів молекул (вимушеного комбінаційного розсіювання та мікрохвильової спектроскопії).

Boundary molecular orbitals HOMO (highest occupied molecular orbital) and LUMO (lowest unoccupied molecular orbital) / граничні молекулярні орбіталі ВЗМО (вища зайнята молекулярна орбіталь) і НВМО (нижча вакантна молекулярна орбіталь) – молекулярні орбіталі, енергії яких значною мірою визначають реакційні властивості молекул і радикалів. ВЗМО характеризує взаємодію молекули з електроноакцепторами, а НВМО – з електронодонорами. Позитивна енергія НВМО зумовлює нуклеофільні властивості молекули, негативна – електрофільні. Відповідно до теореми Купменса, енергії граничних орбіталей відповідають значенням потенціалу іонізації молекули ІА, (енергія ВЗМО) або її спорідненості до електрону АА (енергія НВМО).

Charge and bond order matrix / матриця зарядів-порядків зв'язків – матриця, елементами якої є величини, $P_{\mu\nu} = \sum_j C_{j\mu} C_{j\nu}$, де $C_{j\mu}$, $C_{j\nu}$ – коефіцієнти в розкладанні МО ЛКАО для μ і ν -ой атомних орбіталей у j -ой молекулярної орбіталі (підсумовування ведеться по зайнятих МО). Відіграє важливу роль у теорії хімічного зв'язку, наближено описуючи розподіл електронної густини в молекулі, дипольний момент і ін.

Configuration interaction method (CI) / метод конфігураційної взаємодії (КВ) – один з методів, що дозволяє враховувати енергію електронної кореляції. Бага-

тоелектронна хвильова функція в цьому методі розкладається в ряд за детермінантами Слейтера, що описують систему в усіх можливих електронних конфігураціях. Кожен такий детермінант будується зі спин-орбіталей, що відповідають основним або одному зі збуджених одноелектронних станів. Повна КВ – хвильова функція, що враховує всі можливі електронні збудження, відшукується варіаційним шляхом. Метод застосований до опису збуджених станів, систем із відкритими оболонками й нерівноважних систем (наприклад, дисоціюючих молекул), фотохімічних реакцій.

Conformations / конформації – різні просторові форми, яких кожна хімічна молекула може набувати в результаті обертання її частини навколо простих зв'язків й інших внутрішньомолекулярних рухів, що відбуваються без розриву хімічних зв'язків. Кожній конформації відповідає певна енергія. Можливе існування одного, двох і більше мінімумів енергії. У цьому випадку є відповідно одна, дві й більше стійкі конформації (розрізняються за своєю енергією), розділені потенційним бар'єром (бар'єрами). Найвигіднішій конформації молекули відповідає найнижча потенційна енергія. Молекули у відповідних конформаціях називають конформерами, конформаційними ізомерами або ротамерами.

De novo design / de novo дизайн – методика пошуку сполуки-лідера, коли структура мішені відома, а структуру її ліганду ми не знаємо. Створюють комп'ютерну просторову модель молекули-мішені, у тому числі тієї її порожнини, з якої мають зв'язуватися ліки. Потім на комп'ютері суміщають цю порожнину з різними молекулами – кандидатами на роль лідера (ця процедура називається «докінг», за аналогією із заходом судна в док). При цьому структуру гіпотетичних лідерів потрібно підбирати таким чином, щоб, по-перше, домогтися гарного поєднання розмірів молекули з розміром порожнини, по-друге, збільшити взаємне зв'язування молекули з порожниною мішені (за рахунок слабких взаємодій: водневих зв'язків, електроста-

тичного притягання, ліпофільних взаємодій і ін.). У результаті можна підібрати структуру певного розміру й геометрії, яка добре підходить під мішень. Змодельовану сполуку синтезують, випробовують на активність і, якщо така виявиться, беруть її як сполуку-лідера.

Density functional theory (DFT) / теорія функціонала густини (ТФГ) – метод розрахунку електронної структури систем багатьох частинок у квантовій фізиці й квантовій хімії. Зокрема, застосовується для розрахунку електронної структури молекул і конденсованої речовини. Основна мета теорії функціонала густини – при описі електронної підсистеми замінити багатоелектронну хвильову функцію електронною густиною. Це веде до суттєвого спрощення завдання, оскільки багатоелектронна хвильова функція залежить від 3 n змінних – по 3 просторові координати на кожен з n електронів, у той час, як густина – функція лише трьох просторових координат. Як правило, метод теорії функціонала густини використовується спільно з формалізмом Кона-Шема, у рамках якого складна задача про опис декількох взаємодіючих електронів у статичному зовнішньому полі (атомних ядер) зводиться до більш простої – про незалежні електрони, які рухаються в деякому ефективному потенціалі. Цей ефективний потенціал включає статичний потенціал атомних ядер, а також ураховує кулонівські ефекти, зокрема, обмінну взаємодію та електронну кореляцію. Розрахунки за методом ТФГ вимагають менше комп'ютерного часу, ніж обчислення іншими методами, дозволяючи розраховувати характеристики молекулярних систем із великою кількістю атомів.

Dipole moment / дипольний момент – електрична, векторна величина, що характеризує асиметрію розподілу позитивного й негативного зарядів в електрично-нейтральній системі. Дипольний момент молекули обчислюють, використовуючи матрицю зарядів-порядків зв'язків, що включає коефіцієнти в розкладі МО ЛКАО. Дипольний момент спрямований від

центра негативних зарядів до центра позитивних. Найважливіша область застосування даних щодо дипольних моментів молекул – структурні дослідження, встановлення конформації молекул, її залежності від температури. Величини дипольних моментів молекул дозволяють судити про розподіл електронної густини та залежність цього розподілу від характеру окремих замісників.

Electron density / електронна густина – міра «густини» електронної хмари, густина ймовірності виявлення електронів у даній точці простору. Інтеграл від електронної густини на всьому просторі дає повне число електронів.

Electronic energy of the molecule / електронна енергія молекули – компонента загальної енергії молекули в наближенні Борна-Оппенгеймера, обчислена при фіксованій конфігурації ядер. Друга компонента загальної енергії в цьому наближенні – коливально-обертальна енергія ядер.

Electrostatic potential / електростатичний потенціал молекули в даній точці – скалярна енергетична характеристика електростатичного поля молекули, що дорівнює потенціальній енергії одиничного заряду, поміщеного в дану точку поля молекули. Використовується як індекс реакційної здатності для визначення положення реакційних центрів у хімічних реакціях за участю «жорстких» сполук: атака електрофілів буде направлена на області молекул, де потенціал найнегативніший.

Free energy of solvation / вільна енергія сольватації – енергія взаємодії між молекулами або іонами розчиненої речовини та розчинника.

Geometry optimization / оптимізація геометрії – пошук стійкої конфігурації молекули, що відповідає локальному або глобальному енергетичним мінімумам.

Global energy minimum / глобальний мінімум енергії – особлива точка на поверхні потенційної енергії (ППЕ), що відповідає самому глибокому мінімуму. Характеризує найбільш стійку конфігурацію молекулярної системи. Решті локальних мінімумів ППЕ відповідають ізомери з меншою енергією.

Heat of formation / теплота утворення (ΔH) – тепловий ефект реакції утворення хімічних сполук із вихідних речовин у стандартному стані. За теплою утворення іноді судять про стійкість конформерів. Замість теплоти утворення вірніше оперувати вільною енергією Гіббса $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ (H – ентальпія, T – температура, S – ентропія), яка враховує також ентропійні ефекти.

Hydrogen bond / водневий зв'язок – взаємодія між електронегативним атомом (N, O чи F) і атомом водню H, зв'язаним ковалентно з іншим електронегативним атомом. Водневі зв'язки можуть бути міжмолекулярними або внутрішньомолекулярними. Однією з ознак водневого зв'язку може служити відстань між атомом водню та іншим атомом, який його створює. Вона повинна бути меншою, ніж сума радіусів цих атомів. Водневі зв'язки багато в чому зумовлюють фізичні властивості води та багатьох органічних рідин (спиртів, карбонових кислот, амідів карбонових кислот, складних ефірів). Природа водневого зв'язку складна та не зводиться тільки до електростатичного тяжіння, хоча воно й дає основний внесок в енергію водневого зв'язку. Найсильніші водневі зв'язки утворюються за участю атомів фтору. У симетричному іоні $[F-H-F]^-$ – енергія водневого зв'язку дорівнює 155 кДж/моль і порівнювана з енергією ковалентного зв'язку. Енергія водневого зв'язку між молекулами води вже помітно менша (25 кДж/моль).

Hydrophobic moiety in the molecule / гідрофобна частина молекули – частина молекули, що не утворює водневі зв'язки з молекулами води. Згідно із законом термодинаміки, матерія прагне до стану з мінімальною енергією, а зв'язування знижує хімічну енергію. Молекули води поляризовані та здатні утворювати між собою водневі зв'язки, чим пояснюються унікальні властивості води. У той самий час, гідрофобні молекули не поляризовані й не здатні утворювати водневі зв'язки, тому вода відштовхує такі молекули, утворюючи зв'язки між самими лише молекулами

води. Саме цей ефект визначає гідрофобну взаємодію, названу так не зовсім коректно, тому що її джерелом є взаємодія гідрофільних молекул води між собою. Так, дві не змішувані фази (гідрофільна і гідрофобна) перебуватимуть у такому стані, де поверхня їхнього контакту буде мінімальною.

Intermolecular interactions / міжмолекулярні взаємодії – взаємодії молекул між собою, які не призводять до розриву або утворення нових хімічних зв'язків. Міжмолекулярні взаємодії зумовлюють відміну реальних газів від ідеальних, існування рідин і молекулярних кристалів. Від міжмолекулярних взаємодій залежать структурні, спектральні, термодинамічні, теплофізичні та інші властивості речовин. Поява поняття міжмолекулярної взаємодії пов'язана з ім'ям Й. Д. Ван-дер-Ваальса, який для пояснення властивостей реальних газів і рідин запропонував у 1873 році рівняння стану, що враховує міжмолекулярні взаємодії. Тому сили міжмолекулярної взаємодії часто називають ван-дер-ваальсовими. Ван-дер-ваальсові сили помітно поступаються хімічному зв'язуванню. Наприклад, сили, що втримують атоми хлору в молекулі хлору майже в десять разів більші, ніж сили, що зв'язують молекули Cl_2 між собою. Але без цього слабкого міжмолекулярного тяжіння не можна отримати рідкий і твердий хлор.

Основу міжмолекулярних взаємодій складають кулонівські (електростатичні) сили взаємодії між електронами та ядрами однієї молекули і ядрами та електронами іншої. На великих відстанях, які значно перевищують лінійні розміри молекул, внаслідок чого електронні оболонки молекул не перекриваються, сили міжмолекулярної взаємодії можна досить обґрунтовано підрозділити на три види – електростатичні, поляризаційні (індукційні) та дисперсійні. Електростатичні сили іноді називають орієнтаційними, проте це неточно, оскільки взаємна орієнтація молекул може зумовлюватися також і поляризаційними силами, якщо молекули анізотропні. На малих відстанях (порівняних з розмірами молекул) розрізнити

окремі види міжмолекулярних взаємодій можна лише приблизно, при цьому, крім названих трьох видів, виділяють ще два, пов'язані з перекриванням електронних оболонок, – обмінна взаємодія й взаємодія, пов'язана з переносом електронного заряду. Незважаючи на деяку умовність, такий розподіл у кожному конкретному випадку дозволяє пояснювати природу міжмолекулярної взаємодії та розраховувати її енергію.

Ionization potential / потенціал іонізації – енергія, яку необхідно надати системі, щоб видалити будь-який з її електронів. За потенціалом іонізації можна судити про міцність зв'язку електрона даної орбіталі з атомним остовом.

Kohn–Sham method / метод Кона-Шема – основний метод теорії функціонала густини. Заснований на припущенні, що електронну щільність можна розглядати як неоднорідний електронний газ. Недолік: проблеми з розрахунком дисперсійних взаємодій, недооцінка ширини забороненої зони у твердих тілах.

Koopmans theorem / теорема Купманса (сформульована Т. Купмансом у 1933 р.) – дозволяє розраховувати потенціал іонізації атома або молекули в рамках методу молекулярних орбіталей. Згідно з теоремою Купманса, потенціал іонізації дорівнює за абсолютною величиною орбітальній енергії електрона, видаленого з молекули. Теорема Купманса дозволяє також оцінювати спорідненість до електрона за орбітальною енергією НВМО. Теорема Купманса не враховує узгодженості руху електронів у молекулі (електронної кореляції) і перебудови орбіталей іона порівняно з орбіталями молекули. Врахування цих ефектів можливо методами теорії збурень, проте зазвичай такі ефекти значною мірою взаємно компенсовані. Це дозволяє з успіхом застосовувати теорему Купманса для інтерпретації рентгено- і фотоелектронних спектрів молекул, а також при вивченні Оже-спектрів.

Lead compound / сполука-лідер – це хімічна сполука, що має бажану, цікаву, але не оптимальну активність. Це

структурний прототип майбутніх ліків. На першому етапі завдання створення ліків саме й зводиться до того, щоб знайти його прототип (якщо, звичайно, він не був знайдений випадково). Стратегія пошуку лідерів залежить від того, що відомо про його біоішені, а також від того, що відомо про структури вже існуючих лігандів, які з нею зв'язуються (цей ліганд може, наприклад, вироблятися самим організмом).

Local energy minimum / локальний мінімум енергії – мінімум на енергетичній поверхні для молекулярної системи, що представляє конформацію з найнижчою потенційною енергією. Обчислення, спрямовані на оптимізацію геометричної конфігурації молекулярної системи, зазвичай закінчуються на конфігурації, яка відповідає локальному мінімуму енергії.

Molecular descriptors / молекулярні дескриптори – набір незалежних параметрів, що характеризують електронні, структурні, геометричні та інші особливості молекул медикamentів. Умовно поділяються на елементарні, геометричні, квантово-хімічні, фізико-хімічні, топологічні та ін. Велику роль у QSAR-дослідженнях мають квантово-хімічні та топологічні дескриптори.

Molecular geometry (or molecular structure) / геометрична структура молекули – визначається рівноважним розташуванням атомних ядер і характеризується відстанями між атомами (довжинами зв'язків) та кутами між зв'язками (валентними та торсійними).

Molecular modeling / молекулярний докінг (або молекулярне стикування) – метод молекулярного моделювання, який дозволяє передбачити найвигіднішу для утворення стійкого комплексу орієнтацію та положення однієї молекули відносно іншої.

Molecular orbital as a linear combination of atomic orbitals (MO LCAO) / молекулярна орбіталь як лінійна комбінація атомних орбіталей (МО ЛКАО) – наближена хвильова функція одного електрона в молекулі, обчислена в наближенні самоузгодженого поля як лінійна комбінація атомних орбіталей. Делокалізована по всьому простору молекули.

Molecular orbital theory / метод (теорія) молекулярних орбіталей – найважливіший метод квантової хімії. В основі методу лежить уявлення про те, що кожен електрон молекули описується своєю хвильовою функцією – молекулярною орбіаллю (МО). Унаслідок неможливості точно вирішити рівняння Шрьодінгера для систем з двома і більше електронами, спосіб отримання виразу для МО неоднозначний. На практиці найчастіше кожен МО представляють як лінійну комбінацію атомних орбіталей (наближення МО ЛКАО).

Müller–Plesset perturbation theory / теорія збурень Меллера-Плессета – теорія збурень, що застосовується для врахування багателектронних ефектів. Ефекти, що вносяться кореляцією в русі електронів у кожен момент часу, враховуються як поправки до незбурених хвильових функцій і рівнів енергії, що отримуються при розрахунках за методом Хартрі-Фока (в яких використані наближення незалежних частинок і самоузгодженого поля, ефект електронної кореляції не враховується). Теорія збурень Меллера-Плессета придатна для опису дисперсійних взаємодій, водневих зв'язків і перехідних станів.

MOPAC (від англ. Molecular Orbital PACKage) – комплекс напівемпіричних програм, розроблений Дж. Стюартом (J. J. P. Stewart). Застосовується при розрахунку електронної структури основного та збуджених станів атомів, молекул і твердих тіл. У MOPAC реалізовані напівемпіричні методи MINDO/3, MNDO, AM1, PM3 і PM6. Остання версія програми дозволяє розраховувати біомолекули (> 10 000 атомів) на основі використання локалізованих молекулярних орбіталей, сполуки 3d- та 4d металів, збуджений та основний стан молекул у розчині, зонну структуру твердих тіл.

Mulliken population analysis / аналіз електронної заселеності орбіталей по Маллікену – процедура для визначення електронних зарядів атомів у молекулі та електронної заселеності перекривання орбіталей. Складається з розрахунку електронної заселеності атомних

орбіталей, центрованих на атомі в молекулі (діагональні елементи матриці зарядів-порядків зв'язків) та електронної заселеності перекривання орбіталей (недіагональні елементи матриці зарядів-порядків зв'язків). При розрахунку електронного заряду атома заселеність перекривання орбіталей, що належать різним атомам, ділиться навпіл. Чутливий до вибору базисного набору. Використовується, здебільшого, через простоту, включений у всі неемпіричні програми.

Nuclear repulsion energy / енергія між'ядерної взаємодії – енергія відштовхування ядер атомів у молекулі.

Orbital basis set / базисний орбітальний набір (базис) – набір функцій, що використовуються для апроксимації атомних орбіталей. Базисні функції не відповідають у точності атомним орбіталям, за винятком водородоподібних атомів, через апроксимуючий і спрощений характер аналітичних функцій, що їх описують. При здійсненні квантово-хімічних розрахунків зазвичай використовують базис, що складається з кінцевого числа атомних орбіталей, зосереджених на кожному атомному ядрі, що входить до складу молекули. Як атомні орбіталі використовують орбіталі слетеровського (STO, Slater-type orbitals), та гауссова типу (GTO, Gaussian-type orbitals).

На сьогодні існують сотні базисів, найменші з них (мінімальні базисні набори STO-nG, де n – ціле число, яке позначає, скільки простих гауссових функцій було включено в одну базисну функцію) складаються з мінімального набору базисних функцій. Такі базиси недостатні для серйозних наукових розрахунків, проте розрахунки здійснюються значно швидше. Найбільші базиси містять по кілька сотень базисних функцій для кожного атома молекули. В удосконалених базисних наборах валентні орбіталі описуються кількома базисними функціями (які, у свою чергу, можуть описуватися декількома гауссовими функціями). Такі базисні набори називають валентно-розщепленими. Прикладом може бути один з найпоширеніших базисних наборів 6-31G. Такий запис озна-

чає, що орбіталі остова описуються 6-ма гауссовими функціями, а валентні орбіталі двома наборами з трьох і однієї функції.

Для більш точного опису ефектів поляризації стандартні базисні набори доповнюють поляризаційними функціями – незаселеними орбіталями з більш низькою симетрією (тобто р-орбіталями для атомів водню й гелію, d-орбіталями для р-елементів, f-орбіталями для d-елементів). Запис 6-31G (d, p) указує на те, що до стандартного базисного набору 6-31G необхідно додати поляризаційні функції: d-функції для р-елементів і р-функції для водню.

Для більш точного розрахунку аніонів, молекул, що мають неподілені електронні пари, а також для коректного опису далеко діючих типів зв'язків (наприклад, водневого) базисні набори доповнюються дифузними функціями. Дифузні функції додаються до базисних наборів за допомогою символів + та ++ (наприклад, 6-31 ++ G).

Partial atomic charge / ефективний заряд атома характеризує різницю між числом електронів, що належать даному атому в хімічній сполуці, і числом електронів вільного атома, тобто зміну електронної густини цього атома. При цьому варто пам'ятати, що на атомі локалізовано лише заряд ядра, а електронні заряди, що виражають асиметрію електронної хмари, умовні, оскільки електронна хмара делокалізована, і її не можна «розділити» між ядрами окремих атомів. Найчастіше при обчисленні заряду на атомі в квантовій хімії використовують аналіз електронної заселеності, запропонований Р. С. Маллікеном. Ефективні заряди, визначені в рамках однієї моделі або в однотипних розрахунках, використовують для кореляції з різними фізико-хімічними характеристиками сполук, встановлення реакційних центрів у молекулах, оцінки ступеня іонності хімічного зв'язку та ін.

Слід зауважити, що величини зарядів на атомах, розрахованих у наближенні Маллікена, у неемпіричних розрахунках дуже сильно залежать від вибору базису, а в напівемпіричних –

методу, але якісні результати (знак і відносна величина заряду) залишаються однаковими. При розширенні базису заряди зазвичай збільшуються за абсолютною величиною, оскільки при введенні в нього сильно дифузних орбіталей атому приписується електронна густина, яка насправді від нього надто віддалена. Зокрема, не слід використовувати аналіз заселеності за Р. С. Маллікеном при включенні до базису поляризаційних (наприклад, 6-31G(d) і 6-31G(d,p)) та дифузних орбіталей (6-31+G і 6-31++G).

Pharmacological activity / фармакологічна активність – сукупність ефектів, викликаних введенням даної речовини або суміші речовин в організм, що використовуються при лікуванні, профілактиці захворювань або для підтримання необхідного рівня життєдіяльності.

Pharmacophore / фармакофор – це набір просторових і електронних ознак молекули, необхідних для забезпечення оптимальних супрамолекулярних взаємодій зі специфічною біологічною мішенню, які можуть викликати (або блокувати) біологічну активність молекули. Термін фармакофор був уведений Паулем Ерліхом у 1909 році.

Pharmacological activity / фармакологічна активність – сукупність ефектів, викликаних введенням даної речовини або суміші речовин в організм, що використовуються при лікуванні, профілактиці захворювань або для підтримання необхідного рівня життєдіяльності.

PM3 (Parameter Model 3) / параметрична модель 3 – версія параметризації методу AM1; дає кращі оцінки теплоти утворення. PM3 відрізняється від AM1 тільки величинами параметрів. Параметри для PM3 були отримані порівнянням великого числа даних різних експериментів з результатами розрахунків (для 500 сполук, у той час, як для AM1 усього для 200). Як правило, нековалентні взаємодії в методі PM3 є менш розштовхувальними, ніж у AM1. PM3 спочатку призначався для розрахунку органічних молекул, але потім він був також параметризований і для ряду інших

груп елементів, зокрема, і для перехідних металів. Це метод SCF.

PM6 (Parameter Model 6) / параметрична модель 6 – нова версія параметризації методу AM1 для всіх елементів головних груп і перехідних металів. Параметризована на основі порівняння експериментальних даних із результатами *ab initio* розрахунків для понад 9000 сполук. Реалізована в MORAC 2009.

Potential energy surface / поверхня потенційної енергії (ППЕ) – представлення потенційної енергії молекулярної системи як багатовимірної функції всіх змінних (ступенів свободи) у системі (наприклад, довжин зв'язків і кутів між ними). Для молекули, що складається з *N* атомів, буде потрібно в загальному випадку $3N-6$ координат, від кожної з яких залежить величина потенційної енергії. Це означає, що потенційна енергія системи з трьох атомів залежить від трьох координат, і для побудови вимагає чотиривимірного простору. Таким чином, поверхня потенційної енергії реальних хімічних систем є гіперповерхнею в багатовимірному просторі.

Важливими особливостями потенційної поверхні є мінімуми та сідлові точки, які знаходять, оптимізуючи геометрію молекул. При квантово-хімічному описі хімічних реакцій припускають, що реагентам, продуктам, перед- і післяреакційним комплексам відповідають локальні мінімуми, а перехідному стану – сідлова точка ППЕ хімічної реакції.

QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) / кількісне співвідношення структура-активність – процедура побудови моделей, що дозволяють за структурами хімічних сполук передбачати їхні різноманітні властивості. До формулювання завдання QSAR (Ханш, 1990) призвело використання для біологічно активних молекул методу IPC (індексів реакційної здатності). Це завдання полягає у створенні моделей на основі кількісних кореляцій між властивостями (наприклад, біологічною активністю) великих молекул і сумою хімічних дескрипторів їхніх функціональних груп. Передба-

чається, що будь-яка властивість великої молекули наближено визначається сумою властивостей її функціональних груп. Найбільшу увагу зараз привертають зворотні QSAR-завдання, які полягають у генерації нових структур із заданими властивостями – молекулярний дизайн.

Quantum chemistry / квантова хімія – розділ теоретичної хімії, в якому будову і властивості хімічних сполук, їхню взаємодію та перетворення в хімічних реакціях розглядають на основі уявлень і за допомогою методів квантової механіки. Методи квантової хімії тісно пов'язані з експериментально встановленими закономірностями у властивостях і поведінці хімічних сполук, у тому числі закономірностями, що описуються класичною теорією хімічної будови. Основна мета квантової хімії полягає в *ab initio* (апріорі) прогнозі структури й енергії молекул. Експериментально недоступні молекулярні системи можуть бути досліджені лише за допомогою методів квантової хімії.

Reactivity indexes / Індекси реакційної здатності (IPC) – отримані в результаті квантово-хімічних розрахунків електронні та енергетичні характеристики системи, що корелюють з експериментальними даними про реакційну здатність. Практичне застосування IPC слід розглядати в плані утворення набору розрахункових величин – дескрипторів, що корелюють з конкретними властивостями молекулярної системи. У сучасній квантовій хімії значущість методу IPC визначається його застосуванням для вивчення властивостей великих молекул і твердих тіл. Прикладами поширених IPC є: валентність атома й кратність зв'язків, структури й енергії граничних МО, заряди, молекулярний електростатичний потенціал, абсолютна жорсткість і абсолютна м'якість молекулярних систем, енергія активації реакції розриву хімічного зв'язку та ін.

Receptor / рецептор – молекулярна структура, що знаходиться всередині клітини або на її поверхні й селективно зв'язується з певною речовиною, викликаючи певний фізіологічний ефект.

Restricted open-shell Hartree–Fock (ROHF) / обмежений (за спіном) метод Хартрі-Фока (ОХФ, англ. RHF) – метод самоузгодженого розв’язання рівняння Шрьодінгера, в якому багатеелектронна хвильова функція вибирається у вигляді єдиного детермінанта Слейтера, побудованого з просторових орбіталей, зайнятих парою електронів з протилежними спінами. Використовується для систем із відкритою й закритою оболонкою.

Self-consistent field method (SCF) / метод самоузгодженого поля – метод квантової хімії для розрахунку електронних хвильових функцій та електронних енергій атомів, молекул, кристалів, в якому стан окремої частинки складної системи визначається усередненим полем, створюваним усіма іншими частинками, і залежним від стану кожної частинки. Уперше поняття самоузгодженого поля було застосовано Д. Хартрі (1927 р.) для вивчення атомів і атомних спектрів; у методі Хартрі хвильова функція електрона задовольняє рівнянню Шрьодінгера з потенціалом, що залежить від хвильових функцій інших електронів. У 1930 році В. А. Фок розвинув метод Хартрі з урахуванням перестановочної симетрії хвильових функцій електронів згідно із принципом Паулі (метод молекулярних орбіталей Хартрі-Фока).

Semiempirical methods / напівемпіричні методи – група розрахункових методів квантової хімії, в яких не обчислюють одноелектронні й двоелектронні інтеграли, що фігурують у методі ХФ. Замість точного оператора Фока використовується наближений, елементи якого отримують з емпіричних даних. Відповідні параметри підбирають для кожного атома (іноді – з урахуванням конкретного оточення) і для пар атомів: таким чином, вони є або фіксованими числами, або залежать від відстані між атомами. Завдяки більшій швидкості розрахунку порівняно з неемпіричними, напівемпіричні методи, застосовані до великих біологічних систем і для деяких класів сполук, дозволяють отримати надійну інформацію. Однак це досягається за рахунок спеціально підібраних параметрів, справедливих лише в межах вузького класу сполук. При пере-

несенні на інші класи, ті самі методи можуть дати абсолютно невірні результати. Крім того, параметри розрахунку часто підбираються таким чином, щоб відтворювати ті чи інші молекулярні властивості, тому надавати фізичний зміст окремим параметрам не слід. Найбільше використовуються напівемпіричні методи: AM1, PM3, PM6.

Strain energy of the molecule / енергія напруги (напруженості) молекули – надлишкова енергія порівняно з мінімальною енергією молекули у стійкому стані. Напруженість молекули – міра її нестійкості, яка створюється відхиленням різних структурних параметрів від ідеальних (стандартних) значень, властивих молекулі еталонної сполуки. Зазвичай розглядають довжини зв’язків, валентні кути, кути внутрішнього обертання й відстані між валентно незв’язаними атомами. На підставі значення енергії напруги (ΔG) з рівняння Гіббса $\Delta G = -RT \ln k$ можна обчислити константу рівноваги (k) між двома конформаціями (R – універсальна газова стала, T – температура).

Supramolecular chemistry / супрамолекулярна хімія – область хімії, що вивчає хімічну, фізичну, біологічну поведінку молекулярних ансамблів, обумовлену невалентними міжмолекулярними взаємодіями.

Torsion angle (dihedral angle) / торсійний кут – двогранний кут між двома зв’язками, розташованими в різних площинах. Використовують торсійні кути здебільшого для опису будови конформерів.

Total energy of the molecule / загальна енергія молекули – визначається з рівняння Шрьодінгера, і складається з кінетичної енергії ядер та електронів, потенційної енергії електростатичного притягання електронів ядрами, взаємодії між електронами та відштовхування ядер.

Аналітичні розв’язання рівняння Шрьодінгера отримані тільки для атома водню. Для більш складних систем використовують низку послідовних наближень (адіабатичне наближення Борна-Оппенгеймера, метод самоузгодженого поля Хартрі-Фока, метод молекулярних орбіталей, наближення МО

ЛКАО) та чисельні розв'язання отриманих рівнянь методами квантової хімії.

Unrestricted Hartree–Fock (UHF) / необмежений (за спіном) метод Хартрі-Фока (НХФ) – метод самоузгодженого розв'язання рівняння Шрьодінгера, в якому багатоелектронна хвильова функція вибирається у вигляді єдиного детермінанта Слейтера, побудованого зі спин-орбіталей, де електрони з різним напрямком спіну описують різними просторовими функціями. Як правило, застосовується для систем з відкритими оболонками, забезпечуючи більш низьке значення енергії. Пристосований для розрахунку реакцій дисоціації в системах із закритими оболонками.

Valence angle / валентний кут – є кут, утворений напрямками хімічних зв'язків, що виходять з одного атома. Обчислення валентних кутів необхідно для визначення геометрії молекул. Валентні кути залежать як від індивідуальних особливостей приєднаних атомів, так і від гібридизації атомних орбіталей центрального атома. Для простих молекул валентний кут, як і інші геометричні параметри молекули, можна розрахувати методами квантової хімії. Експериментально їх визначають зі значень моментів інерції молекул, отриманих шляхом ана-

лізу їхніх обертальних спектрів. Валентний кут складних молекул визначають методами дифракційного структурного аналізу.

Valence electrons / валентні електрони – електрони, що знаходяться на зовнішній, або валентній оболонці атома. Валентні електрони визначають поведінку хімічного елемента в хімічних реакціях. Чим менше валентних електронів має елемент, тим легше він віддає ці електрони (проявляє властивості відновника) у реакціях з іншими елементами. І навпаки, чим більше валентних електронів міститься в атомі хімічного елемента, тим легше він набуває електрони (проявляє властивості окислювача) у хімічних реакціях за інших рівних умов. Повністю заповнені зовнішні електронні оболонки мають інертні гази, що проявляють мінімальну хімічну активність.

Virtual screening / віртуальний скринінг – обчислювальна процедура, яка включає автоматизований перегляд бази даних хімічних сполук і відбір тих з них, для яких прогнозується наявність бажаних властивостей. Найчастіше віртуальний скринінг застосовується при розробці нових лікарських препаратів для пошуку хімічних сполук, що мають потрібний вид біологічної активності.

1. Reynold C. A. Introducing selectivity into dihydrofolate reductase inhibitors / Reynold C. A., Richards W. G., Goodford P. J. // *Anticancer Drug Des.* – 1987. – V. 1, № 4. – P. 291–295.
2. Головенко М. Я. Фізико-хімічна фармакологія / М. Я. Головенко. – Одеса : Астропринт, 2004. – 720 с.
3. Заградник Р. Основы квантовой химии / Р. Заградник, Р. Полак. – М. : Мир, 1979. – 504 с.
4. Степанов Н. Ф. Квантовая механика и квантовая химия / Н. В. Степанов. – М. : Мир, 2001. – 519 с.
5. Чекман І. С. Квантова фармакологія: стан, перспективи наукових досліджень, впровадження результатів у практичну фармацію / І. С. Чекман // *Фармацевтичний журнал.* – 2011. – № 2. – С. 43–48.
6. Застосування методу QSAR в токсикології / Л. С. Бобкова, І. С. Чекман, О. П. Яворовський О. П. [та ін.] // *Сучасні проблеми токсикології.* – 2008. – № 2. – С. 78–86.
7. Чекман І. С. Квантово-хімічні та топологічні дескриптори в дослідженнях залежності «структура-активність» (огляд літератури та власних досліджень) / І. С. Чекман, О. О. Казакова, Т. Ю. Небесна // *Журнал Академії Медичних Наук України.* – 2008. – Т. 14, № 4. – С. 636–649.
8. Чекман І. С. Методи комп'ютерних розрахунків у квантовій фармакології / І. С. Чекман, О. О. Казакова, Т. Ю. Небесна // *Фармакологія та лікарська токсикологія.* – 2008. – № 1. – С. 48–57.
9. Бурштейн К. Я. Квантовохимические расчеты в органической химии и молекулярной спектроскопии / К. Я. Бурштейн, П. П. Шорыгин. – М.: Мир, 1989. – 302 с.
10. Минкин В. Н. Теория строения молекул / В. Н. Минкин, Б. Я. Симкин, Р. М. Миняев. – М. : Высш. шк., 1979. – 407 с.
11. Соловьев М. Е. Компьютерная химия / М. Е. Соловьев, М. М. Соловьев. – М.: Солон-пресс, 2005. – 325 с.
12. Ab initio molecular orbital theory / W. J. Hehre, L. Radom, R. Schleyer [et al.]. – New-York: Wiley J. Sons, Inc., 1986. – 276 p.
13. Application of the PM6 method to modeling proteins / J. J. P. Stewart // *J. Mol. Model.* – 2009. – V. 15, № 7. – P. 767–805.

О. А. Казакова, Т. Ю. Небесная, И. С. Чекман, М. И. Загородный
Глоссарий по квантовой фармакологии – научно-педагогические аспекты

Квантовая фармакология, как интегральная наука, использует достижения других дисциплин: физико-химии, квантовой химии, квантовой физики, квантовой механики, молекулярной биологии, статистики, положений компьютерного моделирования. В статье приведены наиболее часто употребляемые термины по квантовой фармакологии и их интерпретация. Глоссарий предназначен для использования специалистами в педагогическом процессе преподавания химии, физики, фармацевтической химии, фармакологии.

Ключевые слова: глоссарий, квантовая фармакология, научные исследования, педагогический процесс

O. O. Kozakova, T. J. Nebesna, I. S. Chekman, M. I. Zagorodnyy
Glossary on the quantum pharmacology: research and pedagogic aspects

In the article are presented high-usage terms on quantum pharmacology and their interpretation. Glossary orients on scientists and lecturers of pharmacology, chemistry and other adjacent fields of knowledge.

Keywords: glossary, quantum pharmacology, scientific investigations, pedagogic process

Надійшла: 07.08. 2012 р.

Контактна особа: Чекман І. С., завідувач кафедри фармакології та клінічної фармакології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, просп. Перемоги, 34, м. Київ.
Тел.: +38 (044) 454-49-24.

О. М. Єгоров, І. Ф. Бєленічев, О. П. Соколик, А. В. Абрамов

Вплив цереброкуруину і тіоцетаму на ранню відповідь геному та морфофункціональний стан нейронів СА-1 зони гіпокампа щурів за умов пренатальної алкоголізації

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: пренатальна алкоголізація, тіоцетам, цереброкурин, ген раннього реагування c-fos, СА-1 зона гіпокампа

Актуальність жіночого алкоголізму зумовлена тим, що, у першу чергу, наноситься шкода стану здоров'я дітей, народжених від даного контингенту жінок. В організмі плода на тлі неминучих явищ алкогольної інтоксикації та інших нейроімуноендокринних порушень спостерігаються дистрофічні явища, відставання в рості та розвитку, виникають серйозні порушення мозкового кровообігу, що призводять до стійких порушень енергетичного метаболізму нервової тканини, глутаматної ексайтотоксичності, оксидативного стресу, апоптозу та загибелі нейронів. Важливу роль у цьому відіграють так звані «ранні гени» сімейств c-fos [1]. Згодом у дітей виявляється зниження інтелекту, відставання в психомоторному розвитку, симптоми вегетосудинної дистонії з дихальними порушеннями та інші патології [2–4]. Новонароджені від матерів, що зловживали алкоголем, відрізняються різноманітними клініко-метаболічними, імунологічними, гормональними розладами адаптації до позаутробного життя, високою частотою інфекційних захворювань, суттєвими психоневрологічними порушеннями та відхиленнями розвитку в наступні роки життя. Останнім часом особливий інтерес у лікуванні наслідків пренатального алкоголізму (ПА) викликають препарати з вираженими ноотропними та нейропротективними властивостями (пірацетам, солі янтарної кислоти, мексидол). Нашими дослідженнями показана ефективність тіо-

цетаму та цереброкуруину за умов хронічної алкоголізації, спрямована на зменшення порушень когнітивно-мнестичних функцій ЦНС [5]. Проте їхній вплив на морфофункціональний стан нейронів та відповідь геному за пренатальної алкоголізації (ПА) досконало не вивчений, та відсутнє достовірне експериментальне обґрунтування. *Мета дослідження* – оцінка ефективності призначення тіоцетаму та цереброкуруину тваринам, які перенесли ПА, за результатами впливу препаратів на характер експресії генів ранньої відповіді та морфофункціональні показники нейронів.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на самках білих щурів масою 60–70 г, що отримані із ПП «Біомодельсервіс». Щури з 5-го по 20-й день вагітності отримували етанол у дозі 6–8 г/кг щоденно, контрольні щури – ізокалоричний розчин сахарози. Нащадкам алкоголізованих щурів протягом 25 днів внутрішньочеревинно вводили тіоцетам (125 мг/кг), пірацетам (125 мг/кг) або цереброкурин (0,05 мл/кг), контрольна група тварин отримувала фізіологічний розчин. У кожній групі було по 20 новонароджених.

Для морфологічних та гістоімунохімічних досліджень тканину головного мозку експериментальних тварин поміщали на добу у фіксатор Буена і після стандартної гістологічної проводки тканину укладали в парапласт X-TRA, після чого на ротаційному мікротомі виготовляли зрізи відділів головного мозку, що вивчали, завтовшки 5 мкм (для морфометричних досліджень) і 15 мкм (для гістоімунохімічних досліджень) [6].

Для вивчення морфології нейронів та гліоцитів зрізи фарбували з метою визначення нуклеїнових кислот галоціанін-хромовими галунами за Ейнарсоном.

Визначали наступні показники:

- щільність нейронів, гліальних клітин, апоптотично та деструктивно змінених нейронів (кількість клітин на 1 мм² площі зрізу);
- клітинний склад СА-1 зони кори гіпокампа (у відсотках);
- площу тіл нейронів, гліальних клітин, апоптотично та деструктивно змінених нейронів (мкм²);
- концентрацію РНК у нейронах, гліальних клітинах, апоптотично та деструктивно змінених нейронах, які розраховували як логарифм співвідношення оптичної щільності тіла клітини до оптичної щільності міжклітинної речовини;
- уміст РНК у нейронах, гліальних клітинах (одиниці оптичної щільності, $E_{оп}$), які розраховують як добуток концентрації РНК і площі клітин [7].

Для гістоімунохімічного дослідження використовували метод непрямої імуофлюоресценції. На першому етапі на зрізи наносили первинні антитіла щодо досліджуваного білка та інкубували при 4 °С 24 год. Після інкубації зрізи тричі промивали 0,1 М фосфатним буфером, після чого на зразки наносили вторинні антитіла (флюоресцент кон'югований козячий IgG, Sigma Chemical, USA) та інкубували при кімнатній температурі 60 хв. Після інкубації зрізи промивали 0,1 М фосфатним буфером. На флуоресцентному мікроскопі досліджували c-fos імунопозитивні клітини.

Порівняння груп за якісною ознакою проводили за допомогою критерію χ^2 з аналізом таблиць пов'язаності. Дані представлені у вигляді середнього арифметичного та стандартної помилки репрезентативності середнього значення. Взаємозв'язок між досліджуваними змінними проводили, використовуючи процедуру бінарного регресійного аналізу. Результати дослідження обробляли із застосуванням статистичного пакета програми «SPSS 16», «Microsoft

Excel 2003», «STATISTICA® for Windows 7.0» (StatSoft Inc.). Для всіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності при рівнях значущості менше 0,05.

Результати та їх обговорення. Проведеними експериментальними дослідженнями встановлено, що моделювання ПА призводило до значної зміни відповіді геному, що проявлялося порушенням експресії гена раннього реагування c-fos. Як видно з таблиці 1, на 25 добу життя в щурів із ПА було зареєстровано значне зменшення кількості c-fos-позитивних клітин більш ніж на 55 % відносно групи інтактних тварин. Зміни експресії генів раннього реагування, «третинних месенджерів» (гена c-fos, гена c-jun, гена krox-20, гена zif/268 та ін.) можна розцінювати як неспецифічну реакцію геному на будь-який шкідливий вплив, у тому числі на ішемію [8]. Відомо, що білки fos-, jun- і krox-генних сімейств відіграють вирішальну роль у контролі за клітинним циклом, розвитком, ростом і клітинним розділенням, а також визначають долю диференційованих нейронів [8]. Експресія генів призводить до синтезу ДНК-зв'язаних протеїнів, факторів транскрипції та, у свою чергу, викликають експресію інших генів раннього реагування. Таким чином, гени раннього реагування беруть участь у передачі інформації від клітини до клітини. Цікаво, що транскрипційні фактори можуть бути медіаторами як нейрональної смерті, так і виживання клітин [8, 9].

Зміни відповіді геному за умов моделювання пренатальної алкоголізації супроводжувалися порушеннями морфофункціонального стану як нейронів СА-1 зони гіпокампа, так і гліальних клітин.

Так, на 25 добу життя пренатально алкоголізованих щурів спостерігалось падіння щільності й площі нейронів (на 16 % та 15,8 %) і гліоцитів (у середньому на 5 % та 5,5 %) відповідно відносно показників інтактних тварин (табл. 2 та 3). Крім того, було відзначено падіння транскрипційної активності нейроцитів і глії, що виражалось поступовим зниженням кон-

Таблиця 1

Вплив досліджуваних препаратів на експресію генів раннього реагування (*c-fos*) за щільністю Fos-позитивних нейронів СА-1 зони гіпокампа пренатально алкоголізованих щурів на 25 добу життя, $M \pm m$

Група тварин	Щільність Fos-позитивних нейронів, клітини/мм ²
Інтактні тварини	83,4±4,7
Контроль (ПА)	37,1±2,0
ПА+цереброкурин	86,5±4,7 ^{*#}
ПА+тіоцетам	77,1±3,2 ^{*#}
ПА+пірацетам	41,3±3,4

Примітка. Тут і в табл. 2, 3: * $P \leq 0,05$ відносно контролю; # $P \leq 0,05$ відносно групи тварин, що отримували пірацетам.

Таблиця 2

Характеристика нейронів СА-1 зони гіпокампа головного мозку пренатально алкоголізованих щурів на 25 добу після народження, $M \pm m$

Група тварин	Щільність нейронів, клітини/мм ²	Площа тіл нейронів, мкм ²	Уміст РНК у нейронах, $E_{оп}$
Інтактні тварини	1 478 ± 37	63,11 ± 1,07	10,63 ± 0,31
Контроль (ПА)	1 241 ± 31	53,21 ± 1,40	8,03 ± 0,32
ПА+цереброкурин	1 402 ± 24 ^{*#}	63,11 ± 1,11 [*]	15,11 ± 0,24 ^{*#}
ПА+тіоцетам	1 398 ± 17 ^{*#}	61,23 ± 1,43 [*]	12,83 ± 0,11 ^{*#}
ПА+пірацетам	1 258 ± 38	56,46 ± 0,70	8,17 ± 0,14

Таблиця 3

Характеристика гліальних клітин СА-1 зони гіпокампа головного мозку пренатально алкоголізованих щурів на 25 добу після народження, $M \pm m$

Група тварин	Щільність гліальних клітин, клітини/мм ²	Площа тіл гліальних клітин, мкм ²	Уміст РНК у гліальних клітинах, $E_{оп}$
Інтактні тварини	441 ± 15	21,80 ± 0,11	3,86 ± 0,02
Контроль (ПА)	420 ± 11	23,30 ± 0,15	2,44 ± 0,02
ПА+цереброкурин	437 ± 17 [*]	23,70 ± 0,12 [*]	4,12 ± 0,03 [*]
ПА+тіоцетам	440 ± 15 [*]	24,10 ± 0,10 [*]	3,92 ± 0,02 [*]
ПА+пірацетам	421 ± 21	21,70 ± 0,20	2,61 ± 0,01 [*]

центрації РНК в ядрі. Морфометричне вивчення головного мозку щурів, що пренатально отримували етиловий алкоголь, показало в них достовірне зниження щільності нейронів СА-1 зони гіпокампа порівняно зі здоровими новонародженими на 25 добу життя. При цьому відмічалось зменшення площі тіл нейронів зі зниженням у них умісту РНК порівняно зі здоровими новонародженими. ПА суттєво не впливала на щільність гліальних клітин у гіпокампі щурят, але викликала достовірне збільшення площі гліоцитів зі зменшенням у них умісту РНК.

Призначення новонародженим, які перенесли ПА, тіоцетаму та церебро-

куруну протягом 25 діб мало рівнозначний за силою дії нейропротективний вплив, який виражався в збільшенні щільності та площі нейронів і збільшенні вмісту РНК (підвищення морфофункціональної активності нейронів). Нейропротективна дія тіоцетаму проявлялася й відносно нейроглії за рахунок підвищення, практично до рівня здорових тварин, щільності гліальних клітин та їх морфофункціональної активності (збільшення РНК). Ці дані узгоджуються з результатами гістоімунохімічних досліджень, якими показано позитивний вплив тіоцетаму на транскрипційну активність нейронів гіпокампа новонароджених щурів. Уведення цере-

брокуруину також мало позитивну дію відносно нейроглії.

Уведення за такою самою схемою пірацетаму не справляло подібного достовірного нейропротективного ефекту.

Стосовно тіоцетаму можна припустити, що тіолові групи препарату конкурують з SH-групами цистеїназалежної ділянки АТФ/АДФ-антипортеру, білка внутрішньої мембрани мітохондрій за активні форми кисню та пероксинітри, утворюючи з останніми стійкі комплекси. Цей процес має захисний вплив на мембрани нейронів і тим самим гальмує нейродеструкцію [10].

Цереброкурин продемонстрував здатність нормалізувати експресію гена *c-fos*. Даний ефект препарату є одним з головних у його церебропротективній дії – за рахунок посилення експресії гена *c-fos* змінювався морфологічний тип загибелі нейронів, включаючись на більш «м'який» апоптотичний шлях. Апоптотична загибель нейронів є оптимальним, упорядкованим процесом припинення життєдіяльності деструктивно змінених нейронів, при якому стабілізуються клітинні мембрани, уміст клітин утилізується шляхом утворення апоптотичних

тілець і їхнього фагоцитозу, без розвитку запальної реакції. Слід зазначити, що введення цереброкуруину не призводило до гіперекспресії генів, а лише до нормалізації [11].

Висновки

1. Проведеними експериментальними дослідженнями встановлено, що за умов ПА відбувалася значна загибель нейронів та гліоцитів у СА-1 зоні гіпокампа щурів на тлі пригнічення транскрипційної та трансляційної активності, що проявилось в порушенні експресії генів раннього реагування, зменшенні вмісту РНК у нейронах та глії.
2. Призначення щурам, які перенесли ПА, тіоцетаму та цереброкуруину протягом 25 діб мало рівнонаправлену нейропротективну дію при лідерстві цереброкуруину, що виражалось в зменшенні нейрональної загибелі, підвищенні трофічної функції глії та активації експресії субтотального фактора транскрипції раннього реагування *c-fos*.
3. Уведення за такою самою схемою пірацетаму не призводило до подібного нейропротективного ефекту.

1. Ethanol preference in maudsley and RXNRA recombinant inbred strains of rat / Adams N., Oldham T. D., Briscoe J. T. [et al.] // *Alcohol* – 2001. – V. 24, № 1. – P. 25–34.
2. Барашнев Ю. И. Перинатальная неврология / Ю. И. Барашнев. – М.: Триада-Х, 2001. – 638 с.
3. Бурдули Г. М. Репродуктивные потери (причины, факторы риска, пути профилактики: Автореф. дис. докт. мед. наук / Г. М. Бурдули. – М., 1998. – 47 с.
4. Медведев М. В. Задержка внутриутробного развития плода / М. В. Медведев, Е. В. Юдина. – М., 1998. – 208 с.
5. Беленичев И. Ф. Фармакологічна модуляція сигналіну апоптозу нейронів СА1-зони гіпокампа щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією / І. Ф. Беленичев, А. В. Абрамов, О. П. Соколик // *Фармакологія та лікарська токсикологія*. – 2011. – № 6. – С. 15–21.
6. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения: пер. с англ. / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. П. Хьюстон. – М.: Высшая школа, 1991. – 399 с.
7. Пирс Э. Гистохимия / Э. Пирс. – М.: Мир, 1962. – 962 с.
8. Ischemia-induced modifications in hippocampal CA1 stratum radiatum excitatory synapses / Kovalenko T., Osadchenko I., Nikonenko A. [et al.] // *Hippocampus*. – 2006. – V. 16, № 10. – P. 814–25.
9. Aird F. Ontogeny of hypothalamic corticotropin-releasing factor and anterior pituitary proopiomelanocortin expression in male and female offspring of alcohol exposed and adrenalectomized dams / Aird F., Halasz I., Redei E. // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* – 1997. – V. 21, № 9. – P. 1560–1566.
10. Chronic ethanol consumption and withdrawal affects mitochondrial benzodiazepine receptors in rat brain and peripheral organs / Bidder M., Weizman R., Fares F. [et al.] // *Biochem. Pharmacol.* – 1992. – V. 44, № 7. – P. 1335–1339.
11. Guerri C. Alcohol, astroglia, and brain development / Guerri C., Renaupiqueras J. // *Mol. Neurobiol.* – 1997. – V. 15, № 1. – P. 65–81.

А. Н. Егоров, И. Ф. Беленичев, Е. П. Соколик, А. В. Абрамов
Влияние цереброкурина и тиоцетама на ранний ответ генома
и морфофункциональное состояние нейронов СА-1 зоны
гиппокампа крыс в условиях пренатальной алкоголизации

Проведенными экспериментальными исследованиями установлено, что пренатальная алкоголизация крыс приводила к изменению ответа генома, проявляющегося нарушением экспрессии генов раннего реагирования *c-fos*, уменьшением плотности и площади нейронов и глиальных клеток СА-1 зоны гиппокампа, а также уменьшением содержания в них РНК. 25-дневное курсовое введение новорожденным, которые перенесли пренатальную алкоголизацию, тиоцетама и цереброкурина оказывало равнонаправленный нейропротективный эффект, который выражался в увеличении плотности и площади нейронов в СА-1 зоне гиппокампа, а также содержания в них РНК. Введение по такой же схеме пирacetama не оказало подобного нейропротективного эффекта.

Ключевые слова: пренатальная алкоголизация, тиоцетам, цереброкурин, ген раннего реагирования *c-fos*, СА-1 зона гиппокампа

A. N. Egorov, I. F. Belenichev, E. P. Sokolik, A. V. Abramov
The impact of cerebrocurin and tiocetam on the early response of the genome
and morphofunctional state of neurons from CA-1 zone of the hippocampus
of rats under prenatal alcoholization

There were established that prenatal alcoholization of rats caused significant changes in the response of the genome, which is manifested in the violation of the genes early response *c-fos* expression, decrease of density and area of neurons and glial cells from the CA-1 zone of the hippocampus and also their RNA contents. 25-days course administration of tiocetam to the newborn rats who were undergone to prenatal alcoholization caused the same neuroprotective effect (increase of the density and the square of neurons as well as RNA content) as cerebrocurin did. Introduction of piracetam according to the same scheme did not show such a reliable neuroprotective effect.

Key words: prenatal alcoholization, tiocetam, cerebrocurin, gene of early response *c-fos*, CA-1 zone of the hippocampus

Надійшла: 27. 06.2012 р.

Контактна особа: Беленічев Ігор Федорович, професор, докт. біол. наук, завідувач кафедри фармакології і лікарської рецептури, Запорізький державний медичний університет, просп. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, 69035. Тел: (612) 24-64-69. E-mail: olybelenicheva@mail.ru

Я. О. Бутко, С. М. Дроговоз, А. М. Ляпунова

Вивчення протизапальної дії крему з мометазоном

*Національний фармацевтичний університет,
Державний науково-дослідний центр лікарських засобів, м. Харків*

Ключові слова: дерматити, глюкокортикостероїди, запалення, крем, кераміди

Місцева терапія – один із найважливіших підходів до лікування дерматитів з метою пригнічення запалення та пов'язаних з ним симптомів у гострій (гіперемія, гіпертермія, набряк, свербіж та ін.) та хронічній (інфільтрація, ліхеніфікація, інфікування та ін.) фазах захворювання [2, 10, 11]. Місцеву терапію застосовують також за необхідності усунення надлишкової сухості шкіри; профілактики та усунення вторинного інфікування пошкодженої шкіри; відновлення пошкодженого епітелію та бар'єрних функцій шкіри [6].

У патогенезі запальних захворювань шкіри важливе значення має порушення шкірного бар'єра, тому що в пошкодженій шкірі порушується продукція та секреція ліпідів епідермальними клітинами, які необхідні для формування захисного водно-ліпідного шару на поверхні шкіри [9, 13]. Зменшення вмісту ліпідів (особливо керамідів) у шкірі призводить до дефекту шкірного бар'єра з розвитком сухості, утворенням щілин, збільшенням гіперкератозу шкіри, що сприяє потраплянню з навколишнього середовища токсинів, алергенів, мікроорганізмів до шкіри, які ініціюють запалення [5, 7, 12]. Тому при місцевому лікуванні дуже важливо приділяти увагу бар'єрній функції шкіри та використовувати засоби для її відновлення.

Одним зі шляхів підвищення ефективності лікування дерматитів є створення комбінованих лікарських засобів із гідрокортикостероїдами (ГКС). Для визначення перспективи розроб-

ки вітчизняних ГКС для нашкірного використання ми проаналізували асортимент фармацевтичного ринку України [3]. Результати аналізу показали, що на ринку є широкий асортимент місцевих лікарських форм ГКС, проте доля вітчизняних препаратів дуже мала (21 %); препарати переважно монокомпонентні (56,2 %), що не відповідає сучасним вимогам до терапії; більшість препаратів представлені у формі мазей (57 %), які створені на гідрофобних основах та не рекомендовані для використання при гострих запальних станах шкіри. Отже, даний аналіз показав, що перспективним є розширення асортименту вітчизняних препаратів (особливо у вигляді кремів, лосьйонів, гелів) для лікування дерматитів.

Із цією метою був розроблений крем, який відповідає вимогам до місцевої терапії, а саме, сприяє зниженню запальних процесів у шкірі (мометазону фураат – сильний ГКС із протисвербіжною, протизапальною, судинозвужуючою, антипроліферативною та з мінімальною побічною дією), усуненню надлишкової сухості шкіри, відновленню пошкодженого епітелію; покращанню стану шкіри (вологість, пружність, еластичність, гладкість та ін.) та нормалізації бар'єрної функції шкіри (кераміди – на 4/5 аналоги природних керамідів шкіри людини). Слід зазначити, що суха шкіра потребує постійного догляду, й використання емульсії типу «масло у воді» сприяє збільшенню кількості ліпідів та рівня вологості в шкірі. Використання даного типу емульсії захищає сухі ділянки шкіри від стягування, знижує лущення та попереджує її пошкодження. Із цією метою була обрана основа для крему типу «масло у воді».

Мета дослідження – вивчення впливу основи крему типу «масло у воді» та керамідів на розвиток запального процесу та на протизапальну дію мометазону фууроату.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження стали креми, технологія яких розроблена в Державному науково-дослідному центрі лікарських засобів (ДНЦЛЗ) під керівництвом професора М. О. Ляпунова (табл. 1).

Вивчення ефективності досліджуваних кремів проводили за протизапальною дією з використанням експериментальних моделей запалення: декстранового та аеросильного набряків у щурів.

Досліди проводили на 30 щурах масою 180–220 г. Набряк викликали субплантарним уведенням 0,08 мл 3 % розчину декстрану на тварину [8]. Тварини були розподілені на 5 груп по 6 щурів у кожній: перша група – контрольна патологія; друга – тварини, яких лікували кремом № 1, третя – тварини, яких лікували кремом № 2, четверта – тварини, яких лікували кремом № 3, п'ята – тварини, яких лікували кремом № 4. Креми наносили на лапу тварин за 1 год до ін'єкції декстрану. Про розвиток набряку судили за збільшенням об'єму лапи в динаміці через 1, 3 і 5 год після введення декстрану. Об'єм набряку вимірювали за допомогою механічного онкометра А. С. Захаревського. Величину набряку обчислювали за різницею між вихідним і кінцевим розміром лапи в умовних одиницях. Ефективність кремів оцінювали за величиною зменшення декстранового набряку лапи в тварин порівняно з групою контролю. Протизапальний ефект досліджуваних препаратів виражали в %, розрахунок проводили за формулою 1:

$$\text{ПЕ} = 100 \% - 100 \% \cdot [P_{\text{д}}/P_{\text{к}}], \quad (1)$$

де $P_{\text{д}}$ – середній приріст об'єму набряклої стопи в досліді, у. о.;

$P_{\text{к}}$ – середній приріст об'єму набряклої стопи в контролі, у. о.; ПЕ – протизапальний ефект, %.

На моделі аеросильного набряку було використано 30 білих безпородних щурів масою 180–220 г. Набряк викликали субплантарним уведенням 0,08 мл 2,5 % розчину аеросилу на тварину [8]. Щури були розподілені на 5 груп по 6 щурів у кожній: перша група – контрольна патологія; друга – тварини, яких лікували кремом № 1, третя – тварини, яких лікували кремом № 2, четверта – тварини, яких лікували кремом № 3, п'ята – тварини, яких лікували кремом № 4. Креми наносили на лапу тварин за 1 год до ін'єкції аеросилу. Про розвиток набряку судили за збільшенням об'єму лапи в динаміці через 1, 5 і 24 год після введення аеросилу. Об'єм набряку, ефективність кремів та протизапальну дію визначали як у вищенаведеному методі за формулою 1.

Експериментальний матеріал оброблений методами варіативної статистики за допомогою коефіцієнта Ст'юдента (t) ($P \leq 0,05$) [1].

Результати та їх обговорення. Результати проведеного дослідження протизапальної дії досліджуваних кремів на моделі декстранового та аеросильного набряків у щурів наведено в таблицях 2, 3 і на рисунках 1, 2.

Результати досліджень, наведені в таблиці 2 і на рисунку 1, показали, що за декстранового запалення у тварин, яких не лікували, спостерігається швидкий розвиток запалення стопи. Максимальний приріст об'єму запаленої стопи спостерігався через 1 год після введення декстрану та склав у середньому 31,2 у. о., що в 1,4 разу більше вихідного об'єму стопи. У подальшому набряк стопи повільно зменшувався.

На підставі проведених досліджень встановлено, що всі зразки кремів

Таблиця 1

Склад зразків досліджуваних кремів

Серія кремів	Склад
Крем № 1	Емульсійна основа І типу (масло у воді)
Крем № 2	0,5 % кераміди, емульсійна основа І типу
Крем № 3	0,1 % мометазону фууроат, емульсійна основа І типу
Крем № 4	0,1 % мометазону фууроат, 0,5% кераміди, емульсійна основа І типу

**Протизапальний ефект кремів на моделі
декстранового набряку в щурів (n = 6)**

Час спостереження	$\Delta Vx+Sx$, ПЕ, %		
	1 год	3 год	5 год
Контрольна патологія	31,2±2,9	25,7±1,9	22,7±1,6
Крем № 1 (Основа)	28,0±2,3 10,3 %	24,3±2,4 5,6 %	19,8±2,1 12,8 %
Крем № 2 (Кераміди)	30,8±2,3 1,3 %	25,0±1,6 2,7 %	18,8±1,5 17,2 %
Крем № 3 (Мометазон)	21,2±2,1* 32,1 %	18,3±1,5* 28,8 %	13,2±1,3* 41,9 %
Крем № 4 (Мометазон + кераміди)	20,3±2,1* 34,9 %	17,7±1,6* 31,1 %	12,7±1,3* 44,1 %

Примітка. Тут і в табл. 3 :

* Відхилення достовірно відносно контрольної патології, $P \leq 0,05$;

ΔV – різниця в об'ємі набряклої лапи та її вихідним розміром, у. о.;

ПЕ – протизапальний ефект, %;

n – кількість тварин у експериментальних групах.

Таблиця 3

**Протизапальний ефект досліджуваних кремів
на моделі аеросильного набряку в щурів (n = 6)**

Час спостереження	$\Delta Vx+Sx$, ПЕ, %		
	1 год	5 год	24 год
Контрольна патологія	11,5±1,6	28,5±1,1	22,0±1,9
Крем № 1 (Основа)	9,5±0,8 17,4 %	25,7±2,7 9,8 %	19,2±1,3 12,7 %
Крем № 2 (Кераміди)	10,8±1,8 6,1 %	27,8±1,3 2,3 %	18,3±0,8 16,8 %
Крем № 3 (Мометазон)	5,8±1,8* 49,6 %	19,3±2,9* 32,2 %	9,8±1,8* 55,5 %
Крем № 4 (Мометазон + кераміди)	6,2±1,6* 46,1 %	19,8±3,2* 30,4 %	10,8±1,1* 50,9 %

сприяють зменшенню об'єму набряклої лапи. Однак достовірно виражену протизапальну дію виявили креми № 3 і № 4, що містять мометазон. Виразність їхнього ефекту через 1 год склала відповідно 32,1 % та 34,9 %, через 3 год – 28,8 % та 31,1 %, через 5 год – 41,9 % та 44,1 %. Тенденцію до власної протизапальної активності проявили крем № 1 (основа) – 9,6 % та крем № 2 (кераміди) – 7,1 %.

Сумарний протизапальний ефект кремів, розрахований як площа під кривою «час – ПЕ», на моделі декстранового набряку становив: крем № 4 – 141,2, крем № 3 – 131,6 (рис. 1). Отже, різниця між сумарними ефектами кремів

«Мометазон + кераміди» та «Мометазон» була в межах 7,3 %, що свідчить про відсутність впливу керамідів на протизапальний ефект мометазону фууроату за декстранового запалення лапи в щурів.

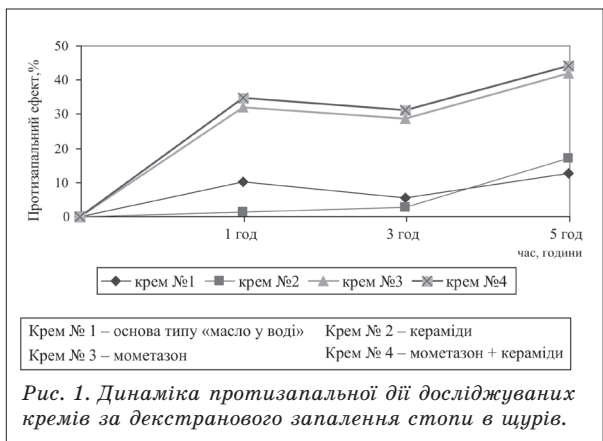


Рис. 1. Динаміка протизапальної дії досліджуваних кремів за декстранового запалення стопи в щурів.

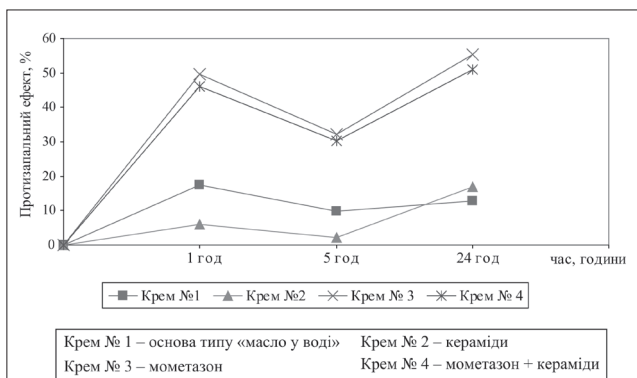


Рис. 2. Динаміка протизапальної дії досліджуваних кремів за аеросильного запалення лапи в щурів.

На моделі аеросильного набряку стопи в щурів, яких не лікували, реєструється повільний розвиток запальної реакції протягом 24 год після введення флоггену. Через 1 год приріст набряку в щурів, яких не лікували, склав у середньому 11,5 у. о. (у 1,2 разу більше вихідних даних), через 5 год – 28,5 у. о. (у 1,4 разу більше вихідних даних), через 24 год – 22,0 у. о. (у 1,3 разу більше вихідних даних) (табл. 3).

Вивчення протизапальних властивостей кремів різного складу показало, що найвищу протизапальну дію проявляють композиції, що містять мометазон (креми № 3 і № 4). Указані композиції достовірно зменшували набряк стопи щурів відносно контролю через 1 год після індукції запалення, відповідно на 49,6 % і 46,1 %, через 3 год – 32,2 % і 30,4 %, через 24 год – 55,5 % і 50,9 % (рис. 2). Креми № 1 (основа) і № 2 (кераміди) проявляли тенденцію до зниження цього показника в середньому лише на 13,3 % і 8,4 % відповідно.

Сумарний протизапальний ефект кремів, розрахований як площа під кривою «час – ПЕ» на моделі аеросильного набряку, становив: крем № 3 – 996,8, крем № 4 – 935,4 (рис. 2). Отже, різниця між сумарними ефектами кремів «Мометазон+кераміди» та «Мометазон» була в межах 6,6 %, що свідчить про відсутність впливу керамідів на протизапальний ефект мометазону фууроату за аеросильного запалення лапи в щурів.

Таким чином, проведене дослідження протизапальної дії експериментальних кремів на моделях декстранового та аеросильного запалення дозволило визначити, що основа крему типу «масло у воді», кераміди та мометазон пригнічують запальну реакцію. Вірогідну протизапальну активність виявляють креми № 3 та № 4, які містять глюкокортикостероїд мометазону фууроату. Також відмічено, що введення керамідів до складу крему не впливає на виразність протизапального ефекту глюкокортикостероїду.

Висновки

Проведені дослідження на моделях декстранового та аеросильного набряків показали:

- 1) основа крему типу «масло у воді» та крем № 2, який містить 0,5 % керамідів, не викликають достовірного зниження набряку, що свідчить про відсутність протизапальної дії, але не перешкоджають протизапальній дії мометазону фууроату;
- 2) крем з 0,1 % мометазону фууроату та основою типу «масло у воді» має виражену протизапальну дію;
- 3) одночасне використання 0,1 % мометазону та 0,5 % керамідів на кремівній основі типу «масло у воді» не впливає на ефективність та динаміку протизапальної дії мометазону фууроату. Встановлено, що більш виразну протизапальну активність креми виявили на моделі аеросильного набряку (патогенез пов'язаний з інтенсивним утворенням простагландинів), ніж на моделі декстранового (вихід ранніх медіаторів – гістаміну та серотоніну);
- 4) крем з мометазоном на основі І типу з керамідами є перспективним для подальшого фармакологічного дослідження та з'ясування можливості його використання в лікуванні дерматитів.

1. Глянц С. Медико-биологическая статистика / С. Глянц; пер. с англ. – М.: Практика, 1999. – 460 с.
2. Данилов С. И. Топические глюкокортикостероиды нового поколения в наружной терапии дерматозов / С. И. Данилов, В. А. Пирятинская // Русский медицинский журнал. – 2000. – № 6. – С. 257–260.
3. Компендиум 2009 – лекарственные препараты / Под ред. В. И. Коваленко, А. П. Викторова. – К.: Морион, 2009. – 2270 с.
4. Баткаев Э. А. Принципы терапии наиболее распространенных хронических дерматозов. Учебное пособие / Э. А. Баткаев, Ю. А. Галлямова: Российская медицинская академия последипломного образования. – М., 2002. – 36 с.
5. Белоусова Т. А. Современная стратегия наружной терапии воспалительных дерматозов / Т. А. Белоусова, М. В. Горячкина, В. А. Филиппова // Дерматология. – 2009. – № 3. – С. 23–27.
6. Фицпатрик Т. Дерматология: атлас-справочник / Т. Фицпатрик; пер. с англ. – М.: Практика, Мак-Грау-Хилл, 1999. – 1044 с.
7. Шварц Г. Я. Методические указания по изучению новых нестероидных противовоспалительных препаратов / Шварц Г. Я., Сюбаев Р. Д. // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М.: Медицина, 2005. – С. 695–709.
8. Altemeyr P. Wound Healing and skin physiology / P. Altemeyr. – Berlin: Springer, 1995. – 717 p.
9. Evans D. Topical negative pressure for treating chronic wounds: a systematic review / D. Evans, L. Land // Br. J. Plast. Surg. – 2001. – V. 54, № 8. – P. 238–242.
10. Paul C. Ascomycins: Promising agent for the treatment of inflammatory skin diseases / Paul C., Graber M., Stuetz A. // Expert. Opin. Invest. Drugs. – 2000. – V. 69, № 9. – P. 69–77.
11. Radin N. Killing tumours by ceramide-induced apoptosis: a critique of available drugs / N. Radin // Biochem J. – 2003. – V. 371, № 2. – P. 243–56.
12. Short-term glucocorticoid treatment compromises both permeability barrier homeostasis and stratum corneum integrity: inhibition of epidermal lipid synthesis accounts for functional abnormalities / Kao J. S., Fluhr J. W., Man M. Q. [et al.] // J. Invest. Dermatol. – 2003. – V. 120, № 8. – P. 456–464.

Я. А. Бутко, С. М. Дроговоз, А. Н. Ляпунова

Изучение противовоспалительного действия крема с мометазоном

На моделях острого асептического отека установлено, что крем с 0,1 % мометазона фууроатом и 0,5 % керамидами на основе I типа, обладает выраженным противовоспалительным действием. Одновременное применение 0,1 % мометазона и 0,5 % керамидов на кремовой основе типа «масло в воде» не влияет на эффективность и динамику противовоспалительного действия мометазона фууроата. Перспективным является дальнейшее изучение крема мометазон с керамидами на основе I типа с целью дальнейшего фармакологического исследования его эффективности при лечении воспалительных заболеваний кожи.

Ключевые слова: дерматиты, глюкокортикостероиды, воспаление, крем, керамиды

Y. A. Butko, S. M. Drogozov, A. N. Lyapunova

The study of anti-inflammatory effect of cream with mometasone

On models of acute aseptic edema it was founded that cream with 0.1 % mometasone furoate and ceramides 0.5 % on the basis of «oil in water», had a pronounced anti-inflammatory action. Use of cream with mometasone and ceramids on the basis of «oil in water» does not affect the efficiency and dynamics of anti-edema effect of the mometasone furoate. The further pharmacological trials as to the effects of cream with mometasone and ceramides on the basis of «oil in water» for treatment of inflammatory diseases of the skin are perspective.

Keywords: dermatitis, glucocorticosteroids, inflammation, cream, ceramides

Надійшла: 16.07.2012 р.

Контактна особа: Бутко Ярослава Олександрівна, канд. фарм. наук, доцент, кафедра фармакології, Національний фармацевтичний університет, вул. Мельникова, буд. 12, м. Харків, 61002. Тел.: +38 (057) 706-30-69. E-mail: yaroslavabutko79@mail.ru

К. І. Клименко, Т. В. Новохацька, І. В. Кізуб, А. І. Соловійов

Вплив Ліпофлавоу на сумарний вихідний K^+ -струм у гладеньком'язових клітинах аорти щурів із цукровим діабетом

ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

Ключові слова: судинні ускладнення цукрового діабету, гладеньком'язеві клітини, $ВК_{Ca}$ канали, Ліпофлавоу

Цукровий діабет внаслідок високої розповсюдженості, ранньої інвалідизації населення та зменшення тривалості життя хворих є однією з важливих медико-соціальних проблем. Серед ускладнень цукрового діабету, однією з основних причин смертності є порушення з боку серцево-судинної системи, адже діабет призводить до змін у структурі та функціонуванні кровоносних судин [1].

Одним із важливих факторів, що контролюють судинний тонус і зазнають значного негативного впливу за умов цукрового діабету, є активність іонних каналів плазматичної мембрани гладеньком'язових клітин (ГМК) та ендотеліальних клітин (ЕК) судинної стінки, зокрема K^+ -каналів [2]. Відомо, що основний внесок у процес гіперполяризації плазматичної мембрани ГМК належить Ca^{2+} -активованим K^+ -каналам великої провідності ($ВК_{Ca}$) [3], внаслідок чого відбувається вихід іонів K^+ , який протидіє дополяризації, входу Ca^{2+} та подальшій констрикції ГМК судин.

$ВК_{Ca}$ можуть бути прямо або опосередковано фосфорильовані різноманітними кіназами, зокрема протеїнкіназою А (ПКА) та протеїнкіназою G-I (ПКГ-I), які призводять до активації цих каналів [2, 4], та протеїнкіназою С (ПКС), що призводить до їхнього пригнічення [5, 6]. До того ж, фосфорильовання цими протеїнкіназами впливає на зміни чутливості $ВК_{Ca}$ до Ca^{2+} та мембранного потенціалу [7]. Окрім того, є дані про те, що фосфорильовання з боку ПКС обумовлює чутливість

каналу до стимулюючих впливів на нього як ПКА, так і ПКГ-I [2]. Також $ВК_{Ca}$ є чутливими до реактивних форм кисню (РФК) [8, 9].

Численні дослідження розвитку серцево-судинних ускладнень цукрового діабету вказують на значну роль зростання активності ПКС та розвиток оксидативного стресу в цих процесах [1, 10]. Слід зазначити, що не останню роль у надпродукції РФК за умов діабету відіграє ПКС-залежна активація НАДФ-оксидаз [11, 12].

З іншого боку, дослідження останніх років показали численні ефекти біофлавоноїдів на серцево-судинну систему, серед яких мембрано-стабілізуючий, протизапальний, холестерол-знижуючий, антигіпертензивний та антиоксидантний ефект [13]. Одним із найвивченіших представників біофлавоноїдів є кверцетин, що демонструє широкий спектр позитивних впливів на серцево-судинну систему, зокрема при ускладненнях цукрового діабету [14]. Слід зазначити, що кверцетин справляє пригнічуючий вплив на активність ПКС [15], антиканцерогенний та антиоксидантний ефект, впливає на проникність капілярів, інгібує цитохром P450 та агрегацію тромбоцитів [16, 17]. Натепер для покращання фармакодинамічних та фармакокінетичних властивостей антиоксидантів широко використовуються їхні ліпосомальні форми. Перевагами ліпосом є сприяння внутрішньоклітинній доставці препарату, оскільки використання кверцетину обмежується його низькою розчинністю у воді та швидким рівнем метаболізму [18], а також збільшення тривалості дії препарату. Широко відомо, що використання ліпосомальної форми кверцетину знижує його токсичність

[33], окрім того, незаповнені ліпосоми самі по собі також справляють позитивний вплив на функціонування судинної стінки після іонізуючого опромінення [19, 20].

Мета дослідження – вивчення впливу Ліпофлаону (кверцетин-вмісних фосфатидилхолінових ліпосом) на сумарний вихідний K^+ -струм у ГМК аорти щурів із цукровим діабетом.

Матеріали та методи. Індукція діабету. Дослідження проводили на самцях щурів лінії Wistar масою 180–200 г. Діабет був індукований одноразовою внутрішньочеревинною ін'єкцією стрептозоточину (STZ) у концентрації 60–65 мг/кг. Визначення експериментального діабету проводили за наявністю гіперглікемії. Концентрацію глюкози в плазмі крові вимірювали через 1 міс після ін'єкції STZ і в день експерименту у тварин усіх досліджуваних груп. STZ розчиняли в цитратному буферному розчині, який містив 0,9 % NaCl та 10 мМ цитрату, рН = 4,6. Концентрацію глюкози визначали, застосовуючи глюкозомер Bionime (BIONIME Righ-test GM 300, Швейцарія).

Як джерело кверцетин-вмісних фосфатидилхолінових ліпосом застосовували препарат Ліпофлаон («Біолек», Харків) наступного складу: лецитин-стандарт 550 мг, кверцетин 15 мг, лактоза 320 мг.

Досліди проводили на 4-х групах тварин: контрольні, тварини із STZ-індукованим діабетом, тварини із діабетом після введення Ліпофлаону в дозі 0,4 мг/кг у перерахунку на активний компонент – антиоксидант кверцетин (або 15 мг/кг у перерахунку на лецитин-стандарт) і 1,4 мг/кг або 50 мг/кг у перерахунку на лецитин-стандарт. Ліпофлаон вводили внутрішньовенно дворазово на 45 і 47 день після ін'єкції STZ, оскільки із прогресом діабету (на 2-й та 3-й місяць розвитку захворювання) значно знижується активність потенціал-залежних Ca^{2+} -каналів L-типу і відповідно Ca^{2+} -струм, що сприяє активації BK_{Ca} [30]. Тварин брали у дослід на 10–13 день після першого введення Ліпофлаону.

Виділення гладеньком'язових клітин аорти щурів. Досліди проводили

на ГМК аорти щурів. Після попередньої анестезії (кетамін 45 мг/кг, ксилазин 10 мг/кг) тварини були евтоназовані шляхом декапітації із наступним знекровленням.

ГМК виділяли з торакальної аорти, яку попередньо очищали від сполучної тканини і витримували протягом 5–10 хв у безкальцієвому розчині Кребса, наступного складу (у ммоль/л): 140 NaCl, 5,9 KCl, 2,5 $MgCl_2$, 11,5 глюкози, 10 HEPES (рН 7,4). Ділянку аорти довжиною 1,0–1,5 см розрізали на сегменти розміром 2×2 мм, інкубували протягом 33 хв при температурі 37 °C у номінально безкальцієвому розчині Кребса з додаванням колагенази типу IA (2 мг/мл), пронази Е (0,5 мг/мл), бичачого сироваткового альбуміну (2 мг/мл). Потім сегменти тканини відмивали від ферментів у безкальцієвому розчині та виділяли клітини шляхом багаторазового піпетування. ГМК, які зберігали в холодильнику при температурі +5 °C, залишалися в функціональному стані протягом 4 год.

Реєстрація вихідного струму. Вихідний трансмембранний струм вимірювали за допомогою методу фіксації потенціалу (patch-clamp) у модифікації «whole-cell perforated patch» із використанням антибіотика амфотерицину В. Реєстрацію іонних струмів проводили за допомогою підсилювача Axopatch 200B (Axon Instruments Inc., USA), аналого-цифрового перетворювача (АЦП) Digidata 1200B (Axon Instruments Inc., USA) та програмного забезпечення pClamp Software (V.6.02, Axon Instruments Inc., USA). Сигнал з виходу підсилювача надходив крізь фільтр низьких частот (частота зрізу 2 кГц) на АЦП і оцифровувався з частотою дискретизації 10 кГц. Типові значення мембранного опору клітин у експериментах складали 2–5 ГОм. Іонні струми були нормалізовані до пА/пФ. Індиферентний Ag-AgCl-електрод було розміщено безпосередньо в камері для клітин місткістю 200 мкл.

Мікропіпетки виготовляли з боросилікатного скла (Clark Electromedical Instruments, Pangbourne Reading, England) та заповнювали розчином наступного складу (у ммоль/л): 140 KCl;

10 NaCl; 1,2 MgCl₂; 10 HEPES; 2,5 CaCl₂; 11,5 D-глюкоза (рН 7,3); 250 мкг/мл амфотерицин В. Опір піпеток становив 2,5–5 МОм. Зовнішній розчин містив (у ммоль/л): 140 NaCl; 5,9 KCl; 2,5 CaCl₂; 1,2 MgCl₂; 10 HEPES; 11,5 D-глюкоза (рН 7,4).

Статистичні розрахунки. Дані наведено у вигляді середнього значення (М) ± стандартна похибка середнього значення (m) для відповідної кількості клітин (n). Вірогідність різниці середніх значень досліджуваних показників оцінювали за t-критерієм Ст'юдента. Зміни вважали статистично вірогідними при $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення. На день експерименту рівень глюкози в крові діабетичних тварин становив $30,7 \pm 0,9$ ммоль/л ($n = 11$; $P < 0,05$) і був достовірно вищим ніж у контрольній групі ($7,1 \pm 1,4$ ммоль/л, $n = 6$). У першій серії експериментів було досліджено сумарний вихідний K⁺-струм у ГМК грудної аорти контрольних щурів та щурів із STZ-індукованим діабетом. Сумарний вихідний K⁺-струм реєстрували у відповідь на ступінчасту деполяризацію плазматичної мембрани міоцитів від -100 до 70 мВ через кожні 300 мс за підтримуваного потенціалу -60 мВ.

Сумарний вихідний K⁺-струм в ГМК аорти контрольних тварин при максимальному рівні деполяризації мембрани 70 мВ складав $70,8 \pm 8,3$ пА/пФ ($n = 6$). У той самий час, його щільність у ГМК аорти тварин із STZ-індукованим діабетом була вірогідно нижчою, ніж у контролі і складала $22,1 \pm 1,6$ пА/пФ ($n = 8$, $P < 0,05$) (рисунок).

Ці дані узгоджуються із даними, які було отримано іншими дослідниками, де було показано пригнічення BK_{Ca}-струму в ГМК брижових артерій на моделі інсулінонезалежного діабету щурів: лінії Zucker із ожирінням [21], лінії Sprague-Dawley [22]; та на моделі STZ-індукованого діабету в ГМК коронарних артерій мишей та ГМК артеріол сітківки щурів [31, 32].

Таким чином, отримані нами дані вказують на те, що вихідний K⁺-струм у ГМК судин за умов STZ-індукованого

цукрового діабету є пригніченим. Це може бути одним із факторів, що призводять до зниження вазодилаторного потенціалу та розвитку гіпертонусу судинної стінки внаслідок цукрового діабету.

Зважаючи на антиоксидантні властивості кверцетину, а також його здатність до інгібування активності ПКС, для фармакологічного впливу на функціонування K⁺-каналів у нашому дослідженні було обрано препарат Ліпофлавон (кверцетин-вмісні фосфатидилхолінові ліпосоми).

Щільність K⁺-струму в ГМК аорти діабетичних щурів, яким вводили Ліпофлавон у дозі 0,4 мг/кг за кверцетином у перерахунку на лецитин-стандарт, становила $26 \pm 2,8$ пА/пФ ($n = 7$, $P < 0,05$) до контролю. Ці дані не демонструють значущих відмінностей від значень сумарного вихідного K⁺-струму в ізольованих ГМК аорти діабетичних тварин (рисунок).

Проте введення Ліпофлауону в дозі 1,4 мг/кг за кверцетином призвело до відновлення сумарного вихідного K⁺-струму ГМК аорти щурів із цукровим діабетом майже до контрольних значень, із щільністю струму $54,8 \pm 4,9$ пА/пФ ($n = 8$, $P > 0,05$) (рисунок).

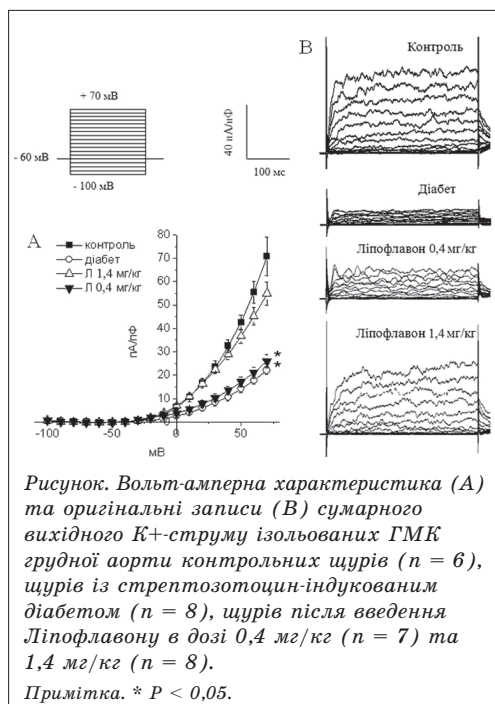


Рисунок. Вольт-амперна характеристика (А) та оригінальні записи (В) сумарного вихідного K⁺-струму ізольованих ГМК грудної аорти контрольних щурів ($n = 6$), щурів із стрептозототин-індукованим діабетом ($n = 8$), щурів після введення Ліпофлауону в дозі 0,4 мг/кг ($n = 7$) та 1,4 мг/кг ($n = 8$).

Примітка. * $P < 0,05$.

Дозозалежність ефектів кверцетину для моделі STZ-індукованого діабету щурів продемонстровано і в роботах інших дослідників. Так, при внутрішньочеревинному введенні в дозах 10 і 15 мг/кг маси тіла на день кверцетин викликав дозозалежне зниження рівня глюкози в щурів із діабетом [23]. Проте в нашому дослідженні зниження рівня глюкози крові не спостерігалось. Можливим поясненням цього факту є лише дворазове введення ліпосомального кверцетину, тоді як зниження рівня глюкози крові демонструють дослідження зі щоденним уведенням препарату [23].

На сьогоднішній день вже показано відновлюючий вплив ліпосомального кверцетину на пригнічений сумарний вихідний K^+ -струм у ГМК аорти опромінених щурів [20], окрім того, показано активуючий вплив кверцетину на функціонування $ВК_{Ca}$ у ГМК коронарних артерій щурів із артеріальною гіпертензією [24].

Кверцетин демонструє широкий спектр ефектів щодо функціонування серцево-судинної системи, зокрема, сприяє дилатації коронарних артерій *in vitro* [25], знижує артеріальний тиск, усуває ендотеліальну дисфункцію та оксидативний стрес на моделях гіпертензивних щурів [26]. Механізми, що опосередковують вазодилаторні ефекти флавоноїдів, остаточно не визначені, проте вони можуть залучати інгібування протеїнкіназ, таких як ПКС та кіназа легких ланцюгів міозину [25].

Цікаво, що відновлюючий вплив флавоноїдів на дилатацію аорти щурів значно не змінювався після деендотелізації [25]. До того ж, вазодилаторний ефект деяких флавоноїдів є чутливим до неспецифічних блокаторів K^+ -каналів (тетраетиламонію, харибдотоксину)

та блокатора $ВК_{Ca}$ іберотоксину, як це було показано в ГМК дрібних брижових артерій та аорті щурів [27]. Це може свідчити про те, що вплив кверцетину на вазодилатацію опосередкований функціонуванням K^+ -каналів судинних ГМК.

Щодо впливу кверцетину на різні фізіологічні показники за умов діабету, дані існуючих досліджень є досить різномірними. При пероральному введенні 50 та 80 мг/кг кверцетин викликав зниження рівня глюкози крові, а також призводив до нормалізації активності супероксиддисмутази та каталази в щурів із STZ-індукованим діабетом. Цікаво, що введення кверцетину в менших дозах було більш ефективним [28].

Окрім того, пероральне введення кверцетину в дозах 50 та 100 мг/кг протягом 10 днів призводило до нормалізації функціонування складових антиоксидантної системи супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази, як було продемонстровано на моделі алоксан-індукованого діабету в щурів [29]. Проте остаточно з'ясування впливу ліпосомального кверцетину на судинні ускладнення цукрового діабету потребує подальших досліджень.

Таким чином, отримані в результаті наших досліджень дані свідчать про те, що антиоксидант Ліпофлавіон у дозі 1,4 мг/кг (за кверцетином) відновлює пригнічений вихідний K^+ -струм у ГМК аорти щурів за умов експериментального діабету. Цей факт дозволяє розглядати Ліпофлавіон як потенційний засіб фармакологічної корекції судинної дисфункції, що пов'язана із цукровим діабетом, та відкриває нові перспективи для пошуку та створення нових фармакологічних препаратів для корекції порушень функціонування судинної стінки.

1. *Geraldes P.* Activation of protein kinase C isoforms and its impact on diabetic complications / P. Geraldes, G. L. King // *Circ. Res.* – 2010 – V. 106 – P. 1319–1331.
2. *Calcium-activated potassium channels and the regulation of vascular tone* / J. Ledoux, M. E. Werner, J. E. Brayden, [et al.] // *Physiology*. – 2006. – V. 21, № 1. – P. 69–78.
3. *Nelson M. T.* Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle / M. T. Nelson, J. M. Quayle // *Am. J. Physiol.* – 1995. – V. 268. – P. C799–C822.
4. *Alternative splicing switches potassium channel sensitivity to protein phosphorylation* / L. Tian, R. R. Duncan, M. S. Hammond, [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2001. – V. 276. – P. 7717–7720.
5. *Taguchi K.* Protein kinase C modulates Ca^{2+} -activated K^+ channels in cultured rat mesenteric artery smooth muscle cells / K. Taguchi, K. Kaneko, T. Kubo // *Biol. Pharm. Bull.* – 2000. – V. 23. – P. 1450–1454.

6. Schubert R. Protein kinase C reduces the K_{Ca} current of rat tail artery smooth muscle cells / R. Schubert, T. Noack, V. N. Serebryakov // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.*– 1999.– V. 276.– P. C648–C658.
7. Schubert R. Protein kinases: tuners of the BK_{Ca} channel in smooth muscle / R. Schubert, M. T. Nelson // *Trends. Pharmacol. Sci.*– 2001.– V. 22.– P. 505–512.
8. Molecular mechanisms mediating inhibition of human large conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channels by high glucose / T. Lu, T. He, Z. S. Katusic [et al.] // *Circ. Res.*– 2006.– V. 99, № 6.– P. 607–616.
9. Reactive oxygen species impair Slo1 BK channel function by altering cysteine-mediated calcium sensing / X. D. Tang, M. L. Garcia, S. H. Heinemann [et al.] // *Nat. Struct. Mol. Biol.*– 2004.– V. 11, № 2.– P. 171–178.
10. Oxidative stress and diabetic vascular complications / M. S. Seo, K. M. Whalin, D. G. Harrison [et al.] // *Current Diabetes Reports.*– 2004.– V. 4.– P. 247–252.
11. Lyle A. N. Modulation of vascular smooth muscle signaling by reactive oxygen species / A. N. Lyle, K. K. Griendling // *Physiology.*– 2006.– V. 21, № 4.– P. 269–280.
12. Protein kinase C-dependent increase in reactive oxygen species (ROS) production in vascular tissues of diabetes: role of vascular NAD(P)H oxidase / T. Inoguchi, T. Sonta, H. Tsubouchi [et al.] // *J. Am. Soc. Nephrol.*– 2003.– V. 14.– P. S227–S232.
13. Gross M. Flavonoids and cardiovascular disease / M. Gross // *Pharm. Biol.*– 2004.– V. 42.– P. 21–35.
14. Knekt P. Flavonoid intake and risk of chronic diseases / P. Knekt, J. Kumpulainen, R. Järvinen [et al.] // *Amer. J. Clin. Nutr.*– 2002.– V. 76.– P. 560–568.
15. Quercetin inhibits vascular superoxide production induced by endothelin-1: role of NADPH oxidase, uncoupled eNOS and PKC / M. Romero, R. Jiménez, M. Sánchez [et al.] // *J. Atherosclerosis* – 2009.– V. 202, № 1.– P. 58–67.
16. Gregory S. K. Quercetin / S. K. Gregory // *Alternative Medicine Review.*– 2011.– V. 16, № 2.– P. 172–194.
17. Beneficial effects of quercetin on obesity and diabetes / L. Aguirre, N. Arias, T. Macarulla [et al.] // *The Open Nutraceuticals.*– 2011.– V. 4.– P. 189–198.
18. Disposition and metabolism of [2- ^{14}C]quercetin-4'-glucoside in rats / B. A. Graf, W. Mullen, S. T. Caldwell [et al.] // *Drug Metabolism and Disposition.*– 2005.– V. 33, № 7.– P. 1036–1043.
19. Zacharias E. S. Liposomal antioxidants for protection against oxidant-induced damage / E. S. Zacharias // *J. Toxicol.*– 2011.– Article ID 152474.
20. Soloviev A. Quercetin-filled phosphatidylcholine liposomes restore abnormalities in rat thoracic aorta BK_{Ca} channel function following ionizing irradiation / A. Soloviev, S. Tishkin, S. Kyrychenko // *Acta Physiologica Sinica* – 2009.– V. 63, № 3.– P. 201–210.
21. Burnham M. P. B. Reduced Ca^{2+} -dependent activation of large-conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channels from arteries of Type 2 diabetic Zucker diabetic fatty rats / M. P. Burnham, I. T. Johnson, A. H. Weston // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.*– 2006.– V. 290.– P. H1520–H1527.
22. Potassium (BK_{Ca}) currents are reduced in microvascular smooth muscle cells from insulin-resistant rats / C. Dimitropoulou, G. Han, A. W. Miller [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.*– 2002.– V. 282.– P. H908–H917.
23. Vessal M. Antidiabetic effects of quercetin in streptozocin-induced diabetic rats / Vessal M., Hemmati M., Vasei M. // *Comp. Biochem. Physiol. C. Comp. Pharmacol. Toxicol.*– 2003.– V. 135.– P. 357–64.
24. Cogolludo A. The dietary flavonoid quercetin activates BK_{Ca} currents in coronary arteries via production of H_2O_2 . Role in vasodilatation / A. Cogolludo, G. Frazziano, A. M. Briones [et al.] // *Cardiovascular research* – 2007.– V. 73.– P. 424–431.
25. Vasodilatory effects of flavonoids in rat aortic smooth muscle. Structure-activity relationships / J. Duarte, P. Vizcaino F., P. Utrilla [et al.] // *Gen. Pharmacol.*– 1993.– V. 24.– P. 857–862.
26. Quercetin downregulates NADPH oxidase, increases eNOS activity and prevents endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats / M. Sanchez, M. Galisteo, R. Vera [et al.] // *J. Hypertens.*– 2006.– V. 24.– P. 75–84.
27. Vasorelaxing effects of flavonoids: investigation on the possible involvement of potassium channels / V. Calderone, S. Chericoni, C. Martinelli [et al.] // *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*– 2004.– V. 370.– P. 290–298.
28. Mahesh T. Quercetin alleviates oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats / T. Mahesh, V. P. Menon // *Phytother. Res.*– 2004.– V. 18, № 2.– P. 123–127.
29. Structure-activity relationships of preventive effects of flavonoids in alloxan-induced diabetes mellitus in rats / A. Lukačínová, J. Mojžiš, R. Beňačka [et al.] // *Journal of Animal and Feed Sciences.*– 2008.– V. 17.– P. 411–421.
30. Altered L-type Ca^{2+} channel currents in vascular smooth muscle cells from experimental diabetic rats / R. Wang, Y. Wu, G. Tang [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*– 2000.– V. 278.– P. H714–H722.
31. Reactive oxygen species signaling facilitates FOXO-3a/FBXO dependent vascular BK channel β_1 subunit degradation in diabetic mice / T. Lu, Q. Chai, L. Yu [et al.] // *Diabetes.*– 2012.– P. 1–9.

32. Diabetes downregulates large-conductance Ca^{2+} -activated potassium β_1 channel subunit in retinal arteriolar smooth muscle / M. K. McGahon, D. P. Dash, A. Arora, [et al.] // Circ. Res.– 2007.– V. 100.– P. 703–711.
33. Quercetin: critical evaluation as an antileishmanial agent in vivo in hamsters using different vesicular delivery modes / S. Sarkar, S. Mandal, J. Sinha [et al.] // J. Drug Target.– 2002.– V. 10.– P. 573–578.

К. И. Клименко, Т. В. Новохацкая, И. В. Кизуб, А. И. Соловьев
Влияние Липофлавона на суммарный исходящий K^+ - ток
в гладкомышечных клетках аорты крыс с сахарным диабетом

Целью исследования было изучение влияния антиоксиданта Липофлавона (кверцетин-содержащих фосфотидилхолиновых липосом) на суммарный исходящий калиевый ток в гладкомышечных клетках (ГМК) аорты крыс с сахарным диабетом. Исследование проведено с применением методики индукции диабета, методики выделения гладкомышечных клеток аорты, а также методики patch-clamp. Липофлаван вводили крысам дважды, с интервалом в 1 день, в дозах 0,4 мг/кг и 1,4 мг/кг в перерасчете на кверцетин (15 мг/кг и 50 мг/кг в пересчете на лецитин-стандарт). Суммарный исходящий K^+ -ток в ГМК аорты контрольных животных при максимальном уровне деполяризации 70 мВ составлял $70,8 \pm 8,3$ пА/пФ ($n = 6$). ГМК диабетических животных демонстрировали значительное снижение исходящего K^+ -тока с плотностью $22,1 \pm 1,6$ пА/пФ, ($n = 8$, $P < 0,05$). Липофлаван в дозе 1,4 мг/кг способствовал восстановлению K^+ -тока до $54,8 \pm 4,9$ пА/пФ ($n = 8$, $P < 0,05$), в то время, как в дозе 0,4 мг/кг не оказывал значительного эффекта: $26,0 \pm 2,8$ пА/пФ ($n = 7$, $P > 0,05$) по сравнению с диабетом. Полученные данные свидетельствуют о способности Липофлавона восстанавливать исходящий калиевый ток в ГМК аорты крыс с сахарным диабетом.

Ключевые слова: сосудистые осложнения сахарного диабета, гладкомышечные клетки, BK_{Ca} каналы, Липофлаван

K. I. Klymenko, T. V. Novokhatska, I. V. Kizub, A. I. Soloviev
The effect of Lipoflavin on total outward potassium current
in aortic smooth muscle cells of diabetic rats

The aim of this study was to evaluate the effect of Lipoflavin (antioxidant quercetin enclosed in phosphatidylcholine liposomes, PCL-Q) on total outward K^+ currents in rat smooth muscle cells (SMCs) obtained from the rats with streptozocin-induced (STZ) diabetes. Experimental design of the study comprised induction of diabetes, isolation of rat thoracic aorta SMCs and whole-cell patch-clamp technique. Diabetic rats were treated with PCL-Q (0,4 mg/kg or 1,4 mg/kg) intravenously twice with 1 day interval and were taken to experiment in 2 weeks. Whole-cell patch-clamp technique showed a reduction of total K^+ outward current in SMCs of diabetic rats versus controls (peak density was $22,1 \pm 1,6$ pA/pF, $n = 8$, $P < 0,05$ for diabetes vs. $70,8 \pm 8,3$ pA/pF, $n = 6$ for control). SMCs from animals treated with PCL-Q (1,4 mg/kg) showed significant increase in total K^+ currents with peak density $54,8 \pm 4,9$ pA/pF vs. $22,1 \pm 1,6$ pA/pF for diabetes ($P < 0,05$) while the treatment with 0,4 mg/kg PCL-Q was without changes in total K^+ current (peak density was $26,0 \pm 2,8$ pA/pF vs. $22,1 \pm 1,6$ pA/pF for diabetes, $P > 0,05$). In conclusion, Lipoflavin possess the ability to restore total K^+ outward current in rats with STZ-induced diabetes.

Key words: diabetic vascular complications, smooth muscle cells, BK_{Ca} channels, Lipoflavin

Надійшла: 23.07.2012 р.

Контактна особа: Клименко Катерина Ігорівна, аспірант, відділ експериментальної терапії, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», вул. Е. Потье, 14, м. Київ, 03680.
Тел.: +38 (044) 456-02-88.

Л. І. Кучеренко¹, В. М. Бобков², О. І. Барчина²,
А. В. Волуй², І. А. Мазур¹, А. Г. Крисько², О. К. Ярош²

Серцева тканинна біодоступність та показники розрахункової фармакокінетики нової кардіотропної сполуки «Лізиній»

¹НВО «Фарматрон», м. Запоріжжя

²ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

Ключові слова: кардіотропна сполука
«Лізиній», біодоступність, міокард,
одноразове парентеральне введення,
ВЕРХ

В Україні найчастішою причиною смертності та інвалідизації населення залишаються захворювання серця, які становлять майже 62 %. За останні 10 років поширеність серцево-судинної патології збільшилася майже в 2 рази (на 55 %) [3, 4, 10].

Не дивлячись на досить широкий асортимент існуючих кардіотропних засобів, проблема високої смертності населення в розвинутих країнах світу й в Україні від серцево-судинних захворювань залишається першопричиною, що настійно вимагає продовжувати пошук нових кардіотропних препаратів. Вітчизняний лікарський засіб «Тіотриазолін», що введений на фармацевтичний ринок країни, довів свою ефективність при низці патологічних станів, є також перспективним для створення на його основі нових комплексних препаратів зі спрямованою модифікацією властивостей для підвищення терапевтичної ефективності при патологічних станах серця та судин [7].

Однією з таких розробок є синтез нової комплексної сполуки під робочою назвою «Лізиній». Проведені дослідження з вивчення фармакодинаміки довели її перспективність для коригування патологічних порушень серцево-судинної системи (ССС) [14].

Ефективність кардіотропних засобів певною мірою залежить від цільового транспортування активної сполуки до мішеней, а саме, кардіоміоцитів та інших клітин серцевої та нервової сис-

тем організму. Наскільки це виправдано у випадку зі сполукою «Лізиній», можна було дізнатися тільки після кількісного визначення активного компонента Лізинію – 3-метил-1,2,4-тріазолін-5-тіоацетату в тканинах серця. Це було мотивом дослідження тканинної біодоступності досліджуваної речовини до кардіоміоцитів шляхом її безпосереднього визначення.

Мета дослідження – вивчення біодоступності сполуки «Лізиній» до тканини серця після одноразового введення та порівняння з показниками в крові.

Матеріали та методи. Експерименти проведені на 45 білих статевозрілих щурах обох статей масою 180–320 г, вирощених у ПП «Біомодель-сервіс» за стандартних умов утримання. Тваринам вводили внутрішньочеревинно (в/ч) сполуку «Лізиній» у 0,85 % розчині натрію хлориду в дозі 50 мг/кг маси тіла. Під ефірним наркозом через 3, 5, 10, 20, 40, 60, 90, 120 та 180 хв після в/ч введення сполуки «Лізиній» вилучали серце і відбирали наважки тканини для приготування біопроб із метою хроматографування. Відібрані наважки тканин серця швидко заморожували, ретельно подрібнювали, потім готували тканинну біопробу для кількісного визначення вмісту досліджуваної сполуки за допомогою ВЕРХ. Визначення концентрації сполуки «Лізиній» проводили методом мас-спектрометричної ВЕРХ за допомогою приладу «Agilent» 1200 [8, 13, 16].

Підготовку проб до хроматографування виконували в декілька етапів. Вилучення субстанції «Лізиній» з біологічних проб тканини серця виконували

наступним чином. У пробірку вносили точну наважку тканин серця, додавали 1,0 мл метанолу та ставили на 5 хв в ультразвукову баню при температурі 55 °С для вивільнення з неї досліджуваної сполуки. Протягом 30 хв проби центрифугували при 8000 об/хв. Отриманий надосадовий розчин з урахуванням його точного об'єму використовували для подальшого хроматографування.

Визначення концентрації сполуки «Лізиній» здійснювали за допомогою ВЕРХ із мас-селективним детектором фірми «Agilent Technologies 1200 Series» (США). Детектор був налаштований на визначення діючої речовини сполуки «Лізиній» – 3-метил-1,2,4-тріазолін-5-тіоацетату (173–176 m/z, враховуючи ізотопи вуглецю). Параметри налаштування мас-селективного детектора наведено в таблиці 1.

Хроматографічні вимірювання проводили в ізократичному режимі за допомогою двох аналітичних колонок, з'єднаних послідовно Rapid Resolution HT Cartridge 4,6 x 30 mm, 1,8 µm Zorbax SB-C18 та Agilent XDB-C18 4,6 x 50 mm, 1,8 µm.

Валідацію методики хроматографічного визначення сполуки «Лізиній» у

тканинах серця проводили згідно з міжнародними настановами та національними правилами проведення біоаналітичних досліджень [1, 6, 9, 15, 18]. Результати валідації наведено в таблиці 2.

Значення верхньої межі та нижньої межі кількісного визначення відповідали можливим максимальним та мінімальним концентраціям досліджуваної сполуки та можливості хроматографа. У наших експериментах уявну потенціальну максимальну концентрацію обирали на основі попередніх даних, що були отримані при дослідженні фармакокінетики сполуки в крові. При цьому враховували введену дозу, шлях введення, можливість деградації речовини в крові й міокарді, розподіл по інших тканинам, швидкість метаболізму та екскрецію з організму.

Отримані експериментальні дані піддавали статистичній обробці за допомогою комп'ютерних програм Excel Microsoft Statistika 6,0 з використанням t-критерію Ст'юдента [2, 5, 11, 12].

Результати та їх обговорення. Калібрувальний графік залежності площі сигналу сполуки «Лізиній» від його концентрації наведено на рисунку 1.

Таблиця 1

Параметри налаштування мас-селективного детектора

Параметри	Показники (рівні)
Детектор	Agilent Technologies G6130A Quadrupole LC/MS System
Фрагментор	120
Тривалість аналізу	10 хв
Тиск розпилювача	35 psig
Швидкість подачі газу	12 л/хв
Температура газу	250 °С
Напруга на капілярі	4000 В
Спосіб іонізації	Електроспрей (ES) позитивних іонів
Об'єм ін'єкції	2 мкл
Метод реєстрації	SCAN Method (173.0 – 176.0 m/z)
Елюент	0,5 % розчин мурашиної кислоти в суміші вода-ацетонітрил (90 % - 10 %) (А); 0,5 % розчин мурашиної кислоти в ацетонітрилі (В)
Швидкість потоку	0,5 мл/хв
Температура колонки	45 °С
Маса катіона 3-метил-1,2,4-тріазолін-5-тіоацетат*	173 – 176 m/z
Час утримання на хроматограмі	2,5 хв

Примітка. *Катіон був отриманий шляхом протонування аніона 3-метил-1,2,4-тріазолін-5-тіоацетату (за допомогою мурашиної кислоти в елюенті). Протонування здійснювали з метою підвищення чутливості детектора майже в 100 разів.

Результати проведеної валідації методики хроматографічного визначення сполуки «Лізиній»

Параметри	Показники
Верхня межа кількісного визначення (ВМКВ)	9990,0 нг/мл
Нижня межа кількісного визначення (НМКВ)	9,99 нг/мл
Правильність	$\leq 5\%$
Збіжність (Precision – % RSD)	$\leq 7\%$
Середній ступінь вилучення	$\sim 47,4\%$
Коефіцієнт кореляції (Correlation coefficient – R^2)	1

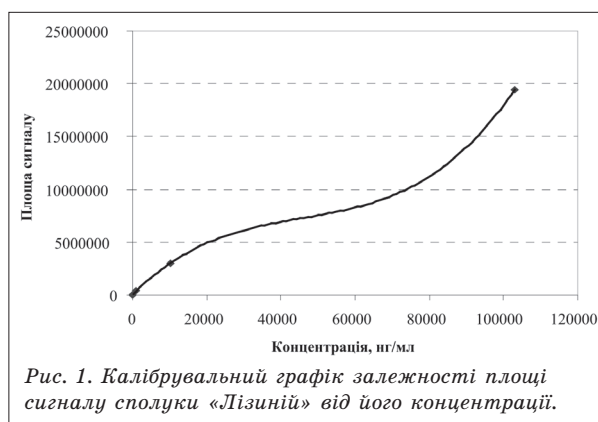


Рис. 1. Калібрувальний графік залежності площі сигналу сполуки «Лізиній» від його концентрації.

Оцінку концентрації сполуки «Лізиній» у тканинах серця експериментальних тварин (білі щури) проводили після одноразового внутрішньочеревинного введення препарату в дозі 50 мг/кг. На рисунку 2 наведено криву, що ілюструє динаміку змін концентрації сполуки «Лізиній» у тканинах серця при одноразовому введенні.

Отримані дані свідчать, що присутність лізинію в серці реєструється досить швидко, практично одночасно з кров'ю, і вже через 3 хв після в/ч введення рівень сполуки визначався на рівні $6,4 \pm 4,2$ мкг/г тканини, потім швидко зростає і сягає піка через 10 хв. Максимальна концентрація ($C_{\max}$) у серці становила $16,7 \pm 3,9$ мкг/г. Починаючи з 10-ї хв фармакокінетика «Лізинію» переходила в β -фазу, тобто спостерігалось поступове зниження вмісту сполуки в тканині міокарда.

Через 20 хв після введення концентрація досліджуваної сполуки знизилася до $6,8 \pm 1,4$ мкг/г, що становило тільки 59,3 % від попередньо зареєстрованої максимальної концентра-

ції. На 40-й хв рівень сполуки «Лізиній» у серці становив лише $1,9 \pm 1,0$ мкг/г. До 60-ї хв уміст сполуки знизився майже до мінімальної концентрації і становив $0,4 \pm 0,2$ мкг/г (рис. 2).

Після проведення експерименту одержані хроматограми досліджуваних розчинів були інтегровані. Результати експерименту наведено в таблиці 3.

Типові хроматограми при кількісному визначенні рівня сполуки «Лізиній» у тканині серця, одержані з дотриманням умов, викладених у вимогах Державної Фармакопеї України (ДФУ), рекомендаціях FDA та ін., наведено на рисунку 3 (А–С).

Отримані значення концентрації сполуки «Лізиній» у тканинах серця піддавали математичній обробці для обрахування фармакокінетичних параметрів [13].

Величина показника $MRT_{0-\infty}$ (середній час перебування сполуки «Лізиній» у міокарді) становила $1,3 \pm 0,2$ год. За цим показником сполуку «Лізиній» можна віднести до речовин із середньою тривалістю знаходження в органі. Показник кліренсу складає за отриманими даними $324,4 \pm 59,5$ мкг·хв⁻¹·кг⁻¹.

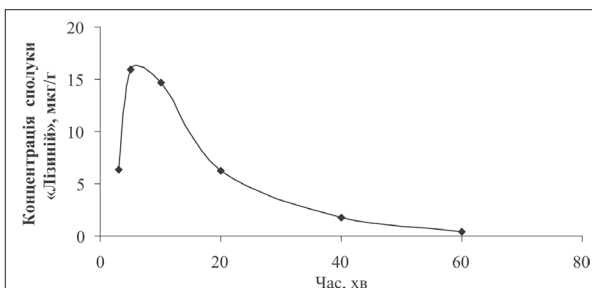


Рис. 2. Концентрації сполуки «Лізиній» в тканинах серця (мкг/г) протягом 1 год після внутрішньочеревинного введення в дозі 50 мг/кг маси тіла.

Уміст сполуки «Лізиній» (мкг/г) у тканині серця щурів протягом перших 3 год після внутрішньочеревинного введення в дозі 50 мг/кг

№	Час, хв								
	3	5	10	20	40	60	90	120	180
1	7,7	11,1	17,6	7,8	1,4	0,7	0,2	0,2	-
2	3,9	18,2	19,2	6,6	0,6	0,3	0,3	0,03	-
3	2,4	15,8	18,9	6,7	1,3	0,4	0,08	-	-
4	4,9	19,6	10,9	6,2	0,3	0,2	0,08	-	-
5	13,1	15,2	-	3,9	0,6	0,2	0,08	-	-
M	6,4	15,9	16,7	6,8	1,9	0,4	0,14	0,09	0,0
±m	4,2	3,2	3,9	1,4	1,0	0,2	0,08	0,08	0,0

Примітка. — — відсутність замірів, М — середнє значення, т — стандартна похибка

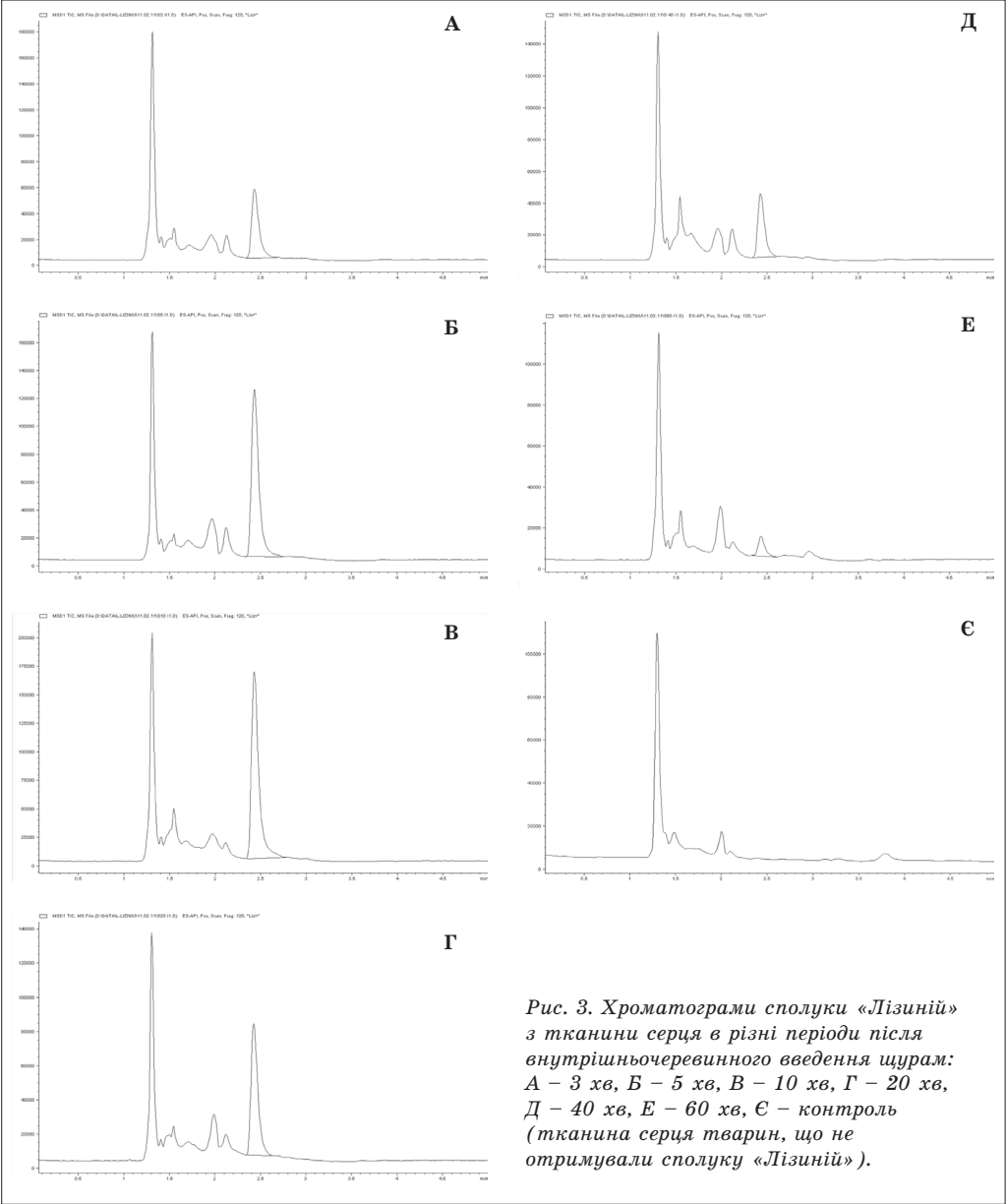


Рис. 3. Хроматограми сполуки «Лізиній» з тканини серця в різні періоди після внутрішньочеревинного введення щурам: А – 3 хв, Б – 5 хв, В – 10 хв, Г – 20 хв, Д – 40 хв, Е – 60 хв, Е – контроль (тканина серця тварин, що не отримували сполуку «Лізиній»).

Значення фармакокінетичного показника, що характеризує швидкість виведення речовини з органу, становить $T_{1/2el} = 5,8 \pm 1,2$ хв.

У ході досліджень було встановлено, що сполука «Лізиній» характеризується хорошою проникністю до тканин серця ($F_{1/2} = 5,1 \pm 0,9$ хв), її вміст у міокардіocyтах повторює кінетичну криву, характерну для фармакокінетики сполуки в крові, але в концентраціях на 35–70 % нижчих за аналогічні показники її вмісту в сироватці.

Результати обчислення основних фармакокінетичних показників за умови їхнього математичного моделювання надано в таблиці 4.

Таким чином, отримані в результаті досліджень докази того, що сполука

«Лізиній» здатна проникати з крові до тканини серця, створюють передумови для проведення подальших фармакокінетичних досліджень за умов курсового введення препарату з метою встановити тривалість її перебування в міокарді та можливість накопичення в ньому.

При порівнянні одержаних результатів кількісного моніторингу вмісту досліджуваної речовини протягом 3 год після одноразового введення засвідчили, що концентрації сполуки «Лізиній» за характером кривої були дуже схожі з такими, що спостерігалися при визначенні речовини в крові щурів. Основною відмінністю можна вважати кількісний уміст сполуки, що був значно нижчим у серці, ніж у крові (табл. 5).

Таблиця 4

Основні фармакокінетичні розрахункові параметри сполуки «Лізиній» у тканині серця щурів після внутрішньочеревинного введення в дозі 50 мг/кг

№ п/п	Параметри, одиниці виміру	Позначення	Значення
1	Час досягнення максимальної концентрації, хв	t_c	$7,8 \pm 1,3$
2	Максимальна концентрація препарату в тканині серця, мкг/г	C_{max}	$15,0 \pm 0,9$
3	Напівдоступність (проникнення) у серце, мкг/хв	$F_{1/2}$	$5,1 \pm 0,9$
4	Період напівелімінації з органа, хв	$T_{1/2el}$	$5,8 \pm 1,2$
5	Уявний об'єм розподілу, мл/кг	V_d	$2572,5 \pm 171,7$
6	Площа під фармакокінетичною кривою, мкг·хв·г ⁻¹	AUC	$316,2 \pm 54,3$
7	Загальний кліренс, мкг·хв ⁻¹ ·кг ⁻¹	Cl_l	$324,4 \pm 59,5$
8	Середній час перебування в міокарді, год	$MRT_{0-\infty}$	$1,3 \pm 0,2$

Таблиця 5

Порівняльна характеристика вмісту сполуки «Лізиній» у сироватці крові (мкг/мл) та тканинах серця (мкг/г) щурів протягом перших 3 год після внутрішньочеревинного введення в дозі 50 мг/кг

Показник	Час, хв								
	3	5	10	20	40	60	90	120	180
Сироватка крові									
M	9,800	14,500	42,000	16,400	5,200	1,600	0,440	0,200	0,048
±m	5,600	7,900	15,800	6,800	3,500	0,500	0,300	0,140	0,019
Тканини серця									
M	6,40	15,90	16,70	6,80	1,90	0,40	0,14	0,09	0,00
±m	4,20	3,20	3,90	1,40	1,00	0,20	0,08	0,08	0,00
% відносно крові	-34,7	+1,1	-60,2	-58,5	-63,5	-75,0	-68,2	-55,0	-

Таким чином, сполука «Лізиній» досить швидко і в достатньо високій концентрації накопичується в тканинах серця, хоча в ньому її концентрація була на 35–70 % нижчою, ніж у сироватці крові.

Висновки

1. Після одноразового внутрішньочеревинного введення сполуки «Лізиній» щурам у дозі 50 мг/кг максимальна концентрація в тканинах серця ($C_{\max \text{ сер.}}$) досягала $16,7 \pm 3,9$ мкг/г в експериментах

in vivo та $15,0 \pm 0,9$ мкг/г у тканині міокарда при розрахунках за найближчою математичною моделлю.

2. Напівдоступність ($F_{1/2\text{сер.}}$) у тканині серця становила $5,1 \pm 0,9$ мкг/хв, а площа під кривою (AUC) у часі становила $316,2 \pm 54,3$ мкг·хв·г⁻¹.

3. Визначені параметри фармакокінетики сполуки «Лізиній» при одноразовому її введенні мають бути враховані при дослідженні фармакокінетики при її парентеральному курсовому введенні.

1. Валідація аналітичних методик і випробувань / Державна Фармакопея України. ДП «Наук.-експертн. фармакоп. Центр». – [1-е вид.]. – Харків: PIPEГ, 2001. – Доп. 1. – 2004. – С. 58–67.
2. Гельман В. Я. Медицинская информатика: практикум / В. Я. Гельман. – СПб. : Питер, 2001. – 480 с.
3. Дзяк Г. В. Тромболитическая терапия при остром коронарном с элевацией сегмента ST: не обходимо ли изменить стандарт реперфузионной терапии? / Дзяк Г. В., Коваль Е. А. // Український кардіологічний журнал. – 2004. – № 1. – С. 15–21.
4. Особенности функционирования митохондрий миокарда у крыс со спонтанной гипертензией (SHR) на фоне экспериментального сахарного диабета и атеросклероза // Колесник М. Ю., Беленичев И. Ф., Дзяк Г. В., Чекман И. С. // Запорож. мед. журн: науч.– практ. журн. – 2012. – № 2. – С. 26–30.
5. Лапач С. Н. Статистика в науке и бизнесе / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич – К.: Морион, 2002. – 640 с.
6. Либина В. В. Национальные и международные правила проведения биоаналитических исследований по оценке биоэквивалентности генерических препаратов // Вісник фармакології та фармації. – 2006. – № 8. – С. 30–37.
7. Метаболитотропные препараты / И. А. Мазур, И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев [и др.]. – Запорожье, 2007. – 309 с.
8. Методичні рекомендації по доклінічному вивченню фармакокінетики лікарських засобів: під ред. М. Я. Головенка, І. С. Безверхої, В. А. Жили, В. Г. Зінковського, О. В. Жука. – К.: ФК МОЗ України. – 1995. – 28 с.
9. Подпругников Ю. В. Изучение биоэквивалентности: основа доказательной медицины и фармации / Ю. В. Подпругников, И. А. Зупанец. – Новости медицины и фармации. – 2009. – № 11–12 (285–286).
10. Руководство по кардиологии: под ред. В. Н. Коваленко. – К.: Морион, 2008. – С. 138–144.
11. Сернов Л. Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л. Н. Сернов, В. В. Гацура. – М., 2000. – 345 с.
12. Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту / Державна Фармакопея України. ДП «Наук.-експертн. фармакоп. Центр». – [1-е вид.]. – Харків: PIPEГ, 2001. – Доп. 1. – 2004. – С. 187–214.
13. Фармакокінетика / [Каркищенко Н. Н., Хоронько В. В., Сергеева С. А., Каркищенко В. Н.]. – Ростов-на-Дону: Феникс, 2001. – 384 с.
14. Метаболитные и метаболитропные препараты в системе кардио- и органопротекции / И. С. Чекман, Н. А. Горчакова, С. Б. Французова, Е. А. Нагорная. – К., 2009. – 155 с.
15. FDA, Guidance for Industry: Process Validation: General Principles and Practices // Federal Register. [Електронний ресурс]. – 2011. – V. 76, № 16. – P. 4360–4361. – Режим доступу: <https://federalregister.gov/a/2011-1437>
16. Gaviraghi G. Pharmacokinetic Challenges in Lead Optimization / Gaviraghi G., Barnaby R. J. and Pellegatti M. // Verona. – 2002. – 324 p.
17. Pharmacokinetic Optimization in Drug Research / [Testa B., Waterbeemd H., Folkers G., Guy R.]. – Verlag Helvetica Chimica Acta. Zurich, 2001. – 655 p.
18. Validation of analytical Methods: Definitions and Terminology // ICH Topic Q 2 EMEA. CPMP/ICH/381/95. – P. 1–5.

Л. И. Кучеренко, В. Н. Бобков, Е. И. Барчина, А. В. Волуй, И. А. Мазур, А. Г. Крисько, А. К. Ярош

Сердечная тканевая биодоступность и показатели расчетной фармакокинетики нового кардиотропного соединения «Лизиний»

Изучена фармакокинетика соединения «Лизиний». Установлено, что после парентерального введения субстанции в дозе 50 мг/кг крысам, время достижения максимальной концентрации

составляет $7,8 \pm 1,3$ мин, максимальная концентрация препарата в тканях сердца – $15,0 \pm 0,9$ мкг/г, время полувыведения – $5,8 \pm 1,2$ мин, общий клиренс – $324,4 \pm 59,5$ мкг·хв⁻¹·кг⁻¹, а среднее время пребывания препарата в миокарде – $1,3 \pm 0,2$ ч.

Ключевые слова: кардитропное соединение «Лизиний», биодоступность, миокард, одноразовое введение, ВЭЖХ

L. Kucherenko, V. Bobkov, H. Barchina, A. Volyi, J. Mazur, A. Krisko, A. Yarosh
Cardiac tissue bioavailability and calculated parameters of pharmacokinetics of new cardiotropic compound «Lisinyi»

The pharmacokinetics of compound «Lisinyi» was studied. It was established that after parenteral administration of a substance at a dose of 50 mg/kg to rats the time to reach maximum concentration average of $7,8 \pm 1,3$ min, the maximum drug concentration in the tissues of the heart – $15,0 \pm 0,9$ mcg/g, half-life time elimination – $5,8 \pm 1,2$ min, total body clearance – $324,4 \pm 59,5$ mcg·h⁻¹·kg⁻¹, and the mean residence time of the drug in the myocardium – $1,3 \pm 0,2$ h.

Keywords: cardiotropic compound «Lisinyi», bioavailability, myocardium, single parenteral administration, HPLC

Надійшла: 23.07.2012 р.

Контактна особа: Ярош Олександр Кузьмич, докт. мед. наук, професор, завідувач відділу фармакокінетики, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», вул. Ежена Потье, буд. 14, м. Київ, 03680. Тел.: +38 (044) 456-98-65. E-mail: yarosh@mail.ru

М. А. Мохорт, Н. М. Серединська, З. П. Омеляненко,
В. С. Хоменко, Т. А. Бершова, Г. В. Павлюк

Порівняльна характеристика кардіотропної дії диклофенаку та німесуліді за умов ад'ювантного артриту в щурів

ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

Ключові слова: диклофенак, німесулід,
кардіотропна дія, ад'ювантний артрит

Загальноновизнаними є позитивні властивості нестероїдних протизапальних лікарських засобів (НПЗЛЗ), що застосовуються за численних патологічних станів, зокрема, за умов ревматичних захворювань [1, 2]. Хоча всі НПЗЛЗ мають загальний механізм дії, що полягає, в основному, у здатності пригнічувати активність циклооксигенази, вони являють собою дуже неоднорідну фармакотерапевтичну групу, представники якої суттєво відрізняються як за ефективністю, а, значить, – і за характером, складністю та ступенем патологічного процесу, на тлі якого вони можуть застосовуватися, так і за профілем безпеки [3–5]. Профіль безпеки НПЗЛЗ найбільшим чином залежить від здатності цих препаратів впливати на активність різних типів циклооксигенази (ЦОГ). Застосування НПЗЛЗ може бути обмеженим через низку побічних реакцій, які вони викликають. Ризик виникнення серйозних ускладнень із боку внутрішніх органів та крові за умов застосування НПЗЛЗ досить високий. Найпоширенішими побічними реакціями є розлади у функціонуванні шлунково-кишкового тракту, алергічні реакції. Разом із тим, досвід клінічного застосування НПЗЛЗ свідчить про негативний вплив представників цієї групи препаратів на серцево-судинну систему, що значно утруднює вибір того, чи іншого НПЗЛЗ [6–10]. Особливу увагу привертають дані щодо підвищення ризику виникнення побічної дії НПЗЛЗ за умов поєднаної патології, наприклад: ревматичні захворювання (зокрема, ревмато-

їдний артрит) і гіпертонічна хвороба та/або серцева недостатність тощо [8, 11–13]. Крім того, існування поєднаної патології передбачає необхідність застосування препаратів різних фармакотерапевтичних груп, наприклад: НПЗЛЗ та антигіпертензивних, чи антиаритмічних, чи антиангінальних засобів тощо. Відомі факти зменшення ефективності НПЗЛЗ або антигіпертензивних засобів за умов їхнього сумісного застосування. Тому дослідження кардіотропної дії різних за селективністю щодо ЦОГ НПЗЛЗ на тлі ревматичних захворювань із метою диференційованого підходу до вибору найбезпечнішого та найефективнішого НПЗЛЗ є актуальним завданням для фармакологів та клінічних фармакологів. На нашу думку, саме порівняльна характеристика кардіотропної дії різних представників НПЗЛЗ на тлі модельованих патологічних станів може бути використаною для створення «бази даних» щодо їхнього негативного впливу на серцево-судинну систему та уточнення профілів безпеки.

Мета роботи – дати порівняльну характеристику впливу Диклофенаку і Німесуліді на артеріальний тиск крові та частоту серцевих скорочень у щурів на тлі ад'ювантного артриту.

Матеріали та методи. Тест-система: білі нелінійні щури. Досліди проведено на статевозрілих нелінійних білих щурах обох статей з вихідною масою $164,3 \pm 5,1$ г, яких утримували на стандартному раціоні харчування у віварії за умов вільного доступу до їжі та води. Після акліматизації тварин (14 діб) та їх рандомізації були виділені групи щурів, кожна з яких включала рівне число щурів кожної статі.

До першої групи входили 10 щурів (група інтактних тварин), яких утримували в лабораторному приміщенні в клітках на звичайному режимі харчування за умов вільного доступу до їжі та води впродовж того самого терміну, що й тварин інших груп. Другу групу складали тварини контрольної групи (54 щури), у яких викликали ад'ювантний артрит (АА). Тваринам третьої та четвертої груп (по 45 щурів у кожній) на тлі розвитку АА вводили Диклофенак (ДК) і Німесулід (НМ) відповідно. Тест-зразок: повний Ад'ювант Фрейнда (АФ).

Патологічний процес – АА, що вважається адекватною моделлю ревматоїдного артриту, викликали підшкірним введенням у підшовну частину задньої кінцівки (лівої) повного АФ [14].

Досліджувані лікарські засоби: ДК, таблетки по 50 мг (ВАТ «ХФЗ «Червона зірка», Україна); НМ (Ремесулід), таблетки по 100 мг (ВАТ «Фармак», Україна).

Вибір НПЗЛЗ обумовлений декількома міркуваннями. По-перше, різні за хімічною будовою та селективністю відносно ЦОГ-1 та ЦОГ-2 НПЗЛЗ у різній мірі можуть проявляти кардіотропну дію. По-друге, кількість, характер і розвиток побічних реакцій у різних НПЗЛЗ за селективністю до ЦОГ-1 та ЦОГ-2 різні. По-третє, вочевидь, різні за цими показниками НПЗЛЗ можуть викликати різноспрямовані та/або неоднакові за силою побічні ефекти, зокрема, з боку серцево-судинної системи. По-четверте, виразність протибольової, протизапальної, жарознижуючої активності в ДК і НМ неоднакова [10, 15–17].

Зазначені лікарські засоби в дозах: для ДК – 8 мг/кг, для НМ – 15 мг/кг, маси тіла тварини, вводили в 1 % крохмальному зависі через спеціальний металевий зонд у шлунок.

Досліджувані НПЗЛЗ вводили через 60 хв після застосування АФ, а далі – щоденно, 1 раз на добу протягом 60 днів.

Тривалість спостереження за тваринами складала 60 днів після введення АФ. Функціональний стан серцево-судинної системи, поведінкові, рухові, вегетативні реакції досліджували в динаміці в терміни, що відповідали

певним етапам розвитку патологічного процесу. Так, реєстрацію досліджуваних показників здійснювали до застосування АФ – вихідні дані, через 7, 14, 28, 42 та 60 днів після введення АФ. Саме протягом 7–14 днів спостерігається максимум розвитку місцевої реакції на введення АФ, 14–42 доби є термінами, коли відбувається генералізація АА, період від 42 до 60 днів характеризується як затухання патологічного процесу, що виник за умов одноразового введення патогенного фактора.

Оцінку клінічних проявів, як власне патологічного процесу, так і стану, коли на тлі АА застосовували лікарські засоби, проводили за показниками зовнішнього виду тварин, рухової активності, змін поведінки, здатності споживати воду та їжу, зоосоціальних відносин, здатності реагувати на зовнішні подразники (звукові, механічні), оцінювали вегетативні функції.

Серед досліджуваних показників функціонального стану серцево-судинної системи були: частота, ритм серцевих скорочень, артеріальний тиск крові, які реєстрували на сфігмоманометрі S-2 (Німеччина) після попередньої адаптації тварин у камері протягом 30 хв.

Результати та їх обговорення. Клінічні прояви патологічного процесу фактично є ідентичними в тварин усіх дослідних груп, але тварини, яким застосовували НМ на тлі АА відрізняються більшою мірою агресивністю, підвищеною збудженістю та зростанням рухової активності. У тварин контрольної групи зростали настороженість, збудженість, рухова активність, тонус очних яблук, дратівливість.

Зростання частоти дихання, його аритмічність, як і екзофтальм, птоз зміну реакції на зовнішні подразники, реєстрували в тварин усіх груп. Тремору, посмикування, судом не відмічали в жодної тварини. Підвищену больову чутливість, що супроводжувалася підвищеною агресивністю та дратівливістю, спостерігали в тварин усіх груп.

Клінічні ознаки враження колінного та кульшового суглобів кінцівки, в яку було введено АФ, проявлялися через 3–5 год після ін'єкції та характеризу-

валися набряком суглобів, почервонінням шкіри, вокалізацією тварини при пальпації суглобів, а також наявністю на ураженій стопі виразок шкіри.

Клінічні ознаки місцевого запального процесу посилювалися впродовж перших 3 діб: зростав набряк та гіперемія шкіри, шерстний покрив в області уражених суглобів був комкуватим, на вигляд – зволженим; спостерігався набряк вентральної частини стопи. Уражена кінцівка була менш рухомою, ніж не уражена; щадливий режим натиснення на уражену кінцівку за ходи спостерігався у тварин усіх груп. Наступні 7–10 діб, за візуальними спостереженнями, не зареєстровано збільшення набряку та гіперемії шкіри в зоні суглобів, хоча й набряк, і гіперемія шкіри, і вокалізація при пальпації уражених суглобів та стопи залишалися впродовж усього терміну спостереження.

За умов патологічного процесу на вентральній частині стопи, на фалангах та на коліні кінцівки, у яку було введено АФ, через 4–5 діб виникали виразки шкіри. Застосування НПЗЛЗ не призводило до зменшення кількості тварин, у яких виникли виразки, не впливало на кількість та розташування виразок.

Суттєве зростання артеріального тиску крові на (15–19) % у різні терміни

спостереження викликав АФ (табл. 1), причому значно підвищені значення цього показника реєстрували навіть у період затухання патологічного процесу (42–60 діб після одноразового введення АФ).

Застосування ДК на тлі ад'ювантного артриту повною мірою не запобігало зростанню досліджуваного показника, хоча й спостерігалася тенденція (а в деякі терміни спостереження – 14 діб – достеменні зміни) до зниження АТ крові відносно значень у тварин контрольної групи. Отже, застосування ДК на тлі АА не призводить до посилення гіпертензивного ефекту АФ.

До підвищення АТ крові відносно вихідних значень упродовж усього періоду спостереження призводив НМ, а після 28 доби – до більш значного зростання цього показника не лише відносно вихідних величин, а й до того рівня, що відмічали у тварин контрольної групи. Тобто, НМ сприяє посиленню гіпертензивної реакції на тлі АА.

Отримані дані є свідченням того, що НМ, на відміну від ДК, викликає стійку гіпертензивну реакцію на тлі АА. Уведення ДК запобігає суттєвому підвищенню АТ крові відносно тварин контрольної групи за умов зазначеного патологічного процесу.

Аналізуючи отримані результати досліджень, відзначаючи зміну АТ

Таблиця 1

Вплив диклофенаку та німесулідів на артеріальний тиск крові в щурів з ад'ювантним артритом, мм рт. ст. (M ± m)

Група	Термін спостереження, доба					
	вихідні дані	7	14	28	42	60
АА	82,39 ± 1,50	94,95 ± 1,41	96,97 ± 1,91	94,71 ± 2,30	95,31 ± 2,50	87,79 ± 2,36
n	54	26	26	26	26	26
P		≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05
АА + ДК	83,55 ± 1,14	94,5 ± 2,32	92,75 ± 1,66	92,17 ± 2,37	96,92 ± 1,85	89,92 ± 2,61
n	45	25	25	25	25	25
P		≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05
P ₁		≥ 0,05	≤ 0,05	≥ 0,05	≥ 0,05	≥ 0,05
АА + НМ	84,08 ± 3,43	99,05 ± 2,62	97,31 ± 1,60	93,00 ± 2,47	99,33 ± 2,36	96,33 ± 3,01
n	45	13	13	13	13	13
P		≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05
P ₁		≥ 0,05	≥ 0,05	≥ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05

Примітка. Тут і в табл. 3: P – ступінь достовірності змін відносно вихідних значень у тварин даної групи; P₁ – ступінь достовірності змін відносно значень у тварин контрольної (АФ) групи.

крові в кожній окремій тварини впродовж терміну спостереження, було встановлено, що за умов уведення АФ не в усіх тварин відмічали підвищення цього показника. За даними таблиці 2, зростання АТ крові на 10 % і більше через 14 діб після уведення АФ відзначали в 85 % тварин, надалі відсоток тварин з підвищеним АТ знижувався. Значно нижчий відсоток тварин, у яких реєстрували підвищення АТ крові на зазначену величину, був за умов уведення ДК упродовж усього терміну спостереження, тоді як за умов введення НМ на тлі АА відзначали значне перевищення кількості тварин, у яких АТ крові підвищувався більше, ніж на 10 % відносно тварин, яким вводили ДК.

Таким чином, упродовж гострого періоду та періоду маніфестації патологічного процесу в значно більшій кількості тварин відбувається підвищення АТ крові, а в період його затухання кількість тварин із гіпертензивною реакцією знижується. НМ

призводить до збільшення, а ДК – до зменшення кількості тварин, у яких реєструється гіпертензивна реакція у відповідь на введення АФ. За умов застосування саме НМ як НПЗЛЗ (як інгібітора ЦОГ-2) слід пам'ятати, що ризик розвитку гіпертензії за ступенем тяжкості та за кількістю тварин, у яких вона виникатиме, значно підвищується через 28 діб патологічного процесу.

За умов розвитку АА в щурів контрольної групи відзначали підвищення ЧСС (перша половина терміну спостереження) на 3–5 % від вихідного значення, але ці зміни не були статистично значущими та закономірними (табл. 3). Статистично значимі зміни (зниження) ЧСС відбувалися через 42–60 діб після застосування АФ.

Суттєве зниження ЧСС відносно вихідних даних спостерігали за умов застосування ДК на тлі АА з 42 доби, але на 60 добу ця зміна була менш значущою, ніж у тварин контрольної групи.

Таблиця 2

Кількість тварин з підвищеним артеріальним тиском крові за умов ад'ювантного артриту та застосування диклофенаку і німесулід, %

Група	Термін спостереження, доба			
	14	28	42	60
АА	85	81	67	32
АА + ДК	50	63	60	30
АА + НМ	84	69	85	75

Таблиця 3

Частота серцевих скорочень у щурів за умов ад'ювантного артриту і застосування диклофенаку та німесулід, уд/хв ($M \pm m$)

Група	Термін спостереження, доба					
	вихідні дані	7	14	28	42	60
АА	385,20 ± 8,99	398,90 ± 8,08	396,77 ± 8,70	386,75 ± 11,02	364,10 ± 6,44	340,10 ± 9,78
n	54	38	38	38	38	38
P		≥ 0,05	≥ 0,05	≥ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05
АА + ДК	386,33 ± 13,29	382,40 ± 9,36	373,30 ± 9,48	394,88 ± 13,04	360,50 ± 9,0	362,20 ± 10,17
n	38	15	15	13	13	13
P		≥ 0,05	≥ 0,05	≥ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,05
P ₁		≥ 0,05	≥ 0,05	≥ 0,05	≥ 0,05	≥ 0,05
АА+НМ	385,18 ± 13,43	366,20 ± 15,07	383,85 ± 13,93	376,23 ± 21,79	340,00 ± 4,52	355,75 ± 11,02
n	38	13	13	13	13	13
P		≥ 0,05	≥ 0,05	≥ 0,05	≤ 0,05	≥ 0,05
P ₁		≥ 0,05	≥ 0,05	≥ 0,05	≤ 0,05	≥ 0,05

Не призводив до закономірного порушення ритму та зміни ЧСС у перші 28 діб після введення АФ НМ. Лише через 42 діб після введення АФ відзначали суттєве зменшення цього показника, причому зміна була значущою не лише відносно вихідних значень у тварин даної групи, а й щодо значень, що реєстрували в щурів контрольної групи.

Отримані результати свідчать, що АФ призводив до незначного коливання ЧСС у бік зростання цього показника впродовж першої половини терміну спостереження, а надалі сприяв суттєвому зменшенню ЧСС. Фактично на тлі АА на ЧСС не впливали НПЗЛЗ упродовж першої половини терміну спостереження, тоді як надалі досліджувані лікарські засоби призводили до достовірного зниження ЧСС. НПЗЛЗ на тлі АА не спричинювали аритмогенного ефекту.

Висновки

1. Експериментальний ревматоїдний артрит супроводжується розвитком артеріальної гіпертензії. Введення ДК сприяє зниженню АТ крові за умов зазначеного патологічного процесу. НМ, на відміну від ДК, викликає стійку гіпертензивну реакцію на тлі АА. НМ призводить до збільшення, а ДК – до зменшення кількості тварин, у яких реєструється гіпертензивна реакція у відповідь на введення АФ.
2. У гострому періоді та під час розвитку патологічного процесу АФ не викликає суттєвих та закономірних змін ритму і частоти серцевих скорочень та призводить до зменшення ЧСС у період його затухання. НПЗЛЗ (ДК і НМ) не спричинюють аритмогенного ефекту і не впливають на ЧСС на тлі АА.

1. Малий М. Сучасні підходи до лікування ревматоїдного артриту / М. Малий. – Здоровье Украины. – 2010. – № 8 (237). – С. 57–66.
2. Матвеев О. В. Моніторинг безпеки лікарських засобів базисної терапії у хворих на ювенільний ревматоїдний артрит: Автореф. дис. канд. мед. наук 14.01.28 / О. В. Матвеев, Кримський ДМУ. – К., 2010. – 20 с.
3. Насонов Е. Л. Применение нестероидных противовоспалительных препаратов и ингибиторов циклооксигеназы-2 в начале XXI века / Е. Л. Насонов // РМЖ. Ревматология. История медицины. – 2003. – Т. 11, № 7. – С. 375–378.
4. Risk of acute myocardial infarction and sudden cardiac death in patients treated with cyclo-oxygenase 2 selective and non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs: nested case-control study / Graham D. J., Campen D., Hui R. [et al.] // Lancet. – 2005. – P. 475–481.
5. Применение нестероидных противовоспалительных препаратов: Клинические рекомендации / А. Е. Каратеев, Н. Н. Яхно, Л. Б. Лазебник [и др.]. – М. : ИМА-ПРЕСС, 2009. – 167 с.
6. Differences in atherosclerotic coronary heart disease between subjects with and without rheumatoid arthritis / Aubry M. C., Maradit-Kremens H., Reinalda M.S. [et al.] // J. Rheumatol. – 2007. – V. 34. – P. 937–942.
7. Муравьев Ю. В. Заболевания сердечно-сосудистой системы и нестероидные противовоспалительные препараты / Ю. В. Муравьев // Болезни сердца и сосудов. – 2006. – Т. 2, № 2. – С. 52–55.
8. Мареев В. Ю. Реальна ли кардиоваскулярная безопасность нестероидных противовоспалительных препаратов? / В. Ю. Мареев // Сердце. – 2003. – Т. 2, № 4 (10). – С. 1–6.
9. Шаров М. Н. Применение и оценка безопасности нестероидных противовоспалительных препаратов при вертеброгенных и лицевых болевых синдромах у больных с сопутствующей соматической патологией / М. Н. Шаров // Лечащий врач. – 2008. – № 8. – С. 2–4.
10. Алексеева Л. И. Вопросы использования нестероидных противовоспалительных препаратов в ревматологической практике / Л. И. Алексеева // Consilium medicum. – 2009. – Т. 11, № 2. – С. 7–9.
11. Оценка частоты развития побочных эффектов при длительном использовании нимесулида в реальной клинической практике / Каратеев А. Е., Алексеева Л. И., Братыгина Е. А., Аширова Т. Б. // РМЖ. – 2009. – Т. 17, № 21. – С. 1466–1471.
12. Драженков И. В. Поражение сердечно-сосудистой системы при ревматических заболеваниях / И. В. Драженкова // Кардиология. – 2005. – Т. 45, № 11. – С. 98–104.
13. Драпкина О. М. Особенности антигипертензивной терапии у пациентов, принимающих нестероидные противовоспалительные препараты / Драпкина О. М., Гацולהва Д. С. // Consilium medicum. Справочник поликлинического врача. – 2006. – Т. 4, № 8. – С. 7–9.
14. Bendele A. M. Animal models of rheumatoid arthritis / A. M. Bendele // J. Musculoskel Neuron Interact, 2001. – V. 1, № 4. – P. 377–385.
15. Каратеев А. Е. Применение нимесулида в ревматологии / А. Е. Каратеев // Трудный пациент. – 2010. – № 6–7. – С. 24–29.

-
16. Алексеева Е. И. Оценка эффективности, переносимости и безопасности нимесулида у детей с хроническим артритом / Алексеева Е. И., Валиева С. И. // *Вопр. совр. педиатрии.*– 2007.– Т. 6, № 6.– С. 84–88.
17. Шаповал О. Н. Нестероидные противовоспалительные средства: проблемы и перспективы применения в медицинской практике / О. Н. Шаповал // *Провизор.*– 2004.– № 12.– Сайт Интернета: www.provisor.com.ua/archive/2004/№12/art06.htm.

**Н. А. Мохорт, Н. Н. Серединская, З. П. Омеляненко, В. С. Хоменко,
Т. А. Бершова, А. В. Павлюк**

Сравнительная характеристика кардиотропного действия диклофенака и нимесулида при адьювантном артрите у крыс

В статье дана сравнительная характеристика влияния диклофенака и нимесулида на артериальное давление крови и частоту сердечных сокращений у белых крыс с адьювантным артритом. Показаны отличия относительно риска развития нежелательных побочных эффектов со стороны сердечно-сосудистой системы, в частности, гипертензии, на фоне патологического процесса при использовании разных по селективности ингибиторов ЦОГ.

Ключевые слова: диклофенак, нимесулид, кардиотропное действие, адьювантный артрит

**N. A. Mokhort, N. N. Seredinskaya, Z. P. Omelyanenko,
V. S. Khomenko, T. A. Bershova, A. V. Pavliuk**

Comparative study of cardiotropic effects of diclofenac and nimesulide in rats with adjuvant arthritis

The article shows effects of diclofenac on arterial blood pressure and heart rate in white rats with adjuvant arthritis in comparison with that of nimesulide. There were shown the differences for risk of development of cardiovascular events, in particular hypertension against background a pathology process with use the inhibitors that are different in selectivity to COX.

Key words: diclofenac, nimesulide, cardiotropic effects, adjuvant arthritis

Надійшла: 30.07.2012 р.

Контактна особа: Серединська Наталія Миколаївна, докт. мед. наук, головний науковий співробітник, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», вул. Ежена Потье, буд. 14, м. Київ, 03680. Тел.: +38 (044) 456-82-90.

Т. В. Новохацька¹, С. М. Тишкін¹, В. Є. Досенко², А. І. Соловійов¹

Корекція калієвої провідності в гладеньком'язових клітинах аорти щурів з генетично детермінованою гіпертензією шляхом пригнічення експресії гена δ -ізоформи протеїнкінази С

¹ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ²Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України, м. Київ

Ключові слова: калієві канали, артеріальна гіпертензія, РНК-інтерференція, гладенькі м'язи, δ -ізоформа протеїнкінази С

Відомо, що підвищення артеріального тиску при артеріальній гіпертензії визначається, головним чином, двома факторами – серцевим та судинним. Вплив судин на тиск при артеріальній гіпертензії пов'язаний із підвищеним ступенем напруження судинної стінки та периферичним опором.

Крім того, артеріальний тиск (АТ) залежить також від реактивності судин, тобто їхньої здатності реагувати на зміну внутрішньосудинного тону та вазоактивні агенти як агоністи, так і антагоністи.

Відомо, що при артеріальній гіпертензії (АГ) спостерігається явище гіперскорочуваності судинної стінки, тобто підвищення схильності судин до скорочення. Стан скорочуваності та реактивності значною мірою визначається калієвою провідністю мембрани гладеньком'язових клітин (ГМК) судин, оскільки калієві канали контролюють рівень мембранного потенціалу, а як наслідок – скорочення судин, та обмежують їхню надмірну констрикцію [9].

Стан К-провідності пов'язаний зі ступенем активації протеїнкінази С (ПКС) [13]. Встановлено, що при АГ ПКС гіперактивована, а пригнічення її активності маловибірковим блокатором челеритрином нормалізує констрикторну функцію судинної стінки та активність Са-залежних калієвих каналів великої провідності [2, 27].

ПКС є родиною споріднених ферментів, що відрізняються між собою локалізацією в тканинах, механізмами регуляції активності та ферментативною специфічністю. Сьогодні відомо більше десятка ізоформ ПКС. Родину ПКС поділяють на три групи [7]: класичну ПКС (сПКС: α , β_1 , β_2 та γ); нову ПКС (нПКС: ϵ , δ , ζ , η) та атипову ПКС (аПКС: ξ , ι , μ , ν , θ). Для ГМК кровеносних судин найхарактернішими є ПКС- α , β_1 , β_2 , ϵ , δ , ι та μ [21].

При АГ виявлена гіперактивація декількох ізоформ, у тому числі й δ -ізоформи, яку асоціюють з розвитком АГ [10, 23, 31, 32].

Пошук ефективних, високоспецифічних способів інгібування конкретних ізоформ ПКС є досить актуальним на сьогодні, не дивлячись на чисельні дослідження щодо ідентифікації класів сполук – інгібіторів протеїнкінази С [23].

Мета дослідження – аналіз стану основних калієвих каналів у щурів з АГ, а також спроба нормалізувати калієву провідність за допомогою техніки РНК-інтерференції ПКС шляхом використання малих інтерферуєючих РНК (міРНК), так званих «голих міРНК» та міРНК на векторному носії.

Матеріали та методи. Дослідження було проведено на 3-х моделях АГ: 1 – щури з генетично детермінованою гіпертензією (ГДГ) з артеріальним тиском 156 ± 2 мм рт. ст., отримані з віварію Інституту фізіології імені О. О. Богомольця, 2 – щури з артеріальною гіпертензією, індукованою опроміненням (доза 6 Гр, на 30 добу після опромінення) з артеріальним

тиском 161 ± 3 мм рт. ст. [25], 3 – щури з індукованою BK_{Ca} -каналопатією, шляхом введення міРНК специфічних до BK_{Ca} -каналів [1, 26]. Решту експериментів (контрольна група) проводили на здорових статевозрілих самцях (250–300 г) лінії Вістар, отриманих з ПП «Біомодельсервіс». Усі досліди проводили відповідно до вимог Європейської конвенції захисту тварин, що використовуються в експериментальних та інших цілях, та були ухвалені комітетами з етики обох інститутів.

Ізоляція гладеньком'язових клітин аорти щура. Гладеньком'язові клітини виділяли з попередньо очищеної від сполучної тканини й витриманої протягом 5–10 хв у безкальцієвому розчині Кребса торакальної аорти. Склад розчину: (у ммоль/л) 140 NaCl, 5,9 KCl, 2,5 MgCl_2 , 11,5 глюкоза, 10 HEPES (pH 7,4). Сегмент аорти довжиною 1,0–1,5 см розрізали на шматочки розміром 2×2 мм та інкубували протягом 33 хв при температурі 37°C у номінально безкальцієвому розчині Кребса з додаванням колагенази типу IA (2 мг/мл), пронази Е (0,5 мг/мл), сироваткового альбуміну бика (2 мг/мл). Потім шматочки відмивали від ферментів у безкальцієвому розчині, клітини виділяли шляхом багаторазового піпетування. Міоцити, що зберігали в холодильнику при температурі $+5^\circ\text{C}$, залишалися в функціональному стані протягом 4 год.

Електрофізіологія. Вихідні трансмембранні струми вимірювали за допомогою методу фіксації потенціалу в модифікації «whole-cell perforated patch» із використанням антибіотика амфотерицину В. Реєстрацію іонних струмів проводили за допомогою підсилювача Axopatch 200B (Axon Instruments Inc., USA), аналого-цифрового перетворювача (АЦП) Digidata 1200B (Axon Instruments Inc., USA) та програмного забезпечення pClamp Software (V.6.02, Axon Instruments Inc., USA). Сигнал з виходу підсилювача надходив через фільтр низьких частот (частота зрізу 2 кГц) на АЦП і оцифровувався з частотою дискретизації 10 кГц. Типові значення мембранного опору клітин у наших експериментах складали

2–5 ГОм. Макроскопічні струми були нормалізовані до пА/пФ. Індиферентний Ag-AgCl-електрод було розміщено безпосередньо в камері для клітин об'ємом 200 мкл.

Мікропіпетки виготовляли з боросилікатного скла (Clark Electromedical Instruments, Pangbourne Reading, England) та заповнювали розчином наступного складу (у ммоль/л): 140 KCl; 10 NaCl; 1,2 MgCl_2 ; 10 HEPES; 2,5 CaCl_2 ; 11,5 D-глюкоза (pH 7,3); амфотерицин В 250 мкг/мл. Опір піпеток становив 2,5 – 5 МОм. Зовнішній розчин містив (у ммоль/л): 140 NaCl; 5,9 KCl; 2,5 CaCl_2 ; 1,2 MgCl_2 ; 10 HEPES; 11,5 D-глюкоза (pH 7,4).

Виділення РНК. Загальну РНК виділяли з торакальної аорти щура за допомогою набору Trizol RNA-prep (Isogen). Концентрацію РНК визначали за допомогою спектрофотометра NanoDrop ND 1000 (NanoDrop Technologies Inc., USA). Комплементарну ДНК синтезували з використанням Random hexamer праймера та зворотної транскриптази RevertAid™ H Minus (Fermentas, Литва) на однаковій кількості тотальної РНК (1,2–1,5 мкг).

ПЛР у реальному часі в термоциклері 7500 Fast Real-Time PCR System проводили в об'ємі 10 мкл реакційної суміші SYBR Green PCR Master Mix, яка містила по 30 пмоль праймерів для відповідних генів: BK_{Ca} α subunit-S-5'-TAC TTC AAT GAC AAT ATC CTC ACC CT-3', BK_{Ca} α subunit-A-5'- ACC ATA ACA ACC ACC ATC CCC TAA G-3'; Kv 1.5.- S-5'- TTC ATC AAG GAA GAG GAG AAG C -3', Kv 1.5.- A-5'- AGT GTC CTA GGC AAG AGT GGA G -3'; Kir 6.1. S-5'- ACG ATA TCT CAG CCA CTG ACC T -3', Kir 6.1. S-5'- CTC CTC CTC ATG GAG TTG TTT C -3', beta-actin-S-5'-TCA TCA CTA TCG GCA ATG AGC -3' та beta-actin-A-5'- GGC CAG GAT AGA GCC ACC A -3'. Об'єм зразків було доведено до 20 мкл деіонізованою водою.

РНК для специфічного сайленсингу гена PRKCD та KCNMA1 були синтезовані на замовлення фірмою Metabion (Німеччина) і мали наступну послідовність нуклеотидів: PRKCD-S-5'- GGA AAG GUA CUU UGC AAU CUU-3' та PRKCD-A-5'- GAU UGC AAA GUA CCU

UUC CUU; KCNMA1S-5'GUC UGC CAA CAG GGA GAG GUU3' та KCNMA1A-5'GCU CUC CCU GUU GGC AGA CUU3'. Дволанцюгові РНК отримували перед дослідом наступним чином: розчини відповідних сенсових і антисенсових олігонуклеотидів розводили у два рази за допомогою буфера для анелінга наступного складу (у ммоль/л): 100 KCl, 2 MgCl₂, 50 NH₄Ac, 30 HEPES-KOH (pH 7,4). В окрему пробірку вносили рівні об'єми кожного з розчинів і вдвічі менший об'єм буфера. Отриману суміш інкубували протягом 1 хв при 90 °C і протягом 45 хв охолоджували до кімнатної температури в термоциклері «GeneAmp System 2700». Дворазове введення дволанцюгових РНК специфічних до матричної РНК δПКС та ВК_{Ca}-каналів здійснювали у хвостову вену щурів (200 мкг/кг) з 24-год інтервалом.

Статистичну обробку даних виконували за допомогою програми Origin 7.5 (Microcal Software Inc.) з використанням однофакторного дисперсійного аналізу (One-Way ANOVA) та методу Тьюкі за наявності достовірної різниці. Різницю вважали статистично достовірною при $P < 0,05$. Результати представлено у вигляді середнього арифметичного (M) та стандартної похибки середнього арифметичного (m) для певної вибірки (n). Аналіз результатів «whole-cell perforated patch» експериментів було проведено за допомогою програмного забезпечення pCLAMP версія 6.02 (Axon Instruments Inc., США).

Результати та їх обговорення. Ендотеліальні клітини та судинні ГМК експресують чотири основні класи калієвих каналів: 1) потенціалкерovanі канали – K_v; 2) Ca²⁺-керovanі канали, до яких входять канали великої (ВК_{Ca}), середньої (ІК_{Ca}) та малої (СК_{Ca}) провідності; 3) АТФ-чутливі канали сімейства K_{ir6}; 4) калієві канали вхідного випрямлення [5, 30].

Калієві канали широко поширені в судинах різної органної приналежності: мозкових, коронарних, периферичних капілярах, але в різній мірі. К-провідність мембрани ГМК відіграє надзвичайно важливу роль у регуляції мембранного потенціалу та скорочу-

вальної активності судинної стінки. Це пов'язано з тим, що АТ значною мірою визначається не лише серцевим викидом, але й станом скоротливості гладеньких м'язових клітин судинної стінки, регулюється внутрішньоклітинною концентрацією кальцію ([Ca²⁺]_i), що надходить у клітину через активовані потенціалкерovanі Ca²⁺-канали L-типу. У більшості нативних клітин існує функціональна взаємодія за принципом негативного зворотного зв'язку між каналами цього типу і ВК_{Ca}-каналами. У цьому тандемі відкриття кальцієвих каналів будь-яким активуючим агентом призводить до входу Ca²⁺ у клітину і підвищення рівня цитозольного Ca²⁺, що, у свою чергу, індукує відкривання ВК_{Ca}-каналів, вихід калію з клітини та гіперполяризацію мембрани. Внаслідок цього обмежується відкриття потенціалкерovanіх Ca²⁺-каналів і приток іонів Ca у клітину та здійснюється регуляція ступеня скорочення [14, 16, 22, 28]. Таким чином, зменшення функціональної активності ВК_{Ca}-каналів може призвести до неконтрольованого росту внутрішньоклітинної концентрації Ca²⁺ та виникнення гіперскоротливості м'язових клітин.

Декілька типів калієвих каналів (K_v, K_{ir} та ВК_{Ca}) представлені в ГМК щура [19]. Проте основну роль у розвитку вазоконстрикції мають ВК_{Ca}-канали, тому саме їх було обрано як фармакологічну мішень для корекції судинних дисфункцій при розвитку АГ.

Для порівняння ми обрали два основні типи АГ різного генезу: щури з генетично детермінованою гіпертензією та опромінені щури (у дослідженнях, проведених раніше, було встановлено, що такий вплив призводить до розвитку АГ, супроводжується стійким підвищенням АТ та розвитком гіперскорочення судин) [24].

Крім того, було використано модель, що імітує АГ за рахунок тільки гіперскорочення судинної стінки. Єдиною причиною гіперскорочення було пригнічення активності лише одного представника сімейства калієвих каналів – ВК_{Ca}-каналів.

Раніше отримані дані свідчать про те, що за таких умов збільшується чут-

ливість судини до вазоконстриктора адреналіну та зменшується ендотелій-залежне розслаблення на ацетилхолін, що деякою мірою імітувало АГ, хоча і не призводило до достовірного збільшення АТ [1].

К-провідність каналів зазвичай оцінюється в електрофізіологічних експериментах за амплітудою токів через визначені канали або за сумарним струмом. У наших експериментах ми порівнювали вихідні струми в ізольованих гладеньких м'язових клітинах аорти щурів при деполяризуючому зміщенні мембранного потенціалу від підтримуваного потенціалу -60 мВ до $+70$ мВ, котрі зумовлені значною мірою активацією потенціал-залежних калієвих каналів, а також струмами через потенціал незалежні К-канали.

Для виділення з сумарного струму компоненти, яка переноситься через BK_{Ca} -канали, використовували селективний блокатор даних каналів – паксилін, який додавали в зовнішній розчин у концентрації 500 нмоль/л [29].

Дослідження показали зниження щільності сумарного струму вихідного напрямку з ГМК аорти тварин з ГДГ до 25 ± 2 пА/пФ ($n = 19$) порівняно з показником контрольних щурів 52 ± 5 пА/пФ ($n = 8$, $P < 0,05$) (рис. 1). За допомогою селективного блокатора було отримано дані, що свідчать про зменшення вихідного струму в ГМК аорти щурів за рахунок пригнічення паксилін-чутливої компоненти струму, тобто дефіциту провідності через BK_{Ca} -канали з 39 ± 3 пА/пФ ($n = 8$) до 18 ± 2 пА/пФ ($n = 19$) відповідно (рис. 1). Аналогічно при опроміненні – сумарний вихідний струм зменшився з 52 ± 5 пА/пФ ($n = 8$) у здорових щурів до 11 ± 1 пА/пФ ($n = 12$) (рис. 1). В імітаційній моделі після сайленсингу гена *KCNMA1* зменшення сумарного струму

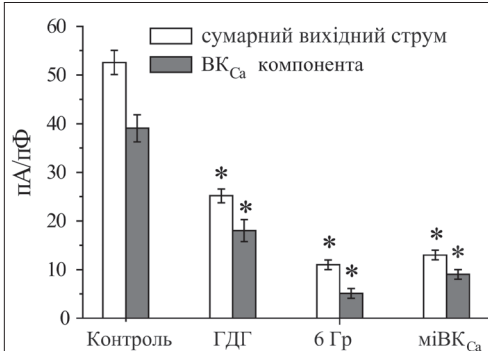


Рис. 1. Компонентний склад вихідних струмів, зареєстрованих у ГМК аорти щурів при потенціалі $+70$ мВ. BK_{Ca} -компонента, чутлива до дії паксиліну (500 нмоль).

Контроль – здорові щури, ГДГ – щури з генетично детермінованою гіпертензією, miBKCa – щури після введення міРНК специфічних до BK_{Ca} -каналів, 6 Гр – щури після опромінення.

Примітка. $n = 8$; * $P < 0,05$ – порівняно з відповідною компонентою струму в контролі ГМК здорових щурів.

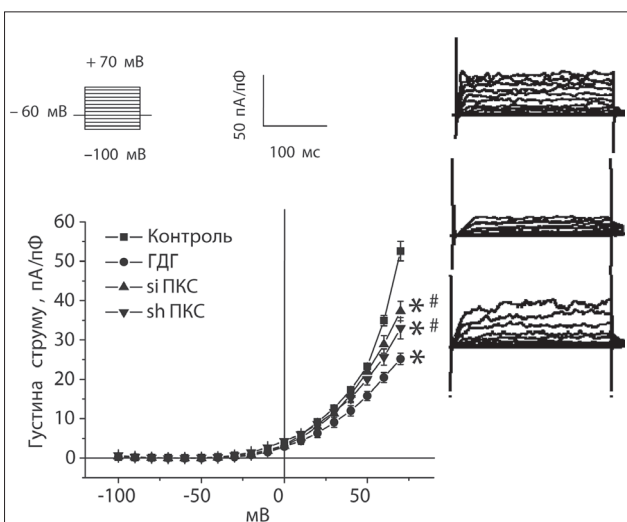


Рис. 2. Вольт-амперні характеристики та оригінальні записи вихідного струму, зареєстрованого в гладеньком'язових клітинах аорти щурів.

Протокол дослідження представлено зверху на рисунку: деполяризуюче зміщення мембранного потенціалу імпульсами тривалістю 300 мс кроком 10 мВ від підтримуваного потенціалу від -60 мВ до $+70$ мВ, викликало струм вихідного напрямку. Контроль – здорові щури, ГДГ – щури з генетично детермінованою гіпертензією, siPKC – щури після введення міРНК специфічних до δ -ізоформи PKC, shPKC – щури після введення міРНК на базі плазмідного вектора специфічних до δ -PKC.

Примітка. $n = 8$; * $P < 0,05$ – порівняно з контролем; # $P < 0,05$ – порівняно з ГДГ.

спостерігали з 52 ± 5 пА/пФ ($n = 8$) до 13 ± 1 пА/пФ ($n = 14$), у той час, як амплітуда паксилін-чутливої $ВК_{Ca}$ -компоненти зменшилася з 39 ± 3 пА/пФ ($n = 8$) до 9 ± 1 пА/пФ ($n = 14$, $P < 0,05$) відповідно (рис. 1), що є доказом успішної інтерференції.

$ВК_{Ca}$ -канали – складні гетероолігомерні білки, утворені тетраметрами пороформуючих α - та регуляторними β_1 -субодиницями, що здійснюють модифікацію ворітних механізмів каналу [14, 16, 17, 22]. Ген Slo (*KCNMA1*), що кодує $ВК_{Ca}$ -канали, уперше було клоновано в *Drosophila melanogaster* та названо Slowpoke (Slo), а після описання Slo2- та Slo3-каналів його було перейменовано в Slo1 [3, 6].

Подальші експерименти було проведено на молекулярному рівні. Було досліджено рівень експресії пороутворюючої α -субодиниці $ВК_{Ca}$ -каналу. Статистично значущих відмінностей експресії α -субодиниці в щурів з ГДГ порівняно з контрольною групою не було виявлено, проте спостерігали тенденцію до зниження рівня експресії даної субодиниці [12] (рис. 3А). Ці результати відповідають даним літератури, де показано, що в щурів з ГДГ пригнічення калієвої провідності відбувається за рахунок пригнічення експресії β -субодиниці $ВК_{Ca}$ -каналу, тоді як рівень експресії α -субодиниці не відрізняється від показників здорових тварин. Проте було показано за допомогою Вестерн-блот аналізу зміни в експресії білка α -субодиниці $ВК_{Ca}$ -каналу [18]. Іншу ситуацію спостерігали на радіаційній моделі АГ, де було зареєстровано виражене пригнічення експресії α -субодиниці в чотири рази порівняно з контролем (рис. 3А).

Виявилось, що експресія Kv каналів достовірно підвищена в щурів з ГДГ у 2 рази порівняно зі здоровими щурами. Ще більш значне підвищення рівня експресії генів у 7 разів спостерігали в групі щурів після опромінення. Неочікуваним виявилось те, що після сайленсингу гена *KCNMA1* та зменшення активності $ВК_{Ca}$ -каналів збільшується рівень експресії гена Kv-каналу в 7 разів (рис. 3Б). Схожі ефекти було

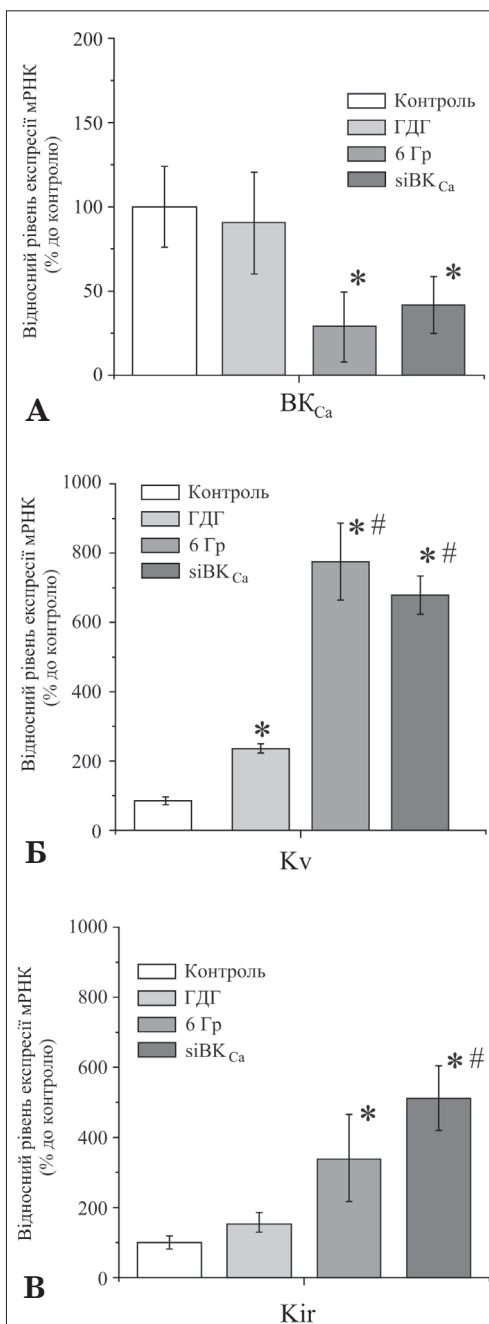


Рис. 3. Експресія мРНК калієвих каналів у гладеньком'язових клітинах аорти щурів (А) $ВК_{Ca}$ -каналів; (Б) Kv-каналів; (В) каналів Kir.

Контроль – здорові щури, ГДГ – щури з генетично детермінованою гіпертензією, 6 Гр – щури після опромінення, siBK – щури після введення міРНК, специфічних до $ВК_{Ca}$ -каналів.

Примітка. Показник експресії калієвих каналів нормовано за рівнем експресії β -актину; $n = 8$;

* $P < 0,05$ – порівняно з контролем;

$P < 0,05$ – порівняно з ГДГ.

зареєстровано після сайленсингу гена KСNMA1 і для АТФ-чутливих калієвих каналів – Kir₆ (рис. 3В).

Було виявлено вагомий приріст рівня експресії гена каналу Kir після сайленсингу гена KСNMA1 у 5 разів. У щурів з ГДГ було виявлено статистично значне збільшення рівня експресії гена каналу Kir у 1,5 разу порівняно з нормою. У групі опроміненних щурів також було виявлено чітке та значне збільшення в 3 рази рівня експресії гена каналу Kir порівняно з нормою (рис. 3В). Таким чином, отримані дані дозволяють зробити висновок про взаємозв'язок різних типів калієвої провідності, коли зменшення одного типу провідності призводить до приросту провідності іншого типу. Отже, можна говорити про наявність компенсаторних механізмів в організмі [26].

Також є свідчення, що калієва провідність пов'язана із ПКС, оскільки регуляція тонуусу гладеньких м'язів судин може здійснюватися також за участю інактивуючого впливу ПКС на Ca²⁺-залежні K⁺-канали плазмалеми ГМК [8]. Як показано в дослідках на гладеньких м'язах легеневої артерії, їхня констрикція внаслідок інактивації Ca²⁺-залежних K⁺-каналів великої провідності (BK_{Ca}) мембрани ГМК опосередкована дією ПКС [4]. Подібні дані, що показують інгібіторний вплив ПКС на BK_{Ca}-канали, отримано на ГМК коронарних артерій свині [15].

У попередніх дослідженнях було виявлено збільшення експресії гена ПКС при АГ різного генезу. Відомо, що при есенційній артеріальній гіпертензії та при опроміненні [20] є гіперактивованою δ-ізоформа ПКС [11]. Ми звернули увагу саме на цю ізоформу, тому що її гіперактивація не пов'язана з підвищенням рівня внутрішньоклітинного Ca²⁺, оскільки вона є кальцій-незалежною [7]. Гіперактивація інших ізоформ може бути малоінформативною, оскільки вони залежать від збільшення концентрації внутрішньоклітинного Ca²⁺ при АГ. Основною гіпотезою роботи було припущення, що зниження активності

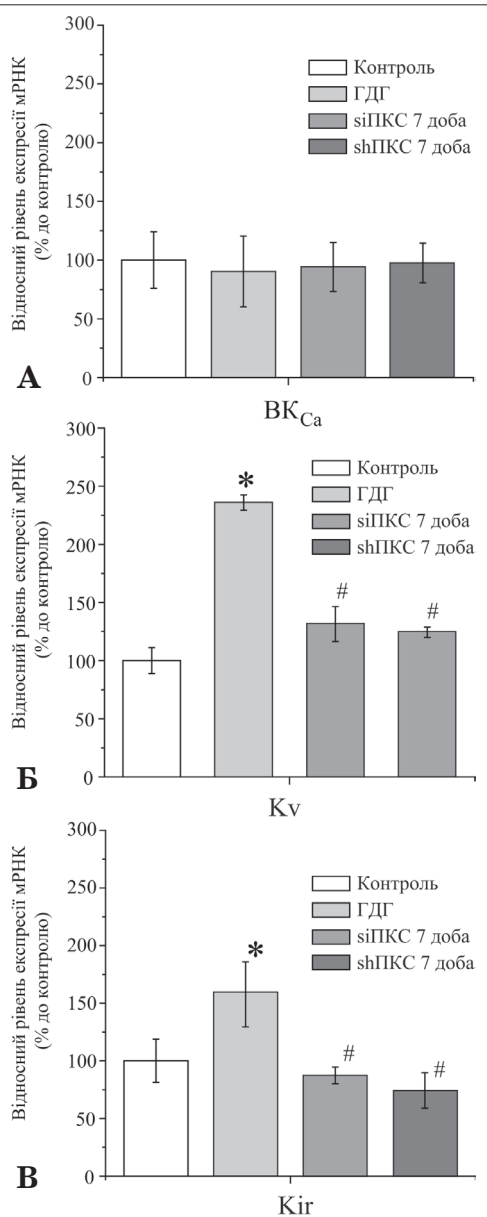


Рис. 4. Вплив пригнічення експресії гена δ-ізоформи ПКС на рівень мРНК калієвих каналів у гладеньком'язових клітинах аорти здорових щурів та щурів з генетично детермінованою гіпертензією на 7-му добу після РНК інтерференції (А) BK_{Ca}-каналів; (В) Kv-каналів; (В) каналів Kir. Контроль – здорові щури, ГДГ – щури з генетично детермінованою гіпертензією, siПКС – щури після введення «голих міРНК», специфічних до δ-ізоформи ПКС, shПКС – щури після введення міРНК на основі плазмідного вектора, специфічних до δ-ізоформи ПКС.

Примітка. Показник експресії δПКС нормовано за рівнем експресії β-актину; n = 8; * P < 0,05 – порівняно з контролем; # P < 0,05 – порівняно з ГДГ.

δПКС може знизити гіперскорочення судин за рахунок нормалізації калієвої провідності мембрани.

Пригнічення рівня експресії δПКС було реалізовано за допомогою новітнього методу в фармакогеноміці – РНК-інтерференції, шляхом пост-трансляційного сайленсингу гена PRKCD. Як модель АГ були використані щури з ГДГ. Оскільки малі інтерферуєчі РНК (міРНК) є досить нестабільними та нестійкими до дії нуклеаз, було використано два способи РНК-інтерференції: внутрішньовведення «голих міРНК» та введення міРНК на основі плазмідного вектора, який забезпечує більшу стабільність та має вищу ефективність трансфекції. Було встановлено, що обидва методи мають однакову ефективність (рис. 2).

При застосуванні РНК-інтерференції обома способами на 7 добу після введення міРНК рівень експресії BK_{Ca} -каналів практично досягнув контрольних значень, характерних для групи здорових тварин (рис. 4А). Аналогічну картину спостерігали і при визначенні експресії генів K_v - та K_{ir} -каналів (рис. 4Б, В). Рівень експресії даних каналів достовірно знижувався та в межах статистичної похибки не відрізнявся від контрольних величин. Таким чином, можна зробити висновки щодо нормалізації калієвої провідності плазматичної мембрани при зниженні активності δПКС за допомогою сайленсингу гена PRKCD. Підтвердженням є те, що при застосуванні обох методів інтерференції вихід-

ний калієвий струм також частково нормалізувався, його величина збільшилася й складала при потенціалі $+70$ мВ $37,0 \pm 2,5$ пА/пФ та $33,0 \pm 2,7$ пА/пФ для «голих міРНК» та міРНК на векторному носії відповідно. Оригінальні записи вихідного току та відповідні вольт-амперні характеристики представлено на рисунку 2.

Таким чином, отримані результати свідчать, що при розвитку АГ відбувається пригнічення сумарної калієвої провідності мембрани ГМК судинної стінки. Це пригнічення відбувається переважно за рахунок BK_{Ca} -компоненти. Можливо це й є однією з причин формування феномена гіперскорочення судин, характерного для стану АГ. При цьому спостерігається компенсаторне збільшення інших типів калієвої провідності, зокрема, потенціал-залежної та АТФ-залежної провідності, проте ступінь цієї компенсації не є достатнім для повного відновлення нормального функціонування стану мембрани.

Гіперактивація δПКС при АГ корелює з пригніченням калієвої мембранної провідності. Зниження активності δПКС шляхом РНК-інтерференції та використання міРНК призводить до часткової нормалізації калієвої провідності мембрани. Таким чином, застосування міРНК для зменшення гіперактивації δПКС при АГ в обох випадках може стати корисним засобом корекції рівня тонічної напруги судинної стінки – одного з головних факторів, що визначають артеріальний тиск.

1. siRNA індукований сайленсинг генів – сподівання та перспективи використання в сучасній фармакології та фізіології: спроба з'ясувати роль BK_{Ca} каналопатії в розвитку артеріальної гіпертензії / С. В. Кириченко, С. М. Тишкін, В. Є. Досенко [та ін.] // Журнал Акад. мед. наук України. – 2009. – Т. 15, № 2. – С. 386–398.
2. Павлова О. О. Вплив блокади протеїнкінази С на зміни Ca^{2+} -чутливості скоротливого апарату судинних гладеньких м'язів при вазоспастичних станах різного генезу / О. О. Павлова, В. Ф. Сагач, А. І. Соловйов // Фізіол. журн. – 2003. – Т. 49, № 6. – С. 31–37.
3. Atkinson N. S. A component of calcium-activated potassium channels encoded by the *Drosophila slo* locus / N. S. Atkinson, G. A. Roberston, B. Ganetzky // Science. – 1991. – V. 253. – P. 551–555.
4. Barman S. A. PKC activates BK_{Ca} channels in rat pulmonary arterial smooth muscle via cGMP-dependent protein kinase / S. A. Barman, S. Zhu, R. E. White // Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. – 2004. – V. 286. – P. L1275 – L1281.
5. Brayden J. E. Potassium channels in vascular smooth muscle / J. E. Brayden // Clin Exp Pharmacol Physiol. – 1996. – V. 23 (12). – P. 1069–1076.
6. mSlo, a complex mouse gene encoding «maxi» calcium-activated potassium channels / A. Butler, S. Tsunoda, D. P. McCobb [et al.] // Science. – 1993. – V. 261. – P. 221–224.

7. Protein kinase C isozymes and the regulation of diverse cell responses / E. C. Dempsey, A. C. Newton, D. Mochley-Rosen [et al.] // *Am. J. Physiol.*– 2000.– V. 279.– P. L429 – L438.
8. Guo M. Upregulation of PKC genes and isozymes in cardiovascular tissues during early stages of experimental diabetes / M. Guo, M. H. Wu, F. Korompai, S. Y. Yuan // *Physiol. Genomics.*– 2003.– V. 12.– P. 139–146.
9. Jackson W. F. Potassium channels and proliferation of vascular smooth muscle cells / W. F. Jackson // *Circ Res.*– 2005.– V. 97 (12).– P. 1211–1212.
10. Protein kinase C isozymes in hypertension and hypertrophy: insight from SHHF rat hearts / D. Johnsen, R. Kacimi, B. Anderson [et al.] // *Mol Cell Biochem.*– 2005.– V. 270 (1-2).– P. 63–69.
11. Kanashiro L. Gender-related distinctions in protein kinase C activity in rat vascular smooth muscle / L. Kanashiro, R. Khalil // *Am J Physiol Cell Physiol.*– 2001.– V. 280.– P. C34–C45.
12. Molecular and electrophysiological characteristics of K⁺ conductance sensitive to acidic pH in aortic smooth muscle cells of WKY and SHR / H. Kiyoshi, D. Yamazaki, S. Ohya [et al.] // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*– 2006.– V. 291 – P. H2723 – H2734.
13. Kubo M. Angiotensin II inhibition of ATP-sensitive K⁺ currents in rat arterial smooth muscle cells through protein kinase C / M. Kubo, J. M. Quayle, N. B. Standen // *J. Physiol. (Lond.).*– 1997.– V. 503.– P. 489–496.
14. Ledoux J. Calcium-activated potassium channels and the regulation of vascular tone / J. Ledoux, M. E. Werner, J. E. Brayden [et al.] // *Physiology.*– 2006.– V. 21.– P. 69–78.
15. Activation of protein kinase C alpha and/or epsilon enhances transcription of the human endothelial nitric oxide synthase gene / H. Li, S. A. Oehrlein, T. Wallerath [et al.] // *Mol. Pharmacol.*– 1998.– V. 53.– P. 630–637.
16. Lu R. MaxiK channel partners: physiological impact / R. Lu, A. Alioua, Y. Kumar [et al.] // *J. Physiol.*– 2006.– V. 570.– P.65–72.
17. Functional role of the beta subunit of high conductance calcium-activated potassium channels / O. B. McManus, L. M. Helms, L. Pallanck [et al.] // *Neuron.*– 1995.– V. 14.– P. 645–650.
18. Nancy J. Rusch BK channels in cardiovascular disease: a complex story of channel dysregulation / J. Nancy // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*– 2009.– V. 297 – P. H1580–H1582.
19. Nelson M. Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle / M. Nelson, J. Quayle // *American Physiological society.*– 1995.– inveted review.
20. Novokhatska T. Target-specific siRNA to protein kinase C delta isoform gene expression normalize vascular function in SHRs / T. Novokhatska, I. Ivanova, S. Tishkin [et al.] // *Acta Physiologica* 2011, Istanbul, Turkey, Joint Congress of FEPS and Turkish Society of Physiological Sciences.– 2011.– V. 203, Sup.686.
21. Ohanian V. Identification of protein kinase C isoforms in rat mesenteric small arteries and their possible role in agonist-induced contraction / V. Ohanian, J. Ohanian, L. Shaw [et al.] // *Circ. Res.*– 1996.– V.78.– P.806 – 812.
22. New disguises for an old channel: Maxi K channel β -subunit / P. Orio, P. Rojas, G. Ferreira [et al.] // *News Physiol. Sci.*– 2002.– V. 17.– P. 151–161.
23. Sabri A. Protein kinase C isoform-selective signals that lead to cardiac hypertrophy and the progression of heart failure / A. Sabri, S. Steinberg // *Mol Cell Biochem.*– 2003.– V. 251.– P. 97–101.
24. Ionizing radiation alters myofilament calcium sensitivity in vascular smooth muscle: Potential role of protein kinase C / A. Soloviev, S. Tishkin, S. Zelensky [et al.] // *Am. J. Physiol. Regulatory, Integrative, and Comparative Physiology.*– 2005.– V. 289.– P. R755–R762.
25. Soloviev A. I. Saline containing phosphatidylcholine liposomes possess the ability to restore endothelial function damaged resulting from γ -irradiation / A. I. Soloviev, A. V. Stefanov, S. M. Tishkin // *J. Physiol. Pharmacol.*– 2002.– V. 53, № 4.– P. 701–712.
26. The BK_{Ca} channels deficiency as a possible reason for vascular radiation induced hypercontractility development / A. Soloviev, S. Tishkin, S. Kyrychenko [et al.] // *Vascular Pharmacology.*– 2012.– V. 56.– P. 142–149.
27. Soloviev A. The contractile apparatus in vascular smooth muscle cells of spontaneously hypertensive rats possess increased calcium sensitivity: the possible role of protein kinase C / A. Soloviev, S. Bershtein // *J. of Hypertens.*– 1992.– V. 10.– P. 131–136.
28. Tanaka Y. MaxiK channel roles in blood vessel relaxations induced by endothelium-derived relaxing factors and their molecular mechanisms / Y. Tanaka, K. Koike, L. Toro // *J. Smooth Muscle Res.*– 2004.– V. 40.– P. 125–153.
29. Wei A. International union of pharmacology. III. Nomenclature and molecular relationships of calcium-activated potassium channels / A. Wei, G. Gutman, R. Aldrich // *Pharmacol. Rev.*– 2005.– V. 57.– P. 463 – 472.
30. Wu S. The BK potassium channel in the vascular smooth muscle and kidney: α - and β -subunits / S. Wu, S. Marx // *Roland Kidney International.*– 2010.– V. 78.– P. 963–974.
31. Xin Gu. Increased protein kinase C and isozyme redistribution in pressure-overload cardiac hypertrophy in the rat / G. Xin, P. Sanford // *Circulation research.*– 1994 – V. 75, № 5.
32. Protein kinase C delta mediates arterial injury responses through regulation of vascular smooth muscle cell apoptosis / D. Yamanouchi, K. Kato, E. Ryer [et al.] // *Cardiovascular Research.*– 2010.– V. 85.– P. 434–443.

Т. В. Новохацкая, С. М. Тишкин, В. Е. Досенко, А. И. Соловьев
Коррекция калиевой проводимости в гладкомышечных клетках аорты крыс с генетически детерминированной гипертензией при помощи РНК интерференции δ -изоформы протеинкиназы C

В опытах на крысах с тремя моделями артериальной гипертензии изучена роль разных типов калиевых каналов в повышении артериального давления. Главным заданием работы есть анализ состояния основных калиевых каналов у крыс при артериальной гипертензии, а также попытка нормализовать калиевую проводимость при помощи РНК-интерференции протеинкиназы C путем использования малых интерферирующих РНК (миРНК) и миРНК на векторном носителе. При помощи метода фиксации потенциала в модификации «whole-cell perforated patch» продемонстрировано частичное восстановление функции BK_{Ca} -каналов в гладкомышечных клетках аорты. Амплитуда исходящего тока, активированного смещением мембранного потенциала от -60 мВ до +70 мВ, увеличилась, оставаясь, однако, меньше контрольных значений. Увеличение экспрессии мРНК K^{+} -каналов других типов свидетельствуют о развитии компенсаторного механизма вазодилатации. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности использования метода блокирования экспрессии генов ПКС для коррекции состояния калиевых каналов при разных типах артериальной гипертензии.

Ключевые слова: калиевые каналы, артериальная гипертензия, РНК-интерференция, гладкие мышцы, δ -изоформа протеинкиназы C

T. Novokhatska, S. M. Tishkin, V. E. Dosenko, A. I. Soloviev
Potassium conductance correction via protein kinase C delta isoform RNA-interference in smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rat aorta

The goal of this study was to establish the changes in potassium channels activity and mRNA expression in different types of vascular smooth muscles (SM) at arterial hypertension and to make an attempt to reduce contractile vascular abnormalities and ionic channelopathy in SHR using small interfering RNAs (siRNAs) and vector-based siRNAs specific to δ PKC. Experimental design of the study comprised RT-PCR, patch-clamp technique, non-invasive systolic blood pressure measurement. To investigate the effect on outward K-currents, patch-clamp technique in “whole-cell perforated patch” modification was used. It was shown that outward ionic currents amplitude at +70 mV was decreased in SM cells from hypertensive rats compared to healthy rats, while δ -PKC RNA interference led to a significant increase in a large conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channels current density amplitude. Increased expression in Kv and Kir_6 channels mRNA in hypertension reflects compensatory mechanism in potassium conductance. It may be likely that siRNAs is a good approach to inactivate PKC gene encoding function and to normalize vascular tone damaged in arterial hypertension.

Key words: potassium channels, arterial hypertension, RNA-interference, smooth muscles, protein kinase C δ -isoform

Надійшла: 02.07.2012 р.

Контактна особа: Новохацька Тетяна Василівна, аспірант, відділ експериментальної терапії, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», вул. Ежена Потье, буд. 14. м. Київ.
Тел.: +38 (044) 456-02-88.

Г. І. Степанюк¹, О. Ю. Тозюк¹, О. Ю. Воскобойнік²,
С. І. Коваленко², Н. Г. Чорноіван¹

Скринінг актопротекторної активності в ряду нових похідних 5-R-тіо-тетразоло [1,5-с]хіназоліну

¹Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова

²Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: актопротекторна активність, похідні 5-R-тіо-тетразоло [1,5-с]хіназоліну, бемітил

Професійна діяльність сучасної людини нерідко супроводжується впливом несприятливих фізико-хімічних та інформаційно-семантичних факторів. Як наслідок розвиваються гіпоксії різного генезу, гіпокінезія, фізичні та розумові перевантаження, стресові ситуації тощо [10], виснажується енергетичний потенціал і захисні сили організму людини, що, у першу чергу, проявляється швидким настанням втоми та зниженням працездатності, а в подальшому – розвитком дезадаптації організму та формуванням захворювання [4, 7]. Враховуючи можливість виникнення патологічних станів, одним із пріоритетних напрямів сучасної медицини є підвищення фізичної витривалості людського організму за звичайних та, особливо, ускладнених умов [1, 9].

Натепер крім традиційних методів корекції функціонального стану організму (психологічно-фізіологічні, фізіологічно-гігієнічні, рефлексотерапевтичні) широко використовуються і фармакологічні методи [2, 10]. Саме за допомогою фармакологічних препаратів є можливість не лише швидко усунути наслідки впливу екстремальних факторів, але й попередити їхнє виникнення, використовуючи препарати з профілактичною метою. Найперспективнішими в цьому плані вважають актопротектори – препарати, яким притаманна властивість активізувати психічну та фізичну діяльність, підвищувати працездатність, зменшувати втому. Проте арсенал таких засобів обмежений похідними бензімідазолу (бемітил, метапрот) та адамантану (бромантан, ладастен), що виробляються в Росії та не зареєстровані в Україні. Разом із тим,

указані препарати мають побічні ефекти (алергію, зміну поведінкових реакцій), а бромантан до того ж віднесений до допінгових препаратів [6, 8]. За даними літератури жоден із указаних фармакологічних засобів повною мірою не відповідає вимогам спеціалістів, що разом із наявністю побічних реакцій, обмежує їхнє широке використання в клініці [1, 6, 12].

У зв'язку з цим беззаперечною є необхідність пошуку нових речовин з актопротекторною активністю для створення більш ефективних та безпечних лікарських засобів, придатних для підвищення фізичної витривалості людського організму, особливо за екстремальних умов.

У цьому плані представляє інтерес вивчити і охарактеризувати актопротекторні властивості нових похідних 5-R-тіо-тетразоло [1,5-с]хіназоліну, у структурних аналогів яких у попередніх дослідженнях було виявлено церебропротекторну дію (окремі речовини викликали зниження показника летальності та відстрочували загибель щурів з експериментальним гострим порушенням мозкового кровообігу) [11].

Мета дослідження – провести скринінг актопротекторної активності в ряду нових похідних 5-R-тіо-тетразоло [1,5-с]хіназоліну, виявити сполуки-лідери, придатні для подальшого поглибленого вивчення їхніх фармакологічних властивостей.

Матеріали та методи. Дослідження проведено на 109 нелінійних білих щурах обох статей, яких утримували у віварії Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова на стандартному водно-харчовому раціоні при вільному доступі до води та їжі. Контрольна група сформована з 13 особин, решта тварин були розподілені на 16 груп по 6 особин у кожній. Для дослідження взято 15 похідних 5-R-тіо-тетразоло [1,5-с]хіназоліну

(лабораторні шифри наведено в таблиці), синтезованих у Запорізькому державному медичному університеті під керівництвом професора С. І. Коваленка. Фізичну витривалість визначали за тестом плавальної проби з додатковим навантаженням (10 % від маси тіла щура) за умов нормотермії (24–26 °C) [3, 10]. Реєстрували тривалість плавання до появи ознак повної втоми. Досліджувани речовини у вигляді водної суспензії (з додаванням твіну-80) вводили одноразово внутрішньочеревинно (в/ч) за 30 хв до тестування в дозах 10 мг/кг, сполуки KB-10 і KB-28 розчиняли в ізотонічному розчині натрію хлориду. Ефективність досліджуваних речовин порівнювали з дією еталонного актопротектора бемітилу в дозі 50 мг/кг, що за даними літератури [5] справляє найвиразніший актопротекторний ефект. Тварини контрольної групи отримували еквівалентну кількість ізотонічного розчину натрію хлориду з твіном-80. Обробку цифрових даних проводили за методом варіаційної статистики з визначенням t-критерію Ст'юдента, вірогідними вважали зміни показників при $P \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. Із даних, наведених у таблиці, видно, що переважна більшість нових похідних 5-R-тіо-тетразоло [1,5-с]хіназоліну, за винятком сполуки KB-20, як і бемітил, вірогідно

підвищували фізичну витривалість тварин. Це проявлялося збільшенням показника тривалості плавання щурів, що може бути ознакою наявності в досліджуваних речовин актопротекторної активності. У найбільшій мірі ця властивість притаманна сполукам з лабораторними шифрами KB-10, KB-28, KB-31, KB-34, KB-44, KB-55 та KB-110: на тлі їхньої дії тривалість плавання вірогідно зростала відносно контролю на 204 %, 274 %, 148,5 %, 227 %, 145,5 %, 117 %, 238 % та 120,5 % проти 140,7 % у бемітилу.

За величиною актопротекторного ефекту сполуками-лідерами в даному дослідженні виявилися похідні 5-R-тіо-тетразоло [1,5-с]хіназоліну з лабораторними шифрами KB-10, KB-28, KB-34, KB-54 та KB-55, які підвищували фізичну витривалість організму в 1,3–2 рази краще, ніж еталонний актопротектор.

Слід також зазначити, що похідні 5-R-тіо-тетразоло [1,5-с]хіназоліну є більш активними актопротекторними засобами, ніж бемітил, оскільки проявляли таку саму або більшу, ніж у референс-препарату, дію в 5 разів менших дозах.

Разом з тим, у ході проведених досліджень встановлено наявність побічної дії в похідних 5-R-тіо-тетразоло [1,5-с]хіназоліну – судомні скорочення черевинних м'язів у щурів, що проявлялося, подібно

Таблиця

Вплив похідних 5-R-тіо-тетразоло [1,5-с]хіназоліну та бемітилу на тривалість плавальної проби щурів при $t = 24\text{--}26\text{ }^{\circ}\text{C}$, ($M \pm m$)

Лабораторні шифри сполук	Тривалість плавання, хв	Зміни відносно контролю, %
Контроль (n = 13)	$6,04 \pm 0,39$	—
KB-10 (n = 6)	$18,34 \pm 0,85^{* \#}$	+ 204
KB-20 (n = 6)	$8,33 \pm 0,94$	+ 38
KB-23 (n = 6)	$11,07 \pm 1,50^{*}$	+ 83
KB-28 (n = 6)	$22,59 \pm 1,50^{* \#}$	+ 274
KB-31 (n = 6)	$15,01 \pm 0,84^{*}$	+ 148,5
KB-34 (n = 6)	$19,76 \pm 1,67^{* \#}$	+ 227
KB-40 (n = 6)	$11,99 \pm 1,41^{*}$	+ 98,5
KB-41 (n = 6)	$14,83 \pm 1,39^{*}$	+ 145,5
KB-44 (n = 6)	$13,09 \pm 0,07^{*}$	+ 117
KB-51 (n = 6)	$10,82 \pm 1,10^{*}$	+ 79
KB-54 (n = 6)	$28,43 \pm 1,10^{* \#}$	+ 119,5
KB-55 (n = 6)	$20,41 \pm 2,30^{* \#}$	+ 238
KB-56 (n = 6)	$10,89 \pm 1,50^{*}$	+ 80
KB-83 (n = 6)	$10,64 \pm 1,00^{*}$	+ 76
KB-110 (n = 6)	$13,32 \pm 0,86^{*}$	+ 120,5
Бемітил (n = 6)	$14,54 \pm 1,38^{*}$	+ 140,7

Примітка. * $P \leq 0,05$ відносно контролю; # $P \leq 0,05$ відносно бемітилу.

до оцтовокислих «корчів», витягуванням задніх кінцівок тварин та прогинанням спини. Це стосується сполук з лабораторними шифрами КВ-31, КВ-34, КВ-40, КВ-41, КВ-54 та КВ-110, які, на нашу думку, не придатні для подальших досліджень.

Висновки

1. Похідним 5-R-тіо-тетразоло [1,5-с]хіназоліну в дозах 10 мг/кг, як і бемітилу (50 мг/кг), притаманна актопротекторна активність, що проявлялася збільшенням трива-

лості плавального тесту за умов нормотермії.

2. Найбільша за величиною актопротекторна дія виявлена у сполук з лабораторними шифрами КВ-10, КВ-28, КВ-34, КВ-54 та КВ-55, які за ефективністю в дозах 10 мг/кг переважали бемітил (50 мг/кг) у 1,3–2 рази.
3. Сполуки-лідери КВ-10, КВ-28 та КВ-55 представляють інтерес для поглибленого вивчення їхніх фармакологічних властивостей та безпеки на предмет створення на їхній основі нового актопротекторного засобу.

1. Бемитил (bemitylum) – антигипоксанти, актопротектор: фармакологические эффекты и клиническое применение в медицине: Информ. бюл. / Э. С. Питкевич, М. О. Лозинский, А. Н. Лызики [и др.]. – К., 2001. – 44 с.
2. Буланов Ю. Б. Анаболические средства / Ю. Б. Буланов. – М., 1993. – 57 с.
3. Головенко М. Я. Експериментальне вивчення ноотропної активності фармакологічних сполук: методичні рекомендації ДФЦ МОЗУ / М. Я. Головенко. – К.: Авіцена, 2002. – 18 с.
4. Каплан Е. Я. Оптимизация адаптивных процессов организма / Е. Я. Каплан, О. Д. Цыренжапова, Л. Н. Шантанова. – М.: Наука, 1990. – 94 с.
5. Лонська О. П. Експериментальне дослідження актопротекторної активності нових похідних адамантану: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 14.03.05. «Фармакологія» / О. П. Лонська; Одес. держ. мед. ун-т. – Одеса, 2008. – 26 с.
6. Машковский М. Д. Лекарственные средства / М. Д. Машковский. – М.: Новая волна, 2006. – 1206 с.
7. Міщенко О. Я. Актопротекторна активність нового комбінованого засобу «Апітар» / О. Я. Міщенко, О. І. Тихонов, С. А. Гращенкова [та ін.] // Фармацевтичний часопис. – 2011. – № 2. – С. 79–82.
8. Сейфулла Р. Д. Фармакологическая коррекция факторов, лимитирующих работоспособность человека / Р. Д. Сейфулла // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 1998. – Т. 61, № 1. – С. 3–12.
9. Стратиенко Е. Н. Поиск и изучение новых химических соединений, повышающих физическую работоспособность: автореф. дис. на соискание уч. степени докт. мед. наук: спец. 14.00.25. «Фармакология» / Е. Н. Стратиенко. – М., 2003. – 32 с.
10. Фармакологическая коррекция физической работоспособности: под ред. Н. Н. Самойлова. – М.: «Зеркало», 2002. – 120 с.
11. Ходаківський О. А. Нейропротекторна дія похідних 4-оксо(аміно)-хіназоліну при експериментальній ішемії головного мозку: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 14.03.05. «Фармакологія» / О. А. Ходаківський; Одес. держ. мед. ун-т. – Одеса, 2009. – 21 с.
12. Цублова Е. Г. Изучение психоэмоционального статуса лабораторных животных под влиянием химического соединения с актопротекторной активностью / Е. Г. Цублова // Фундаментальные проблемы фармакологии: 2 съезд Рос. научного об-ва фармакологов. Ч. I. – М., 2003. – С. 267.

Г. И. Степанюк, Е. Ю. Тозюк, А. Ю. Воскобойник, С. И. Коваленко, Н. Г. Черноиван Скрининг актопротекторной активности в ряду новых производных 5-R-тіо-тетразоло [1,5-с]хіназолина

В опытах на крысах установлено, что однократное введение животным исследуемых веществ в дозе 10 мг/кг внутрибрюшинно так же, как и бемитила (50 мг/кг), сопровождается повышением физической выносливости организма. Об этом свидетельствует увеличение показателя плавательного теста (24–26 °С). Обнаружено 4 соединения-лидера, которые по степени актопротекторного действия превосходят бемитил в 1,3–2 раза.

Ключевые слова: актопротекторная активность, производные 5-R-тіо-тетразоло [1,5-с]хіназолина, бемитил

G. I. Stepanyuk, E. Y. Tozyuk, O. Y. Voskoboinik, S. I. Kovalenko, N. G. Chornoivan Screening of actoprotective activity in a series of new derivatives 5-R-thio-tetrazolo [1,5-c]quinazoline

Experiments on rats showed that a single intraperitoneal injections of a studying substances (10 mg/kg) increased physical endurance of the organism, as well as bemityl (50 mg/kg) did. This was defined by increasing of the swimming test index in water with t 24–26 °C. During the experiment 4 substances-leaders were found. Their actoprotective action is 1,3–2 times higher than bemityl's one.

Key words: actoprotective activity, derivatives 5-R-thio-tetrazolo [1,5-c]quinazoline, bemityl

Надійшла 26.07.2012 р.

Контактна особа: Степанюк Георгій Іванович, д. мед. н., професор, завідувач кафедри фармакології ВНМУ ім. М.І. Пирогова, вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018. Тел.: +38 (0432) 61-14-00. E-mail: farm_vnmu@mail.ru

З. С. Суворова, Н. О. Вринчану

Чутливість біоплівок *Pseudomonas aeruginosa* до дії похідних алкоксіамінопропанолу

ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

Ключові слова: біоплівки, мікроорганізми, *Pseudomonas aeruginosa*, похідні алкоксіамінопропанолу, антибіотики

Одними з розповсюджених збудників нозокоміальних інфекцій є грам-негативні неферментуючі бактерії, представники родів *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Chryseobacterium*. Неферментуючі бактерії (НБ) широко розповсюджені в природі, їх можна виділити з різних джерел навколишнього середовища, ґрунту, водойм тощо. Ці мікроорганізми здатні зумовити гнійно-запальні процеси в людей із порушенням функції імунної системи, у хворих зі злоякісними пухлинами, пацієнтів, яким призначали антибіотикотерапію та ін. Одним із представників грамнегативних неферментуючих бактерій є синьогнійна паличка, здатна викликати різноманітні захворювання, головним чином, нозокоміальні інфекції [1, 2].

P. aeruginosa характеризується значною стійкістю до антимікробних препаратів. Так, аналіз чутливості 178 штамів, виділених від хворих, що знаходилися на лікуванні у стаціонарах різних профілів (дитячих, відділеннях реанімації та інтенсивної терапії, пологових будинках тощо), показав, що найбільша кількість стійких штамів синьогнійної палички (близько 30 %) реєструється саме у відділеннях реанімації та інтенсивної терапії. У стаціонарах цього профілю кількість меропенемстійких штамів *P. aeruginosa* складала 42,5 %, імпенемстійких – більше 50,0 %, до обох препаратів нечутливими виявилися 32,4 % виділених штамів бактерій. Продуценти метало-бета-лактамаз складала 19,1 % усіх досліджених та 30,3 % карбапенемстійких

культур. Установлено, що в геномі цих штамів присутні гени *bla-vim2* [3].

Стійкість до сучасних антимікробних препаратів синьогнійній паличці забезпечують: ферментативна інактивація препарату, наявність альтернативних метаболічних шляхів, порушення проникності зовнішніх структур мікробної клітини, зміна мішені дії, активація механізму ефлюкса тощо [4, 5].

У клінічній практиці мікроорганізми все частіше спостерігаються у вигляді спільнот мікроорганізмів – біоплівок. Такі спільноти зумовлюють різноманітні гнійно-запальні процеси, сприяють хронізації процесу, призводять до тяжких наслідків (генералізації, летальності), збільшують тривалість перебування хворих у стаціонарі та потребують значних матеріальних затрат.

Мікроорганізми у формі біоплівок (монокультура, мікробні асоціації) характеризуються високим ступенем резистентності до дії антимікробних засобів. Біоплівки стійкі до дії всіх сучасних антибіотиків у нетоксичних для організму людини дозах. Натепер у клінічній практиці препарати для лікування захворювань, обумовлених біоплівками, відсутні.

Підвищену стійкість до сучасних антимікробних засобів біоплівці забезпечує її структура та фізіологічні властивості [6, 7]. Біоплівка вкрита полімерним матриксом, її структура пронизана водними каналами, що транспортують поживні речовини та видаляють продукти метаболізму. Полімерний матрикс, що вкриває біоплівку, забезпечує захист від негативного впливу зовнішніх факторів, у тому числі від дії антибіотиків. Всередині біоплівки клітини гетерогенні за градієнтом кисню, рН, швидкістю росту тощо.

Значне збільшення кількості резистентних штамів мікроорганізмів, зни-

ження ефективності сучасних антимікробних засобів, відсутність препаратів для лікування патологій, обумовлених біоплівками, актуалізує скринінгові дослідження з метою виділення активних сполук та створення на їхній основі ефективних антимікробних препаратів.

Пошук активних молекул здійснюється серед речовин природного та синтетичного походження. У цьому плані на увагу заслуговують похідні алкоксіамінопропанолу, які виявляють широкий спектр біологічної активності, зокрема, антимікробної.

Мета дослідження – вивчити активність нових похідних алкоксіамінопропанолу відносно біоплівок синьогнійної палички.

Матеріали та методи. Експерименти проведено з використанням еталонного тест-штаму *P. aeruginosa* ATCC 27853 та клінічного штаму *P. aeruginosa* 46, виділеного від хворого гнійно-запальним процесом.

Культура *P. aeruginosa* 46 виявила чутливість до дії ципрофлоксацину, амікацину, гентаміцину, резистентна до цефотаксиму, цефепіму, тетрацикліну та меропенему.

Чутливість синьогнійної палички до дії похідних алкоксіамінопропанолу визначали методом серійних розведень і оцінювали за показником мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) [8]. Щільність інокуляту складала 10^5 КУО/мл поживного середовища. Експерименти проведено з використанням поживного бульйону Мюллера-Хінтон.

Здатність похідних алкоксіамінопропанолу впливати на процес формування біоплівки досліджували на 1- та 3-добових культурах бактерій, порушувати сформовані біоплівки – на 1-добовій культурі мікроорганізмів. Дослідження проведено в пластикових планшетах для імуноферментного аналізу [9]. Сполуки (для попередження плівкоутворення) вносили одночасно із внесенням бактерій, для визначення впливу на сформовані біоплівки – через 24 год після внесення культури мікроорганізмів. Щільність інокуляту складала 10^7 КУО/мл поживного середовища. Планшети інкубували в термостаті

впродовж 24 год при 37 °С. Після закінчення терміну інкубації вносили 0,1 % розчин генціанвіолету на 45 хв. Після промивання лунок дистильованою водою здійснювали екстракцію барвника 96,0 % розчином етанолу. Виміри оптичної щільності проводили на мікробіологічному аналізаторі ELx800 (BioТуК, США). Контролем була культура *P. aeruginosa* 46.

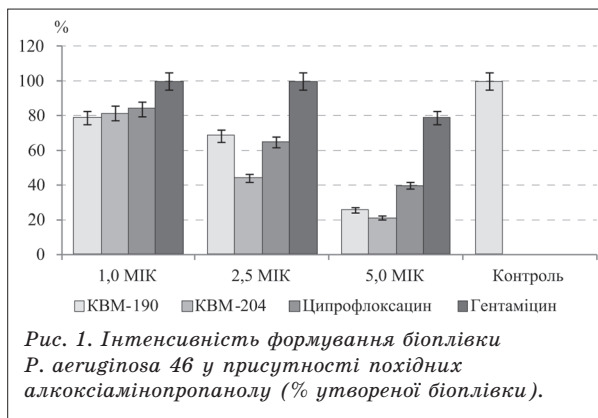
Сполуки синтезовані в Інституті органічної хімії НАН України канд. фарм. наук Ю. В. Коротким. Препаратами порівняння в дослідженні були: «Гентаміцин» виробництва ЗАТ «ФФ» Дарниця» та «Ципрофлоксацин», виробництва ВАТ «Київмедпрепарат».

Результати та їх обговорення. Проведеними дослідженнями встановлено, що МІК сполук КВМ-190 і КВМ-204 відносно еталонного тест-штаму *P. aeruginosa* ATCC 27853 складає 3,12 та 12,5 мкг/мл відповідно, відносно клінічного штаму *P. aeruginosa* 46 – 1,56 і 6,25 мкг/мл відповідно. Отримані дані МІК похідних алкоксіамінопропанолу відносно еталонного тест-штаму та штаму, виділеного від хворого гнійно-запальним процесом, свідчать про виразну антисиньогнійну дію вперше синтезованих сполук КВМ-190 і КВМ-204. За рівнем МІК ці речовини мають переваги перед цефотаксимом (МІК 8-32 мкг/мл) і цефтріаксоном (МІК 8-64 мкг/мл) та наближаються до рівня активності карбапенемів: азтреонаму та ертапенему (МІК 2-8 мкг/мл) [8]. Отримані дані свідчать про перспективність уперше синтезованих похідних алкоксіамінопропанолу як нових антисиньогнійних препаратів.

Оскільки в клінічній практиці мікроорганізми все частіше виявляються у вигляді біоплівок, у подальших експериментах дослідили активність цих сполук відносно біоплівок (попередження утворення біоплівок та їхнє руйнування).

Вивчення впливу нових похідних алкоксіамінопропанолу впливати на процес формування біоплівки *P. aeruginosa* досліджували в концентраціях 1,0 МІК, 2,5 МІК та 5,0 МІК.

Отримані результати наведено на рисунку 1.



Дані рисунка 1 свідчать, що сполуки КВМ-190 і КВМ-204 проявляють активність відносно біоплівок синьогнійної палички, ступінь вираженості дії залежить від концентрацій. Так, за умови присутності в інкубаційному середовищі КВМ-190 у концентрації 2,5 МІК формування біоплівки складало 68,7 %, при дії сполуки КВМ-204 – 44,4 % порівняно з контролем. Зі збільшенням концентрації сполук формування біоплівки пригнічувалося в більшому ступені. Так, при концентрації 5,0 МІК сполука КВМ-190 пригнічувала плівкоутворення на 74,1 %, КВМ-204 – на 78,7 % порівняно з контролем. Сполуки КВМ-190 і КВМ-204 при концентрації 5,0 МІК за ступенем інгібуючої активності мають переваги перед Ципрофлоксацином та Гентаміцином.

Дослідження впливу похідних алкоксіамінопропанолу на сформовану впродовж 24 год біоплівку здійснювали в концентраціях 10,0 МІК, 25,0 МІК та 50,0 МІК.

Отримані результати досліджень наведено на рисунку 2.

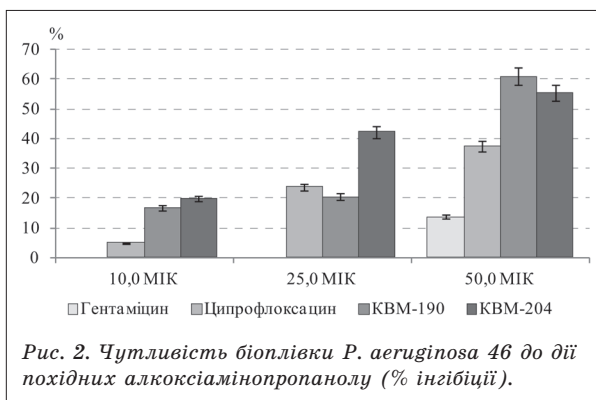
Дані рисунка 2 свідчать, що сполуки КВМ-190 і КВМ-204 дозалежно впливають на біоплівку *P. aeruginosa* 46, інгібіція складає 16,7–61,0 % залежно від концентрації. Так, при концентрації 50,0 МІК інгібіція найвираженіша – 61,0 % (КВМ-190) і 55,6 % (КВМ-204). Зі зменшенням концентрації сполуки до 25,0 МІК активність сполук дещо зменшується і складає 20,6 % (КВМ-190) і 42,3 % (КВМ-204).

Препарат порівняння «Гентаміцин» у концентраціях 10 МІК і 25,0 МІК інгібуючих властивостей до сформованої біоплівки не виявив. У концентрації 50,0 МІК інгібіція складала 13,8 %. У ципрофлоксацину найвиразніша дія спостерігалася при концентрації 50,0 МІК – 13,8 % порівняно з контролем, 25,0 МІК – 23,0 %, 10,0 МІК – 5,0 % порівняно з контролем.

Отже, уперше синтезовані похідні алкоксіамінопропанолу виразно інгібують ріст і розмноження синьогнійної палички як еталонного, так і клінічного штаму. Дослідження впливу на біоплівки *P. aeruginosa* показало, що сполуки здатні впливати на процес формування біоплівки та руйнувати сформовану молоду біоплівку.

Для оцінки перспективності створення на основі сполук КВМ-190 і КВМ-204 нових антимікробних засобів проведено дослідження інгібуючої дії сполук на катетерній моделі.

Більшість мікроорганізмів за рахунок неспецифічних механізмів адгезії здатні прикріплюватися до різних матеріалів, зокрема, до поверхні катетерів. Процес адгезії здійснюється мікроорганізмами за наявності на поверхні катетера білків плазми крові (фібрину, фібронектину, ламініну). На місцеві коагуляційні процеси (тромбогенез) впливає також хімічний склад матеріалу катетера. Найбільшу тромбогенну активність виявлено в поліетиленових та полівінілхлоридних катетерів, найменшу – у силіконових, тефлонових і поліуретанових [10].



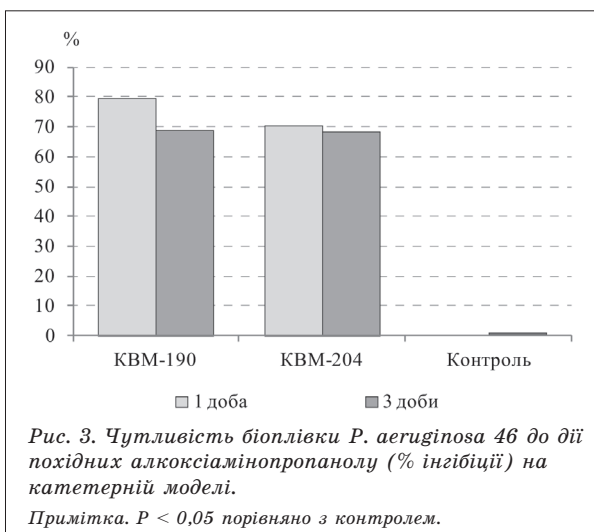
Експерименти щодо здатності *P. aeruginosa* до плівкоутворення на катетерах проведено на урогенітальних катетерах із полівінілхлоридного матеріалу виробництва «Galmed» (Польща).

Концентрації сполук складали 5,0 МІК.

Отримані результати наведено на рисунку 3.

Дані рисунку 3 свідчать, що на катетерній моделі активність сполуки КВМ-190 більш виразна, ніж КВМ-204. Сполука КВМ-190 у концентрації 5,0 МІК руйнує 79,3 % сформованої 1-добової біоплівки та 69,0 % 3-добової біоплівки синьогнійної палички. Активність сполуки КВМ-204 відносно до 1- та 3-добових біоплівок практично однакова й складає при концентрації 5,0 МІК 70,2 % (1-добова) та 68,2 % (3-добова).

Таким чином, проведені експерименти свідчать, що вперше синтезовані похідні алкоксіамінопропанолу проявляють активність відносно синьогнійної палички, інгібують ріст та розмноження планктонних мікроорганізмів і



бактерій у формі біоплівок. Сполуки впливають як на процес плівкоутворення, так і руйнують уже сформовані біоплівки *P. aeruginosa*. До дії похідних алкоксіамінопропанолу більш чутливі біоплівки, які знаходяться на стадії її формування, ніж сформовані біоплівки, що свідчить про профілактичну направленість дії та перспективність створення препаратів для профілактики плівкоутворення.

1. Шагинян И. А. Неферментирующие грамотрицательные бактерии в этиологии внутрибольничных инфекций: клинические, микробиологические и эпидемиологические особенности / Шагинян И. А., Чернуха М. Ю. // Клин. микробиол. и антимикроб. химиотер.– 2005.– Т. 7, № 3.– С. 271–285.
2. Рекомендации по оптимизации антимикробной терапии нозокомиальных инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями в отделениях реанимации и интенсивной терапии / Страчунский Л. С., Решедько Г. К., Рябова Е. Л. [и др.] // Клин. микробиол. и антимикроб. химиотер.– 2002.– Т. 4, № 4.– С. 379–390.
3. Grkovic S. Regulation of bacterial drug export systems / Grkovic S., Brown M. H., Skurray R. A. // Microbiol. Mol. Biol. Rev.– 2002.– V. 66.– P.671–701.
4. Карбапенемостойчивые штаммы *Pseudomonas aeruginosa* в стационарах города Пермь / Карпунина Т. И., Демаков В. А., Кузнецова М. В. [и др.] // Клин. микробиол. и антимикроб. химиотер.– 2010.– Т. 12, № 3.– С. 246–252.
5. Jack D. L. The drug/metabolite transporter superfamily / Jack D. L., Yang N. M., Saier M. H. Jr. // Eur. J. Biochem.– 2001.– V. 268.– P. 3620–3539.
6. Белобородова Н. В. Роль микробных сообществ или биопленок в кардиохирургии / Белобородова Н. В., Байрамов И. Т. // Антибиот. химиотер.– 2008.– № 11–12.– С. 44–59.
7. Афиногенова А. Г. Микробные биопленки ран. Состояние вопроса / Афиногенова А. Г., Даровская Е. Н. // Травматология и ортопедия России.– 2011.– Т. 61, № 3.– С. 119–125.
8. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам [Методические указания МУК 4.2.18-90-04] // Клин. микробиол. и антимикроб. химиотер.– 2004.– Т. 6, № 4.– С. 306–359.
9. Образование биопленок – пример социального поведения бактерий / Романова Ю. М., Смирнова Т. А., Андреев А. Л. [и др.] // Микробиология.– 2006.– Т. 75, № 4.– С. 556–661.
10. Сидоренко С. В. Инфекции, связанные с центральным венозным катетером // Инфекции и антимикроб. химиотер.– 2001.– Т. 3, № 2.– С. 47–49.

З. С. Суворова, Н. А. Врынчану

Чувствительность биопленок *Pseudomonas aeruginosa* к действию производных алкоксиаминопропанола

Изучена чувствительность *Pseudomonas aeruginosa* к действию новых производных алкоксиаминопропанола. Установлено, что соединения дозозависимо нарушают процесс пленкообразования и разрушают сформировавшиеся биопленки синегнойной палочки, в том числе и сформированные на катетерах. Нарушение пленкообразования *P. aeruginosa* в присутствии производных алкоксиаминопропанола свидетельствует о перспективности разработки на их основе антимикробных препаратов для профилактики пленкообразования.

Ключевые слова: биопленки, микроорганизмы, *Pseudomonas aeruginosa*, производные алкоксиаминопропанола, антибиотики

Z. S. Suvorova, N. A. Vrynchanu

Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm to the action of alkoxyaminopropanol derivatives

Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* to the action of novel derivatives of alkoxyaminopropanol was tested. It was found that compounds in a dose-dependent manner disrupt biofilm formation and destroy *Pseudomonas aeruginosa* biofilms, including those formed on catheters. Disruption of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm indicates the prospects derivatives of alkoxyaminopropanol as antimicrobial drugs for biofilm prevention.

Key words: biofilms, microorganisms, *Pseudomonas aeruginosa*, derivatives of alkoxyaminopropanol, antibiotic

Надійшла: 28.08.2012 р.

Контактна особа: Суворова Зінаїда Сергіївна, інженер I категорії, відділ фармакології протимікробних засобів, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», вул. Е. Потьє, 14, м. Київ, 03680. Тел.: +38 (063) 536-29-27. E-mail: suzi-220@bigmir.net

О. В. Ткачова, Ю. Б. Лар'яновська, Л. В. Яковлєва

Вплив мазі «Пролідоксид» на морфоструктуру шкіри за умов асептичної трафаретної рани в щурів

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: фармакологічне вивчення, мазь, рана, гістологія

Зміна уявлень про рановий процес, динамічний розвиток хірургії постійно висувають нові вимоги до алгоритму лікування гнійних ран [1, 10].

Арсенал лікарських препаратів, призначених для місцевого консервативного лікування ран, неухильно зростає. На даний час ще не існує універсального препарату, придатного для використання в усіх фазах ранового процесу: гнійно-некротичній, регенерації (утворення грануляційної тканини) і рубцювання, оскільки лікування на кожній фазі потребує диференційованого підбору препаратів із різним механізмом дії [10–12]. Сучасні медико-біологічні вимоги до ранозагоювальних препаратів полягають у використанні комбінованих ліків, що мають різноспрямовану дію на певній фазі ранового процесу. Сьогодні більшість препаратів, що призначені для місцевого лікування ран, не відповідають медико-біологічним вимогам [3].

Невирішені проблеми застосування ранозагоювальних препаратів у хірургічній практиці та комплексний підхід до лікування ран диктують необхідність подальшої розробки та вивчення комбінованих лікарських засобів, компоненти яких впливали б на різні патогенетичні ланки ранового процесу.

Дослідження вчених Національного фармацевтичного університету (НФаУ) останнього тридцятиріччя доводять, що для лікування ран з успіхом використовують засоби, що розроблені з використанням фенольного гідрофобного препарату прополісу (ФГПП) під керівництвом академіка А. І. Тихонова [9].

Одним із препаратів з використанням ФГПП, лідокаїну та ПЕО-основи, що розробили співробітники кафедри аптечної технології НФаУ, є мазь «Пролідоксид» [6]. До складу основного діючого компонента мазі «Пролідоксид» – ФГПП входять фенольні сполуки (до 81,3 %): флаволи кверцетин, кемпферол, апігенін, лютеолін, хризин, акацетин, рамноцитрин і флавоноли робіданол, робіданол-3-галат, кейякінін, що відомі антиоксидантними, протизапальними та репаративними властивостями. У доклінічних дослідженнях, проведених на базі ЦНДЛ НФаУ, встановлено, що мазь «Пролідоксид» виявляє виразну лікувальну дію на моделі трафаретних ран і сприяє загоєнню ран при застосуванні на I-й і II фазах ранового процесу.

Мета дослідження – вивчення впливу мазі «Пролідоксид» на морфоструктуру шкіри за умов асептичної трафаретної рани в щурів, викликаної механічним ушкодженням. Як препарат порівняння використовували аналог за лікарською формою, фармакологічною дією й показаннями до застосування – мазь «Вундехіл» виробництва ТОВ «Науково-виробнича фармацевтична компанія «Ейм», м. Харків.

Матеріали та методи. Трафаретну рану відтворювали в асептичних умовах у білих нелінійних статевозрілих щурів масою 200–220 г за методом Л. З. Пономаревої-Астраханцевої [7]. Для моделювання патології наркотизованим щурам наносили на попередньо депільовану ділянку шкіри спини білатерально до хребта по дві рани за допомогою металевого пробійника з діаметром 1,2 см. Одразу після механічної травми на відкриту ранову поверхню тваринам накладали асептичну

пов'язку з 3 % розчином перекису водню. Після виходу тварин із наркозу їх розподіляли на три групи по 6 тварин: 1 – позитивний контроль (ПК) – неліковані тварини з відтвореною патологією; 2 група – тварини, яких на тлі патології лікували маззю «Пролідоксид». Тварин 3 групи лікували маззю «Вундехіл». Лікування розпочинали через 24 год після моделювання рани та продовжували до повного загоєння. Препарати наносили тонким шаром на рану та прилеглі до рани ділянки в умовнотерапевтичній дозі 20 мг/см², що повністю всмоктується в шкіру та достатньо її зволожує. Гістологічні показники для оцінки впливу препаратів на стан трафаретної рани реєстрували на 5, 9 та 13 дні експерименту, для чого використовували по 18 щурів у кожний термін дослідження (усього 54 щури). Зразки тканин витинали з ділянки трафаретної рани та із прилеглих до неї ділянок здорової шкіри. Підготовку зразків до дослідження проводили за загальноприйнятими в морфології методами. Зрізи фарбували гематоксином та еозином [2, 5].

Морфологічну оцінку репаративних процесів у рановому дефекті проводили за показниками ступеня зрілості грануляційної тканини та потужності регенерації епітелію. Для зручності порівняння стану ранових дефектів шкіри тварин різних груп на мікропрепаратах визначали виразність морфологічних ознак загоєння за бальною шкалою, в основу якої покладено метод В. В. Соколовського: ознака відсутня – 0 балів; слабо виражена – 1 бал; помірно виражена – 2 бали; виразна ознака – 3 бали; дуже виразна ознака – 4 бали [8].

Ступінь зрілості грануляційної тканини в рановому дефекті оцінювали за темпами росту й дозрівання грануляційної тканини: 0 балів – наявність клітин гематогенного походження, що характерно для ранової поверхні з гнійним ексудатом та поверхні, покритої струпом; 1 бал – грануляційна тканина багатоклітинна, переважають клітини гематогенного походження, новостворених судин майже немає; 2 бали – поява клітин фібробластичного ряду, незначна кількість новоутворених судин,

початок васкуляризації; 3 бали – перевага клітин фібробластичного ряду, ознаки волокноутворення, добра васкуляризація, поява редукції судин; 4 бали – перетворення грануляційної тканини у фіброзну тканину, тобто рубцювання.

Потужність епітелізації в рановому дефекті оцінювали за швидкістю регенерації епітелію: 0 балів – епітеліальна тканина відсутня; 1 бал – новоутворений епітелій дуже обмежений за довжиною, складається з одного шару клітин; 2 бали – новоутворений епітеліальний клин вкриває не більше 1/3 площини дефекту на препараті, складається з 1–3 шарів клітин; 3 бали – новоутворений епітеліальний клин має ознаки диференціації шарів, вкриває до половини площу ранового дефекту на препараті; 4 бали – новоутворений епітеліальний клин має всі ознаки епідермісу і повну епітелізацію поверхні.

Статистичну обробку результатів проводили за критеріями Крускала-Уоліса та Мана-Уїтні [4]. Дані представлені як медіана, верхній та нижній квартилі (Me (Q25; Q75)). Огляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Micros 400 (Австрія). Мікрофотографування зображень здійснено цифровим фотоапаратом Nicon Col Pix 4500 і оброблено за допомогою програми Nicon View 5.

Результати та їх обговорення. Як показало мікроскопічне дослідження, у тварин групи ПК на 5 день після травми поверхня рани була прикрита різним за розміром струпом, а ранова порожнина – заповнена фібриноїдною масою з великою кількістю клітинного детриту (рисунок, а).

У глибоких донних ділянках рани та в підлеглий підшкірній клітковині помітне формування нової грануляційної тканини із численними малодиференційованими клітинними формами. М'язова тканина набрякла, інфільтрована значною кількістю нейтрофілів, лімфоцитів і гістіоцитів. У прилеглих до рани ділянках шкіри спостерігалися явища травматичного набряку дерми, гіпертрофічного росту епідермісу, проліферації епітеліальних клітин волосяних фолікулів.

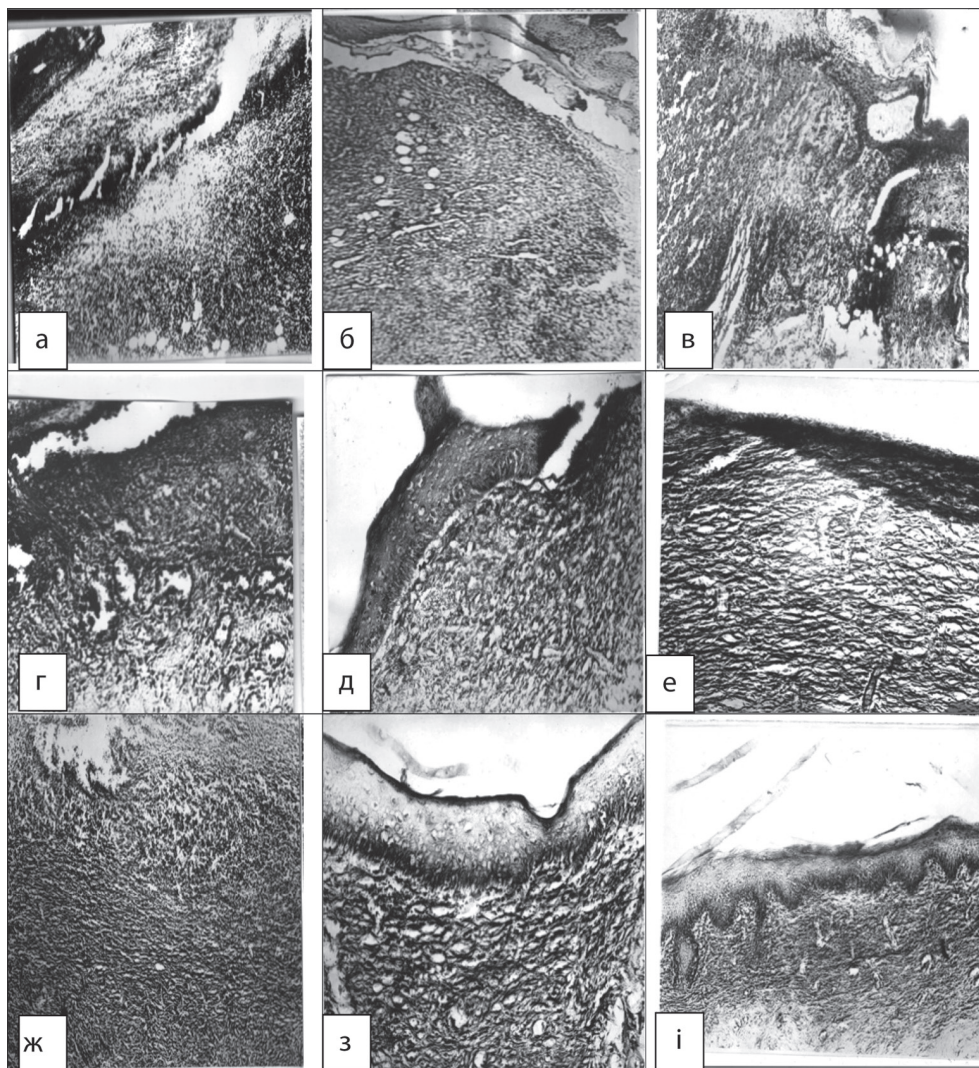


Рисунок. Морфологічні показники динаміки загоєння трафаретної рани шкіри щурів. а – рана щура на 5 день з групи позитивного контролю, $\times 100$; б – рана щура на 5 день лікування маззю «Пролідоксид», $\times 100$; в – рана щура на 5 день лікування маззю «Вундехіл», $\times 100$; г – рана щура на 9 день з групи позитивного контролю, $\times 200$; д – рана щура на 9 день лікування маззю «Пролідоксид», $\times 200$; е – рана щура на 9 день лікування маззю «Вундехіл», $\times 100$; ж – рана щура на 13 день з групи позитивного контролю, $\times 100$; з – рана щура на 13 день лікування маззю «Пролідоксид», $\times 200$; і – рана щура на 13 день лікування маззю «Вундехіл», $\times 100$.

Через 9 днів покращання стану ранового дефекту не відмічалось. Ранова площа була достатньо широкою, струп на поверхні легко відшаровувався. На частині препаратів спостерігали різке розширення судин і витіснення клітин крові в зовнішні ділянки рани (рисунок, г).

Через 13 днів після травми площа ранової поверхні була ще достатньо великою. На поверхні рани частково

спостерігали гнійний наліт. Грануляційна тканина мала достатньо зрілий характер тільки в глибоких зонах рани. Епітелізацію ранової поверхні не спостерігали (рисунок, ж).

У щурів, яких лікували маззю «Пролідоксид», на 5 день спостереження, на відміну від групи ПК, крайові та донні ділянки ранового дефекту були представлені молодою грануляційною тканиною. Центральна час-

тина дефекту мала менш виражені ексудативні прояви, ніж у групі ПК. Серед клітин з'явилися фібробласти, окремі судини. Простежувалася виражена проліферація епітелію, а сам епітелій мав вигляд вузького клина під струпом на поверхні рани від периферії до центру (рисунок, б).

Через 9 днів тканина, що заповнювала порожнину дефекту, мала досить виражений волокнистий характер, хоча в ній ще були присутні нечисленні судини, знижена насиченість клітинними елементами. Швидкими темпами продовжувалася проліферація й диференціювання епітелію при збереженні на поверхні невеликого гнійного нальоту (рисунок, д). Лише в 2 щурів центральна частина дефекту була не змінена порівняно з попереднім терміном спостереження.

Після 13 днів застосування мазі «Пролідоксид» у 83,3 % випадків відзначена повна епітелізація поверхні ранового дефекту. Сам колишній дефект заповнювала ніжно-волокниста тканина з фібробластами між рихло розташованими волокнами. Епітеліальний регенерат був потовщений. У ньому простежувалося характерне для епідермісу диференціювання шарів. Відновлення придатків шкіри в рубці не відзначено (рисунок, з).

Після лікування маззю «Вундехіл» на 5 день експерименту в усіх щурів у значній кількості був фібринозний випіт, наявність клітинного детриту, гнійний наліт на поверхні. Але, на відміну від позитивного контролю, актив-

нішою була крайова епітелізація (рисунок, в) та менше були виражені процеси проліферації клітин у підшкірній клітковині.

Після 9 днів застосування мазі «Вундехіл» у близько 50 % щурів у новоутвореній тканині поряд з волокноутворенням у достатній кількості ще були судини та клітинні елементи. У другій половини тварин у тканині, що заповнювала рану, була відмічена редукція судин, а сама тканина мала виражений ніжно-волокнистий характер (рисунок, е). Регенерат епітелію мав виражене диференціювання шарів.

На 13 день лікування загоєння дефекту під впливом мазі «Вундехіл» спостерігали в 50 % щурів (рисунок, ж). Шкірний регенерат мав вигляд епітелізованого ніжно-волокнистого рубця з невеликою кількістю судин і достатнім вмістом фібробластів. Але в рубцевій тканині не виявлено волосяних фолікулів і сальних залоз. Рубець був покритий гіпертрофованим епідермісом. У решти тварин дефект був невеликий за розміром, заповнений достатньо зрілою тканиною. Лише в самих поверхневих шарах тканина була менш зрілою. Не епітелізованими залишалися центральні ділянки рани.

Динаміку процесу загоєння ранових дефектів шкіри щурів різних експериментальних груп наведено в таблиці.

Мазь «Пролідоксид», розпочинаючи з 5 дня експерименту, вірогідно до ПК посилювала швидкість регенерації епітелію. Препарат на 5 день за цим

Таблиця

Напівкількісна оцінка морфологічних показників процесу загоєння трафаретних ран у щурів, бали Me (LQ;UQ)

Показник	Терміни спостереження, дні	Позитивний контроль, бали (n = 18)	Мазь «Пролідоксид», бали (n = 18)	Мазь «Вундехіл», бали (n = 18)
Швидкість регенерації епітелію	5	1,0 (1; 1)	2,0 (2; 3)*/**	1,0 (1; 1)
	9	1,5 (1; 2)	3,0 (3; 4) *	3,0 (3; 4)*
	13	2,0 (2; 2)	4,0 (4; 4)*	4,0 (4; 4)*
Темпи росту і дозрівання грануляційної тканини	5	0,0 (0; 0)	2,0 (2; 2)*/**	0,0 (0; 0)
	9	1,5 (1; 2)	2,0 (2; 3)	2,0 (2; 3)
	13	2,5 (2; 3)	4,0 (4; 4)*/**	3,0 (3; 3)

Примітка. *Відмінності щодо групи позитивного контролю; ** відмінності щодо препарату порівняння – мазі «Вундехіл»; n – кількість тварин у групі.

показником випереджав мазь «Вундехіл». За посиленням темпів росту та дозрівання грануляційної тканини мазь «Пролідоксид» також вірогідно випереджала як ПК, так і мазь «Вундехіл» на 5 і 13 дні досліджу. Більш швидке формування грануляцій призводило до більш раннього утворення рубця й загоєння ранових дефектів. При лікуванні маззю «Пролідоксид» на 13 день у 83,3 % тварин відбулося повне загоєння на відміну від мазі «Вундехіл», де загоєння в цей термін відбулося в 50 % тварин. У щурів групи ПК повного загоєння ран через 13 днів після травми не відбулося.

Отже, згідно з отриманими даними, мазь «Пролідоксид» показала перевагу в ранозагоювальній активності над препаратом порівняння – маззю «Вундехіл».

Висновки

1. У щурів, яких лікували досліджуваними препаратами, у ранні терміни відмічали дозрівання грануляційної тканини: при застосуванні мазі «Пролідоксид» – через 5 днів, при лікуванні маззю «Вундехіл» – через 9 днів. У більш стислі терміни грануляції набували характеру волокнистої тканини: на 9 день лікування маззю «Пролідоксид», на 13 день лікування маззю «Вундехіл».
2. Мазь «Пролідоксид» порівняно з маззю «Вундехіл» чинила виразнішу репаративну дію, особливо на початку дослідження, що призвело до раннього загоєння трафаретних ран у 83,3 % тварин на 13 день на відміну від мазі «Вундехіл», де загоєння на цей термін відбулося в 50 % тварин.

1. Абаев Ю. К. Справочник хирурга. Раны и раневая инфекция / Ю. К. Абаев. – Ростов н/Д : Феникс, 2006. – 427 с.
2. Гистоморфологические исследования кожи / В. И. Ноздрин, Т. А. Белоусова, В. И. Альбанова, О. И. Лаврик. – М.: Медицина, 2006. – 376 с.
3. Крутиков М. Г. Местное лечение ран и ожогов / М. Г. Крутиков, А. Э. Бобровников // Российские аптеки [Електронний ресурс]. – 2006. – № 5. – Режим доступу: <http://www.remedium.ru/drugs/doctor/dermatology/detail.php?ID=17466>
4. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К.: Морион, 2001. – 408 с.
5. Меркулов Г. А. Курс патологистологической техники / Г. А. Меркулов. – М.: Медицина, Ленингр. отделение, 1969. – 424 с.
6. Патент України на винахід № 60849. Мазь «Пролідоксид» для місцевого лікування ран та опіків / Тихонов О. І., Черних В. П., Ярних Т. Г., Яковлева Л. В., Кальф-Каліф С. С., Ткачова О. В., Хохленкова Н. В.; заявник та патентовласник Національний фармацевтичний університет. – Опубл. 15.11. 2005 р., бюл. № 11.
7. Пономарева-Астраханцева Л. З. Воспроизведение заболеваний у животных для экспериментально-теоретических исследований / Л. З. Пономарева-Астраханцева. – М.: Медицина, 1954. – 670 с.
8. Соколовский В. В. Гистохимические исследования в токсикологии / В. В. Соколовский. – М.: Медицина, 1971. – 176 с.
9. Теория и практика производства лекарственных препаратов прополиса / [А. И. Тихонов, Т. Г. Ярных, В. П. Черных и др.]. – Х.: Основа, 1998. – 384 с.
10. Шалимов О. О. Сучасне медикаментозне лікування ран / О. О. Шалимов, В. Ф. Саєнко, Б. М. Даценко // Відомча інструкція. – К., 2002. – 37 с.
11. Martin P. Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly / P. Martin, S. J. Leibovich // Trends Cell Biol. – 2005. – V. 15, № 4. – P. 599–607.
12. Velnar T. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms / T. Velnar, T. Bailey, V. Smrkolj // J. Int. Med. Res. – 2009. – V. 37, № 5. – P. 1528–1542.

О. В. Ткачева, Ю. Б. Ларьяновская, Л. В. Яковлева

Влияние мази «Пролидоксид» на морфоструктуру кожи в условиях асептической трафаретной раны у крыс

Приведены результаты влияния мази «Пролидоксид» на морфоструктуру кожи крыс в динамике при моделировании асептической трафаретной раны. Мазь «Пролидоксид» способствовала увеличению интенсивности формирования грануляционной ткани и ускорению процесса эпителизации раневой поверхности. На 13 день опыта под влиянием препарата у 83,3 % животных произошло полное заживление ран. По ранозаживляющему действию мазь «Пролидоксид» превосходит препарат сравнения – мазь «Вундехил» на модели асептической трафаретной раны у крыс.

Ключевые слова: фармакологическое изучение, мазь, рана, гистология

O. V. Tkacheva, Y. B. Laryanovskaya, L. V. Iakovlieva

Effect of ointment «Prolidoxyd» on the morphostructure of rat skin under aseptic screen wound in rats

The results of the influence of the ointment «Prolidoxyd» on morphostructure of rat skin in the dynamics of simulation of aseptic screen wounds are presented. Ointment «Prolidoxyd» promoted the rate of granulation tissue formation and accelerated the epithelialization of the wound's surface. On the 13 day of the experiment under the influence of the ointment «Prolidoxyd» in 83,3 % of animals there was a full healing. On the wound-healing effect ointment «Prolidoxyd» exceed preparation of comparison – the ointment «Wundahyl» under aseptic screen wound in rats.

Key words: pharmacological study, ointment, wound, histology

Надійшла: 27.09.2012 р.

Контактна особа: Ткачова Оксана Віталіївна, канд. фарм. наук, докторант, кафедра фармакоелектрофізіології, Національний фармацевтичний університет, вул. Мельникова, 12, м. Харків, 61002. Тел.: +38 (057) 706-23-46.

О. В. Товчига

Вплив препаратів яглиці звичайної (*Aegopodium podagraria* L.) на метаболічні процеси в мишей з алоксановим цукровим діабетом

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: яглиця звичайна (*Aegopodium podagraria* L.), алоксан, метаболізм глюкози, гіпоглікемічні засоби, сечова кислота

Цукровому діабету (ЦД) належить важливе місце в структурі смертності населення, а також серед причин порушення працездатності та погіршення якості життя [1]. Поширеність ЦД та, особливо, метаболічного синдрому (МС), асоційованого зі збільшенням серцево-судинної захворюваності, невпинно зростає [2]. До того ж, деякі широко вживані лікарські препарати (тіазидні діуретики та неселективні β -адреноблокатори) зменшують кардіо-васкулярні ризики, однак здатні несприятливо впливати на обмін вуглеводів [3]. Тому доцільне створення засобів із політропним впливом на патогенез МС та ЦД.

Гіперурикемія взаємопов'язана з порушеннями обміну глюкози [2, 4, 5]. Доведено можливість одночасної корекції порушень вуглеводного та пуринового обміну, як-от за терапії метформіном у хворих із подагрою та інсулінорезистентністю [6] та за лікування магнетотом пацієнтів з артеріальною гіпертензією з гіперурикемією, МС і хронічною серцевою недостатністю [7]. Поліmodalний захисний вплив властивий багатьом рослинним препаратам. Однак недостатньо верифікованих даних щодо взаємозв'язку гіпоглікемічної дії фіто-препаратів з їхнім впливом на обмін сечової кислоти (СК).

У такому контексті привертає увагу яглиця звичайна (*Aegopodium podagraria* L., ЯЗ) – багаторічна трав'яниста рослина род. *Apiaceae*, із наземної час-

тини якої одержано сухий екстракт та настойку, що стандартизовані за вмістом гідроксикоричних кислот. Ці фіто-препарати сприятливо впливають на пуриновий обмін; екстракт, до того ж, виявляє нефропротекторну дію на моделях уражень нирок із різним патогенезом [8]. У настойки ЯЗ доведено гіпоглікемічний ефект в інтактних тварин [9] та на моделі обмінних порушень, близьких до метаболічного синдрому [10]. Таке поєднання властивостей дозволяє прогнозувати захисний ефект препаратів ЯЗ за умов ЦД, однак це потребує верифікації.

Мета дослідження – визначення ефективності препаратів яглиці звичайної на моделі алоксанового цукрового діабету.

Матеріали та методи. Досліди проведено на рандомбредних мишах-самцях масою 17–20 г із дотриманням правил Директиви Ради ЄС із питань захисту тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей. Для відтворення моделі алоксан вводили одноразово підшкірно в дозі 200 мг/кг [11]. На 3 добу відбирали мишей із глікемією вище за 10 ммоль/л (середнє значення – $18,8 \pm 1,34$ ммоль/л) і розподіляли їх на групи: модельна патологія (МП), настойка ЯЗ у дозах 1 і 5 мл/кг, екстракт ЯЗ у дозі 1 г/кг (використано дози, ефективні в попередніх дослідках [8–10]), препарат порівняння – настій офіційного збору «Арфазетин» («Ліктрави», Житомир) у дозі 18 мл/кг [12]. Сформовані групи не відрізнялися за глікемією. Настойку, позбавлену спирту, водний розчин екстракту та настій збору «Арфазетин» (об'єм рідини в усіх випадках був однаковим) вводили щоденно внутрішньо-

шлунково. Миші групи МП, а також інтактного контролю (ІК), отримували відповідну кількість води. Оцінювали виживаність протягом 3 тижнів і динаміку маси тіла. Через 3 тижні після введення останньої дози препаратів визначали функцію нирок за умов водного діурезу [13], після чого тварин виводили з досліджуваного плазму крові (антикоагулянт – гепарин *in vitro*). У плазмі крові та сечі визначали вміст глюкози глюкозооксидазним методом, сечовини – за реакцією з діацетилмоноксидом, сечової кислоти – уриказним методом (стандартні набори НВП «Філісит-Діагностика» і ТОВ «СпайнЛаб»). У плазмі також визначали й рівень креатиніну за реакцією з пікриновою кислотою [14]. Розраховували екскрецію глюкози та сечовини, кліренс сечовини.

Зважаючи на характер розподілу даних, обраховано медіани, 25 % та 75 % процентилі (верхні та нижні квартилі) [15, 16], крім того, надано традиційно вживані середні арифметичні та їхні стандартні помилки ($M \pm m$). Порівняння центральних тенденцій незалежних виборок здійснювали за критерієм W Вілкоксона, альтернативні (виживаність) – за кутовим перетворенням Фішера ϕ^* [15]. Зв'язок між окремими показниками оцінювали за коефіцієнтом кореляції Спірмена r .

Результати та їх обговорення. Порушення обміну глюкози в групі МП виявлялося значною гіперглікемією, що перевищувала 15 ммоль/л на 1 тиждень дослідів, на 3 тижні медіана глікемії дещо зменшувалася (табл. 1). Розвивалася значна глюкозурія, яка в деяких мишей перевищувала 1,5 %. Летальність мишей (реєстрацію якої розпочинали після розподілу тварин на групи, тобто з 3 доби після введення алоксану) суттєво не відрізнялася в усіх групах. Можна відзначити лише збільшення виживаності на тлі екстракту (достовірні відмінності наявні між тваринами, що одержували екстракт та настойку в більшій дозі). На 21 день зареєстровано вірогідне зменшення глікемії під впливом усіх препаратів ЯЗ. Глюкозурія й екскреція глюкози також суттєво знижувалися, однак відмінності з показни-

ками групи МП не були статистично достовірними в зв'язку з міжіндивідуальними розбіжностями. Особливо виразно зменшує глюкозурію та екскрецію глюкози настойка в дозі 1 мл/кг, ця група тварин за зазначеними показниками вірогідно відрізняється від групи препарату «Арфазетин». За впливом на вміст глюкози в крові екстракт та настойка ЯЗ у дозі 1 мл/кг достовірно перевершили цей збір, який не виявив гіпоглікемічної активності, що не узгоджується з результатами [12]. Можливо, виразний стимулюючий вплив на підшлункову залозу, притаманний БАР збору [17], не є сприятливим на ранніх стадіях алоксанового діабету в гризунів, коли активно здійснюються процеси регенерації [11]. Щодо діючих речовин ЯЗ, та можна припустити гіпоглікемічну дію фенольних сполук, амінокислот, мікро- та макроелементів, що відома з джерел [12, 17, 18].

Діурез у мишей групи МП не мав вірогідних відмінностей від групи ІК (табл. 2). Настойка ЯЗ чинила дозозалежний вплив на об'єм сечовиділення: менша доза збільшувала діурез (вірогідно відносно всіх груп, крім ІК), тоді як на тлі більшої дози наявна тенденція до його зниження. На інтактних щурах раніше встановлено, що цей фітопрепарат спроможний впливати на реабсорбцію води. Спрямованість впливу залежить від дози, терміну введення, умов досліджу (спонтанний діурез чи водне навантаження) та хронофармакологічних чинників [8]. Вплив екстракту ЯЗ на функцію нирок діабетичних мишей збігається з отриманими раніше даними щодо відсутності зростання діурезу [8]. На тлі препарату «Арфазетин» об'єм сечовиділення зазнавав подальшого зменшення порівняно з групою МП, відмінності з групою ІК сягали достовірного рівня. Відсутність вірогідного зростання вмісту креатиніну в крові в усіх групах тварин порівняно з ІК свідчить про збереження видільної функції нирок у досліджені терміни. На тлі екстракту ЯЗ виявлялося суттєве зменшення креатинінемії навіть порівняно з ІК, що збігається з попередніми даними щодо його гіпоазотемічної дії [8].

Уміст СК у крові мишей групи МП вірогідного знижувався на 33 % за практично незмінної екскреції (табл. 1). Зменшення урикемії на тлі алоксанового діабету відповідає даним [19], згідно з якими такі зміни є ознакою вичерпання резервів антиоксидантної системи, одними з компонентів якої є урати [5]. Відновлення урикемії на тлі гіпоглікемічного фітопрепарату розглядають як ознаку подолання окисного стресу [19]. Аналогічні закономірності спостерігали в наших дослідках: урикемія на тлі екстракту була дещо вище показника групи МП, а на тлі настойки

в дозі 1 мл/кг та препарату «Арфазетин» вона не мала достовірних відмінностей від показника ІК. Хоча вміст СК у крові не корелює з глікемією як у групі МП, так і в групі ІК (p дорівнює відповідно 0 та 0,03), спрямованість зв'язку змінюється на тлі настойки в дозі 1 мл/кг та препарату «Арфазетин», p в обох випадках становить $-0,60$ ($p > 0,05$), тимчасом, як на тлі настойки в дозі 5 мл/кг і екстракту суттєвого зв'язку немає. Кореляція між СК та креатиніном крові (надійним маркером стану видільної функції нирок) відсутня в усіх групах, за винят-

Таблиця 1

Вплив препаратів яглиці звичайної та «Арфазетин» на виживаність, обмін глюкози та сечової кислоти в мишей через 3 тижні після введення алоксану (Q_{50} , (Q_{25} ; Q_{75}), $M \pm m$; $n = 6-12$)

Показник	Інтактні тварини	Алоксан	Алоксан + настойка яглиці, 1 мл/кг	Алоксан + настойка яглиці, 5 мл/кг	Алоксан + екстракт яглиці, 1 г/кг	Алоксан + «Арфазетин» (настій), 18 мл/кг
Виживаність, %	100	66,7*	62,5*	40,0 [^]	85,7	71,4*
Уміст глюкози в крові, ммоль/л	7,46 (5,40; 7,65) $6,67 \pm 0,62$	11,4** (9,30; 22,6) $15,60 \pm 3,09$	5,96## (5,04; 6,29) $5,37 \pm 0,97$	5,74# (5,40; 9,31) $8,96 \pm 3,42$	6,92# (4,39; 10,4) $7,37 \pm 1,45$	13,0 ^{***^} & (11,3; 18,3) $14,40 \pm 2,40$
Глюкозурія, ммоль/л	0	12,1*** (0,26; 83,3) $44,60 \pm 20,50$	3,72**** (2,90; 29,8) $17,50 \pm 8,27$	0,33**** (0,23; 88,7) $43,80 \pm 24,10$	2,20**** (0,66; 43,9) $40,40 \pm 21,20$	159****& (28,9; 193) $124,00 \pm 29,60$
Екскреція глюкози, мкмоль/10 г за 2 год	0	4,07*** (0,15; 43,2) $22,90 \pm 11,10$	1,96**** (1,76; 19,9) $10,80 \pm 4,89$	0,14**** (0,12; 33,7) $19,70 \pm 11,40$	0,84**** (0,34; 16,7) $11,60 \pm 5,72$	55,2****& (10,8; 78,1) $56,00 \pm 16,90$
Сечова кислота плазми крові, ммоль/л	0,199 (0,176; 0,216) $0,192 \pm 0,015$	0,133** (0,115; 0,145) $0,126 \pm 0,009$	0,154 (0,131; 0,178) $0,156 \pm 0,016$	0,129 (0,114; 0,162) $0,147 \pm 0,027$	0,145* (0,135; 0,168) $0,148 \pm 0,011$	0,141 (0,133; 0,158) $0,153 \pm 0,015$
Екскреція сечової кислоти, мкмоль/10 г за 2 год	0,263 (0,229; 0,325) $0,276 \pm 0,030$	0,237 (0,209; 0,310) $0,288 \pm 0,038$	0,224 (0,128; 0,263) $0,233 \pm 0,051$	0,272 (0,200; 0,304) $0,249 \pm 0,022$	0,210 (0,167; 0,247) $0,237 \pm 0,040$	0,282 (0,191; 0,312) $0,256 \pm 0,025$

Примітка. Достовірні відмінності: з показниками інтактних тварин – * ($p < 0,05$), ** ($p < 0,01$), *** ($p < 0,005$), **** ($p < 0,001$); з показниками тварин групи модельної патології – # ($p < 0,05$), ## ($p < 0,005$); з показниками тварин, що одержували настойку в дозі 1 мл/кг – ^ ($p < 0,05$); з показниками тварин, що одержували екстракт – ^ ($p < 0,05$); n – кількість тварин у групах.

ком настойки в меншій дозі, коли ρ дорівнює $+0,80$ ($P > 0,05$). Інші закономірності між екскрецією СК та креатинінемією: на відміну від ІК (ρ не перевищує $0,03$), у групі МП менша екскреція відбувається за більшого рівня креатиніну крові на тлі зниження функції нирок, ρ дорівнює $-0,75$ ($P = 0,052$), аналогічна ситуація на тлі настойки в дозі 5 мл/кг (ρ становить $-0,80$, $P > 0,05$). За введення меншої дози настойки знову змінюється спрямованість зв'язку, і ρ дорівнює $+0,50$ ($P > 0,05$), на тлі препарату порівняння та екстракту суттєвого зв'язку немає.

У групі МП спостерігали тенденцію до збільшення вмісту сечовини в крові з від-

повідним зростанням її екскреції та кліренсу (табл. 2). Усі досліджені фітопрепарати, крім екстракту ЯЗ, достовірно підвищили вміст сечовини в плазмі крові. Під впливом препарату «Арфазетин» спостерігалось зростання екскреції цього продукту обміну за значної варіабельності його ниркового кліренсу, проте на тлі настойки ЯЗ у дозах 1 мл/кг та 5 мл/кг та її екстракту екскреція сечовини зменшувалася (на 35 , 37 , 44 % відповідно порівняно з групою МП), ще більш виражено знижувався її кліренс (на 47 , 49 , 55 % відповідно). Виходячи з відсутності ознак грубих порушень функції нирок у групі МП, збільшення концентрації сечовини в крові можна асоці-

Таблиця 2

Вплив препаратів яглиці звичайної та «Арфазетин» на видільну функцію нирок та метаболічні процеси в мишей через 3 тижні після введення алоксану, Q_{50} , (Q_{25} ; Q_{75}), $M \pm m$; $n = 6-12$

Показник	Інтактні тварини	Алоксан	Алоксан + настойка яглиці, 1 мл/кг	Алоксан + настойка яглиці, 5 мл/кг	Алоксан + екстракт яглиці, 1 г/кг	Алоксан + «Арфазетин» (настій), 18 мл/кг
Діурез, мл/10 г за 2 год	0,52 (0,43; 0,66) $0,53 \pm 0,04$	0,50 (0,34; 0,59) $0,46 \pm 0,04$	0,58[#] (0,54; 0,64) $0,61 \pm 0,04$	0,43^{&} (0,40; 0,53) $0,47 \pm 0,03$	0,37^{*&&&} (0,30; 0,51) $0,40 \pm 0,04$	0,40^{*&&} (0,26; 0,50) $0,40 \pm 0,06$
Креатинін плазми крові, мкмоль/л	49,8 (42,0; 66,3) $54,60 \pm 10,50$	49,0 (35,5; 61,7) $48,80 \pm 6,50$	52,2 (45,9; 70,3) $64,00 \pm 18,00$	43,5 (34,8; 61,0) $52,40 \pm 17,10$	35,6^{*&} (32,6; 39,8) $35,70 \pm 2,85$	58,1[^] (44,9; 94,3) $76,0 \pm 21,1$
Екскреція сечовини, мкмоль/10 г за 2 год	40,4 (29,6; 51,9) $44,60 \pm 7,48$	49,5 (32,9; 64,2) $54,30 \pm 8,69$	32,0 (26,8; 44,3) $37,90 \pm 6,21$	31,4[#] (28,9; 43,2) $36,10 \pm 4,01$	27,7[#] (23,7; 35,3) $29,80 \pm 3,08$	54,4[^] (29,4; 85,4) $63,6 \pm 13,3$
Сечовина плазми крові, ммоль/л	5,14 (4,46; 6,25) $5,88 \pm 0,92$	6,38 (5,43; 9,49) $7,54 \pm 1,23$	10,9^{*&} (8,20; 14,2) $11,50 \pm 2,06$	12,5[#] (6,64; 18,3) $12,40 \pm 3,78$	8,66[*] (7,97; 10,9) $9,77 \pm 1,06$	11,3^{**} (5,39; 11,4) $11,8 \pm 3,69$
Кліренс сечовини, мл/хв на 10 г	0,040 (0,035; 0,055) $0,048 \pm 0,008$	0,053 (0,043; 0,073) $0,061 \pm 0,009$	0,028^{***} (0,027; 0,032) $0,030 \pm 0,040$	0,027[#] (0,017; 0,051) $0,032 \pm 0,060$	0,024^{****} (0,019; 0,034) $0,026 \pm 0,04$	0,033 (0,024; 0,091) $0,061 \pm 0,018$

Примітка. Достовірні відмінності: з показниками інтактних тварин – * ($P < 0,05$); з показниками тварин групи модельної патології – # ($P < 0,05$), ** ($P < 0,01$), *** ($P < 0,001$); з показниками тварин, що одержували настойку в дозі 1 мл/кг – & ($P < 0,05$), && ($P < 0,01$); &&& ($P < 0,005$); з показниками тварин, що одержували екстракт – ^ ($P < 0,05$); n – кількість тварин у групах.

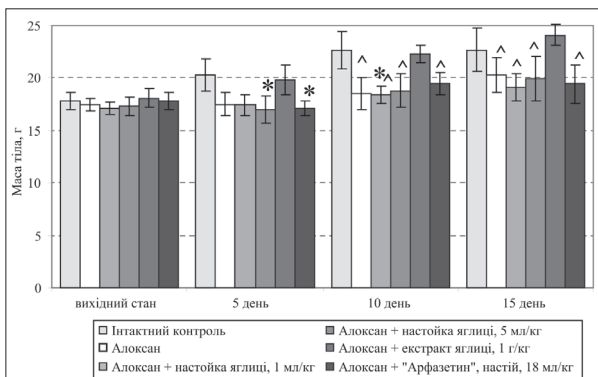


Рисунок. Вплив препаратів яглиці звичайної та препарату «Арфазетин» на динаміку маси тіла мишей, після введення алоксану.

Достовірні відмінності: * з інтактним контролем ($P < 0,05$); ^ з групою тварин, що одержували екстракт у дозі 1 г/кг ($p < 0,05$).

ювати із типовою для діабету активацією катаболічних процесів. Поєднання останніх зі зменшенням виділення нирками спричинило суттєве зростання вмісту сечовини в крові під впливом настійки ЯЗ, що потребує додаткового поглибленого дослідження, у тому числі білкового обміну. Менше зростання вмісту сечовини в крові мишей, які отримували екстракт ЯЗ, пов'язано з позанирковим механізмом впливу на азотистий обмін, оскільки ниркова екскреція та кліренс сечовини аналогічні такому на тлі настійки ЯЗ. Екстрауренальні механізми гіпоазотемічної дії встановлені в екстракті в попередніх дослідженнях [9] та виявлялися в даному дослідженні відносно креатинінемії. Екстракт також протидіє затримці розвитку тварин, спричиненій алоксаном (рисунок). Лише в групі екстракту на 10 та 15 добу маса тіла достовірно вища за показник у всіх інших групах тварин із діабетом (рисунок), динаміка маси тіла наближається до такої ІК.

Висновки

1. За умов алоксанового діабету в мишей настійка яглиці звичайної в дозах 1 і 5 мл/кг та її екстракт у дозі 1 г/кг за лікувального режиму введення чинять достовірну гіпоглікемічну дію, перевершуючи препарат «Арфазетин», екстракт виявляє тенденцію до збільшення виживаності.

2. У дослідженні терміни алоксанового діабету знижується вміст сечової кислоти в крові. Усі досліджені фітопрепарати наближають цей показник до рівня інтактного контролю.

3. У дослідженні терміни алоксанового діабету не спостерігається ознак тяжкої нефропатії. Настійка яглиці в дозі 1 мл/кг збільшує діурез. На тлі настійки в дозі 5 мл/кг, а також екстракту в дозі 1 г/кг об'єм сечовиділення має тенденцію до зменшення.

4. Екстракт яглиці в дозі 1 г/кг знижує вміст креатиніну в крові мишей з алоксановим діабетом та нормалізує динаміку маси тіла. Настійка в обох дозах не впливає на ці показники та збільшує вміст сечовини в крові, що пов'язано з нирковими механізмами. В екстракті яглиці вірогідні екстрауренальні механізми гіпоазотемічної дії.

5. Для подальших поглиблених досліджень перспективними є настійка яглиці звичайної в дозі 1 мл/кг та її екстракт у дозі 1 г/кг. Відмінності фармакологічних ефектів цих фітопрепаратів обумовлені біофармацевтичними чинниками.

1. De Oliveira E.P. High plasma uric acid concentration: causes and consequences / E. P. de Oliveira, R. C. Burini // Diabetol. Metabol. Syndr.– 2012.– V. 4, № 1.– P. 1–12.
2. Mellbin L. G. Diabetes, prediabetes and cardiovascular risk // L. G. Mellbin, M. Anselmino, L. Ryden // Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehabil.– 2010.– V. 17, Suppl. 1.– P. S9–S14.
3. Метаболический синдром / ред. чл.– корр. ПАМН Г. Е. Ройтберг.– М.: МЕДпресс-информ, 2007.– 224 с.
4. Duarte J. D. Mechanisms for blood pressure lowering and metabolic effects of thiazide and thiazide-like diuretics / J. D. Duarte, R. M. Cooper-DeHoff // Expert Rev. Cardiovasc. Ther.– 2011.– V. 8, № 6.– P. 793–802.
5. Lessons from comparative physiology: could uric acid represent a physiologic alarm signal gone awry in western society? / R. J. Johnson, Y. Y. Sautin, W. J. Oliver [et al.] // J. Comp. Physiol.– 2009.– V. 179, № 1.– P. 67–76.
6. Влияние метформина на течение подагры и инсулинорезистентность / В. Г. Барскова, М. С. Елисеев, Ф. М. Кудяева [и др.] // Клиническая медицина.– 2009.– № 7.– С. 41–46.

7. Кравчун П. Г. Терапія хворих на артеріальну гіпертензію з гіперурикемією, метаболічним синдромом і хронічною серцевою недостатністю / П. Г. Кравчун, Д. В. Ольховский, П. П. Кравчун // Здоров'я України. – 2008. – № 5/1. – С. 52–53.
8. Товчига О. В. Дослідження сечогінної, нефропротекторної, гіпоурикемічної дії яглиці звичайної (*Aegopodium podagraria* L.) як основа для створення лікарських засобів: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фарм. наук: спец. 14.03.05 «Фармакологія» / О. В. Товчига. – Харків, 2009. – 21 с.
9. Патент на кор. модель 69047 Україна МПК А61К 36/23 (2006.01), А61К 135/00 (2006.01), А61Р 3/10 (2006.01). Застосування 20 % настойки яглиці звичайної на 70 % спирт етиловому як засобу з гіпоглікемічною дією / Товчига О. В., Штриголь С. Ю., Степанова С. І.; заявник та власник НФаУ. – № у 2011 09248; заявл. 25.07.11; опубл. 25.04.12, Бюл. № 8.
10. Вплив препаратів яглиці звичайної (*Aegopodium podagraria* L.) на обмін глюкози в щурів із порушеннями метаболізму, спричиненими фруктозою / О. В. Товчига, О. О. Койро, С. Ю. Штриголь, С. І. Степанова // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – № 5 (24). – С. 165–166.
11. Барнаулов О. Д. Противодиабетические свойства настоя цветков лабазника вязолистного / О. Д. Барнаулов, М. Л. Пospelova // Психофарм. и биол. наркология. – 2005. – Т. 5, № 4. – С. 1113–1120.
12. Дослідження потенційних гіпоглікемічних властивостей збору «Фітоглюнор» / О. Ю. Кошова, Л. В. Яковлева, Г. С. Болоховець, В. С. Кисличенко // Клінічна фармація. – 2009. – № 1. – С. 64–67.
13. Миші як об'єкт досліджень видільної функції нирок / С. Ю. Штриголь, О. В. Товчига, Н. Г. Аракелян [та ін.] // Клінічна фармація. – 2008. – Т. 12, № 3. – С. 56–60.
14. Камышиников В. С. Справочник по клиническо-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. Т. 1. – Минск: «Беларусь», 2002. – 495 с.; Т. 2. – 2002. – 463 с.
15. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М.: «Практика», 1998. – 459 с.
16. Нефропротекторна дія густого екстракту з листя берези бородавчастої на тлі розвитку експериментальної діабетичної нефропатії у щурів / Н. С. Чорна, Ю. Б. Лар'яновська, О. М. Горбань [та ін.] // Клінічна фармація. – 2012. – № 1. – С. 60–65.
17. Кит С. М. Лекарственные растения в эндокринологии / С. М. Кит, И. С. Турчин. – К.: Здоров'я, 1986. – 80 с.
18. The evaluation of soybean extracts in alloxan-induced diabetic rabbits / I. Khushk, M. U. Dahot, S. A. Baloach, M. A. Bhutto // World Appl. Sci. J. – 2010. – V. 8. – P. 22–25.
19. Rajasekaran S. Mineral contents of aloe vera leaf gel and their role on streptozotocin-induced diabetic rats / S. Rajasekaran, K. Sivagnanam, S. Subramanian // Biol. Trace Elem. Res. – 2005. – V. 108, № 1–3. – P. 185–195.

О. В. Товчига

Влияние препаратов сныти обыкновенной (*Aegopodium podagraria* L.) на метаболические процессы у мышей с аллоксановым сахарным диабетом

Настойка сныти обыкновенной в дозах 1 и 5 мл/кг и ее экстракт в дозе 1 г/кг при курсовом введении проявляют достоверный гипогликемический эффект у мышей с аллоксановым сахарным диабетом, превосходя официальный сбор «Арфазетин». Препараты сныти нормализуют уровень мочевой кислоты в крови. Экстракт проявляет гипозотемическое действие, связанное с экстраренальными механизмами, и нормализует динамику массы тела, тогда как настойка увеличивает содержание мочевины в крови. Перспективны дальнейшие исследования противодиабетического действия экстракта сныти в дозе 1 г/кг и настойки сныти в дозе 1 мл/кг.

Ключевые слова: сныть обыкновенная (*Aegopodium podagraria* L.), аллоксан, метаболизм глюкозы, гипогликемические средства, мочевая кислота

О. V. Tovchiga

The influence of goutweed (*Aegopodium podagraria* L.) preparations on the metabolic processes in alloxan-induced diabetic mice

The goutweed (*Aegopodium podagraria* L.) tincture in doses of 1 ml/kg and 5 ml/kg as well as goutweed dry extract in dose of 1 g/kg (course treatment) render statistically significant hypoglycaemic effect in alloxan-induced diabetic mice surpassing official collection "Arphazetin". Goutweed preparations normalize blood uric acid level. The extract exerts hypoazotemic effect concerned with extrarenal mechanisms and normalizes body mass dynamics, the tincture increases blood urea content. The goutweed dry extract in dose of 1 g/kg and the goutweed tincture in dose of 1 ml/kg are promising for the future research as potential antidiabetes preparations.

Key words: goutweed (*Aegopodium podagraria* L.), alloxan, glucose metabolism, hypoglycaemic preparations, uric aci

Надійшла: 03.07.2012 р.

Контактна особа: Товчига Ольга Володимирівна, канд. фарм. наук, асистент кафедри фармакології, Національний фармацевтичний університет, буд. 53, вул. Пушкінська, м. Харків, 61002. Тел. +38 (057) 706-30-69.

Т. І. Ющенко¹, Т. А. Германюк¹, С. І. Чорнокнижний¹,
Н. В. Заїчко¹, А. П. Король¹,
З. М. Прокопчук¹, Р. В. Родік², Є. А. Чешун³

Антибактеріальна та антиагрегантна активність тетраалкіламонійних похідних калікс [4,6]аренів

¹Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова

²Інститут органічної хімії НАН України, м. Київ

³Бактеріологічна лабораторія Вінницької обласної лікарні імені М. І. Пирогова

Ключові слова: каліксарени,
антибактеріальна активність,
антиагрегантна активність

Протягом останніх десятиріч супрамолекулярна хімія оформилася як окремий підрозділ хімічної науки [1]. Сьогодні найперспективнішим напрямом розвитку супрамолекулярної хімії вважають створення «молекул-господарів» із преорганізованою структурою та центрами, здатними до ефективних та селективних взаємодій [2]. Такі молекули утворюють комплекси типу «господар-гість» з різними частинками від неорганічних іонів до малих органічних молекул і гормонів, від амінокислот та пептидів до нейротрансмітерів. Серед «молекул-господарів» у фармацевтичному та біологічному контексті найбільше вивчаються циклодекстрини, краун-етери, криптанди та каліксарени [3]. Останні є макроциклічними сполуками, що легко отримуються прецизійною циклоконденсацією пара-заміщених фенолів і формальдегіду [4].

Каліксарени мають внутрішньомолекулярні високовпорядковані ліпофільні порожнини, утворені ароматичними фрагментами макроциклічного кістяка й демонструють унікальну здатність розпізнавати та зв'язувати в стійкі комплекси типу «гість-господар», а також розділяти, близькі за властивостями катіони [5], аніони [6] та нейтральні молекули [7]. Ці властивості широко використовуються при створенні екстрагентів для переробки радіоактивних відходів [8], супрамолекулярних каталізаторів [9], сенсорів [10], біоміметиків [11].

Так, пептидокаліксарени проявляють високу антибактеріальну активність відносно пеніциліностійких, пеніциліночутливих та метициліностійких грампозитивних бактерій і не діють на грамнегативні бактерії. Їхні антибактеріальні властивості близькі до активності природного антибіотика ванкоміцину [12].

n-трет-октилкалікс [8]арени, що містять поліоксиетиленові фрагменти на нижньому вінці макроциклу, показали значну протитуберкульозну активність, що залежить від довжини поліоксиетиленового ланцюга [13]. Ріст *Mycobacterium tuberculosis* усередині інфікованих клітин було подавлено каліксаренами з *n* = 12,5, у той самий час при *n* = 60 спостерігався посилений ріст бактерій. Ці каліксарени впливають на метаболізм ліпідів макрофагів, що беруть участь у знищенні *M. tuberculosis* шляхом фагоцитозу. Цей механізм повністю відрізняється від механізму дії інших протитуберкульозних ліків.

Також описані приклади антивірусної активності каліксаренів. Встановлені сполуки з високою активністю щодо багатьох РНК- та ДНК-вірусів (ретровірусів, вірусу герпесу I та II, вірусів грипу та респіраторного синцитіального вірусу, ВІЛ). Досліджений проти вірусу герпесу сульфонатакалікс [4]-нафтил-арен виявився значно ефективнішим (у 10–100 разів) ніж ацикловір, фосфоноформіат, фосфометоксиетиладенін та проявив таку саму активність, що й ганцикловір [14]. Калікс [4]пірогалоларенкарбонова кислота проявила активність проти вірусів імунodefіциту людини ВІЛ-1 та ВІЛ-2 у концентраціях 10 та 0,03 мкМ відповідно [15].

Вивчення антибактеріальних властивостей полікатионних каліксаренів є актуальним з точки зору пошуку нових антибактеріальних препаратів, тому що відомо, що такі поверхнево-активні речовини, як етоній, декаметоній, декаметоксин, мають високу антибактеріальну дію, оскільки є дикатионними сполуками [16].

Як показали попередні дослідження, крім антимікробних властивостей каліксарени мають також інші [17]. Так, біологічна активність сульфокаліксаренів, модифікованих по верхньому вінцю макроциклу сульфо-, сульфонамідними та сульфонатними групами, обумовлена селективною взаємодією з певними білками. Ці сполуки було досліджено, як антикоагулянти та антитромботичні засоби на крові багатьох видів ссавців та людини. У деяких випадках вони показали активність, близьку до гепарину та кумарину. При використанні вказаних сполук внутрішньовенно вони діють протягом 4 год, при пероральному застосуванні цей ефект спостерігається протягом 8 год [18]. З іншого боку, катіонні каліксарени навпаки можуть підвищувати тромботичну активність та бути антагоністами гепарину [19].

Дослідження впливу каліксаренів на агрегацію тромбоцитів є важливим з точки зору вивчення можливих побічних ефектів у речовин з антибактеріальними властивостями. У зв'язку із цим є актуальним дослідження нових синтезованих каліксаренів як на антимікробну активність, так і на наявність впливу на агрегацію тромбоцитів.

Мета дослідження – вивчення антимікробної та антиагрегантної активності полікатионних каліксаренів.

Матеріали та методи. Досліджено 4 каліксарени (табл. 1): каліксарен № 1 [20], каліксарен № 2 (отримано аналогічно № 1), каліксарен № 3 [21], каліксарен № 4 [22].

Досліди на тваринах проводили з дотриманням Міжнародних вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985 р.), методичних рекомендацій ДФЦ МОЗ України «Доклінічні дослідження лікарських засобів»

[23], «Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [24].

Експериментальними тваринами були білі миші обох статей, масою 20 г (об'єм крові 1,6 мл), яких утримували у віварії ВНМУ імені М. І. Пирогова на стандартному харчовому раціоні з вільним доступом до води та їжі.

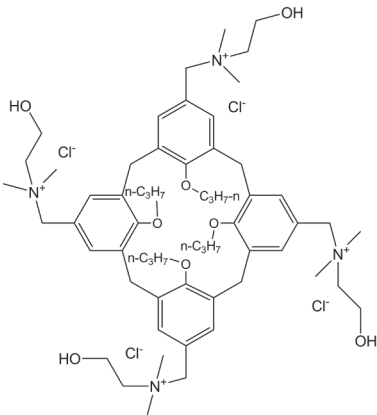
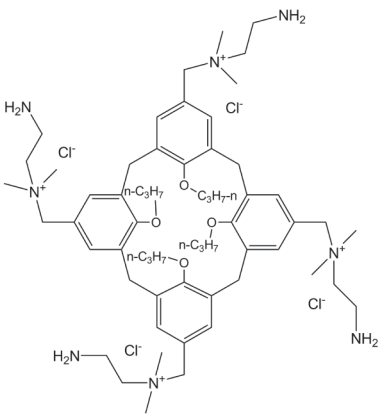
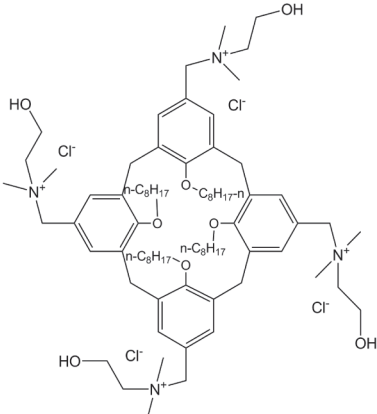
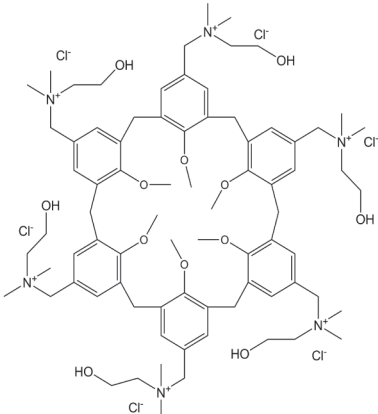
Експериментальне дослідження проводили на білих мишах, попередньо інфікованих музейним штамом *S.aureus* 209 P. Інфікування мишей проводили шляхом внутрішньочеревинного введення музейного штаму культури *Staphylococcus aureus* з концентрацією 400 млн мікробних тіл у 1 мл [25]. Розподіл експериментальних тварин по групах представлено в таблиці 2.

Антимікробну активність досліджуваних речовин вивчали методом послідовних серійних розведень, що передбачає визначення мінімальної бактеріостатичної (МБсК) та мінімальної бактерицидної концентрацій (МБцК). Для визначення МБсК готували послідовні 2-разові серійні розведення основного розчину речовини в рідкому поживному середовищі і потім визначали її за найменшою концентрацією речовини, у присутності якої не спостерігали росту культури мікроорганізмів. Бактерицидну концентрацію (МБцК) досліджуваних речовин встановлювали за результатами висіву вмісту пробірок із розведеннями на щільні поживні середовища [26].

Антимікробну активність речовин вивчали на музейних штаммах стафілококів та ешерихій на базі кафедри мікробіології, вірусології, імунології Вінницького національного медичного університету (ВНМУ) імені М. І. Пирогова. Музейні, або референт-штами *S. aureus* 209 P – *S. aureus* RIA 209 P = ATCC 6538; *E. coli* M 17, мають типові, стандартні біологічні властивості й зберігаються в колекції культур кафедри мікробіології, вірусології, імунології ВНМУ імені М. І. Пирогова. Щільність інокуляту – 10^5 КУО/мл; умови вирощування культури: у стандартних термостатних умовах при температурі 37 °С.

Для вивчення впливу досліджуваних каліксаренів на агрегацію тромбоцитів проводили біохімічні дослідження. Веноз-

Структура досліджуваних каліксаренів

Номер каліксарену	№ 1	№ 2
Структура каліксарену		
Номер каліксарену	№ 3	№ 4
Структура каліксарену		

ну кров отримували в практично здорових осіб віком 20–40 років, які не приймали препаратів, що впливають на агрегацію тромбоцитів, і перед проведенням дослідження втримувались від уживання напоїв із кофеїном, паління та інтенсивних фізичних навантажень. Кров набирали з ліктьової вени широкою голкою в пластикову пробірку з 3,8 % розчином лимоннокислого натрію в співвідношенні 9:1.

Збагачену тромбоцитами плазму (ПЗТ) отримували центрифугуванням стабілізованої крові при 300 g упродовж 5 хв при 18–22 °С. Бідну тромбоцитами плазму (ПБТ) отримували центрифугуванням ПЗТ при 1500 g упродовж 20 хв. У ПЗТ визначали кількість тромбоцитів і за необхідності розводили її ПБТ до концентрації 250 000 клітин у

1 мкл. Агрегатометрію виконували в перші 3 години після забору крові на фотооптичному агрегометрі AP2110 Солар, принцип роботи якого заснований на методі Born [27]. Перед дослідженням проводили скринінгову оцінку агрегації тромбоцитів донорів (індуктор – 2,5 мкМ ADP), за умов виявлення гіпоагрегації ПЗТ не використовували.

Для дослідження впливу каліксаренів на агрегацію тромбоцитів людини *in vitro* ПЗТ інкубували упродовж 10 хв при 37 °С у присутності каліксаренів № 1, № 2, № 3, № 4 у кінцевій концентрації 0,04 мг/мл. Розчини цих речовин готували на дистильованій воді безпосередньо перед проведенням дослідження й додавали в об'ємі 50 мкл на 400 мкл ПЗТ. Контролем була ПЗТ, інкубована

Розподіл експериментальних тварин по групах

Група	Кількість тварин
Група, інфікована штамом культури <i>Staphylococcus aureus</i> у концентрації 400 млн мікробних тіл у 1 мл, без лікування (контрольна група 1)	4 миші
Група неінфікованих мишей, яким вводили водний розчин каліксарену в дозі 2 мг/мл крові миші триразово через кожні 12 годин (контрольна група 2)	4 миші
Група, інфікована штамом культури <i>Staphylococcus aureus</i> у концентрації 400 млн мікробних тіл в 1 мл; лікування – одноразове введення 1 мл водного розчину каліксарену в дозі 0,1 мг/мл крові миші через 2 год після інфікування (група 3)	4 миші
Група, інфікована штамом культури <i>Staphylococcus aureus</i> у концентрації 400 млн мікробних тіл у 1 мл; лікування – одноразове введення водного розчину каліксарену в дозі 2 мг/мл крові миші через 2 год після інфікування (група 4)	4 миші
Група, інфікована штамом культури <i>Staphylococcus aureus</i> в концентрації 400 млн мікробних тіл в 1 мл; лікування – перше введення водного розчину каліксарену в дозі 2 мг/мл крові миші через 2 год після інфікування та повторні введення розчину через кожні 12 год (група 5)	4 миші

упродовж 10 хв при 37 °С із 0,89 % фізіологічним розчином NaCl в об'ємі 50 мкл на 400 мкл ПЗТ. Агрегацію ініціювали АДФ у кінцевій концентрації 2,5 мкМ (Технологія-Стандарт, Росія [28]) відповідно до інструкцій фірми-виробника. Процес агрегації тромбоцитів реєстрували упродовж 10 хв. Оцінювали: ступінь агрегації – максимальний рівень світлопропускання ПЗТ після внесення індуктора агрегації (за 100 % прийнято рівень світлопропускання ПБТ); швидкість агрегації – зміна світлопропускання ПЗТ після внесення індуктора за перші 30 с; час агрегації – час досягнення максимального ступеня агрегації.

Результати та їх обговорення. У дослідженні антимікробної активності встановлено (табл. 3), що речовини № 1 та № 2 мали незначну активність щодо музейного штаму кишкової палички (МБсК – 62,5 та 125 мкг/мл). У речовини № 3 та № 4 активність відносно того самого штаму *E. coli* була відсутня

(МБсК – 500 мкг/мл), активність проти стафілококу в цих речовин виявилася незначною (МБсК – 62,5 та 125 мкг/мл).

Речовини № 1 та № 2 мали виразну антистафілококову активність. МБсК речовини № 1 відносно *S.aureus* 209 Р складає 1,95 мкг/мл; МБцК – 31,25 мкг/мл. Виразну антибактеріальну активність відносно золотистого стафілококу виявлено й у речовини № 2 (МБсК – 1,95 мкг/мл, МБцК – 7,8 мкг/мл).

На основі аналізу хімічної будови включених у дослідження речовин, аналізу результатів попередніх досліджень та проведеного нами мікробіологічного дослідження можна встановити наступні кореляції між хімічною будовою та антимікробною активністю речовин: різна конформація кістяка в структурі каліксарена має вплив на мікробіологічну активність.

Конформаційно-жорсткі калікс[4]-арени № 1 та № 2 за результатами наших досліджень мали більш вираже-

Таблиця 3

Антибактеріальна активність каліксаренів

№ речовини	МБсК (мкг/мл)		МБцК (мкг/мл)	
	<i>S.aureus</i> 209 Р	<i>E.coli</i> М-17	<i>S.aureus</i> 209 Р	<i>E.coli</i> М-17
Речовина № 1	1,95	62,5	31,25	250
Речовина № 2	1,95	125	7,8	500
Речовина № 3	62,5	500	125	500
Речовина № 4	125	500	250	500

ну антистафілококову активність (МБсК – 1,95 мкг/мл) ніж конформацийно-рухливий каліксарен № 4 (МБсК – 125 мкг/мл), що узгоджується з даними літератури [12, 13].

Також на антибактеріальну активність має вплив структура радикала у верхньому ободі: заміна радикала -ОН (речовина № 1) на -NH₂ (речовина № 2) дещо підвищила активність речовин (МБсК – 62,5 проти 125 мкг/мл) відносно *E. coli*.

Крім того, встановлений вплив на антибактеріальну активність радикала в нижньому ободі: речовини з коротким радикалом (n = 1–3) (речовини № 1 та № 2) мали більшу активність, ніж речовини з довгим ланцюгом (n = 8) (речовина № 3). Речовини із ще більш довгим ланцюгом (n = 60) навпаки підвищували активність мікроорганізмів [13].

У подальшому вивчали на експериментальних тваринах антистафілококову активність каліксарену (речовина № 2) з метильним радикалом на нижньому вінці та аміногрупою на верхньому вінці, оскільки в мікробіологічному дослідженні він продемонстрував найбільшу антистафілококову активність (МБсК – 7,8 мкг/мл). Розвиток сепсису в експериментальних тварин був підтверджений під час зовнішнього огляду при розтині (зафіксовано септичне вогнище в черевній порожнині, з гнійним запаленням, гнійним тромбофлебітом, лімфангітом і лімфаденітом) та гістологічно (рис. 1–5). Так, у легенях зафіксовано повнокров'я

судин, потовщення стінок альвеол та розширення альвеол, лейкоцитарну інфільтрацію, ексудат в альвеолах, крововиливи в бронхи (рис. 1).

У печінці виявлено повнокров'я судин, лейкоцитарну інфільтрацію, просвіти центральних вен і синусоїдів розширені, присутні ділянки некрозу (рис. 2, 3). У нирках – судини кіркового й мозкового шарів також повнокровні. Ниркові тільця інфільтровані лейкоцитами. Кровоносні капіляри в клубочках повнокровні. Перитубулярні судини також повнокровні, навколо них виражена лейкоцитарна інфільтрація (рис. 4, 5).

У подальшому, з метою лікування піддослідних тварин, вводили внутрішньочеревинно 1 мл водного розчину каліксарену (речовина № 2) у дозах 0,1 мг/мл крові миші та 2 мг/мл крові миші за двома схемами.

1. Одноразове введення водного розчину каліксарену (речовина № 2) у дозі 0,1 мг/мл крові миші через 2 год після інфікування (група 3) і одноразове введення водного розчину каліксарену (речовина № 2) у дозі 2 мг/мл крові миші через 2 год після інфікування (група 4).
2. Триразове введення: перше введення водного розчину каліксарену (речовина № 2) у дозі 2 мг/мл крові миші через 2 год після інфікування та повторні введення через кожні 12 год (група 5).

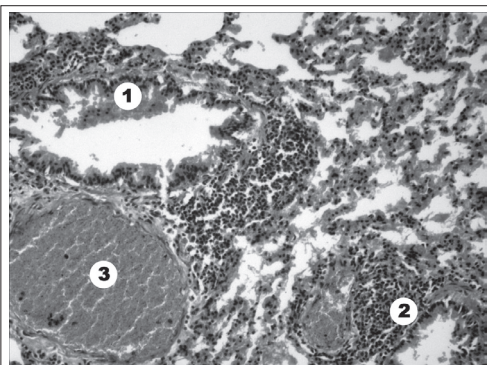


Рис. 1. Фрагмент легені миші з модельним сепсисом без лікування, забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікропрепарат. Збільшення – $\times 100$.

- 1 – Крововиливи в просвіт бронха
2 – Лейкоцитарна інфільтрація
3 – Повнокров'я кровосносних судин

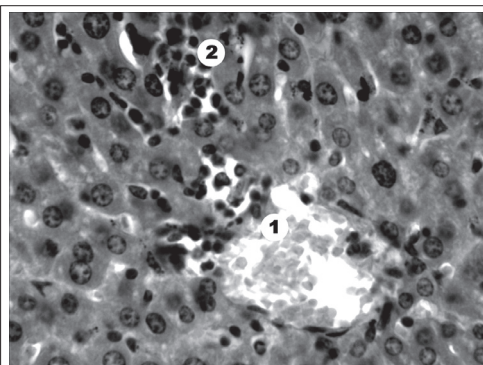


Рис. 2. Фрагмент печінки миші з модельним сепсисом без лікування, забарвлення гематоксиліном та еозином.

Мікропрепарат. Збільшення – $\times 400$.

- 1 – Центральна вена
2 – Лейкоцитарна інфільтрація

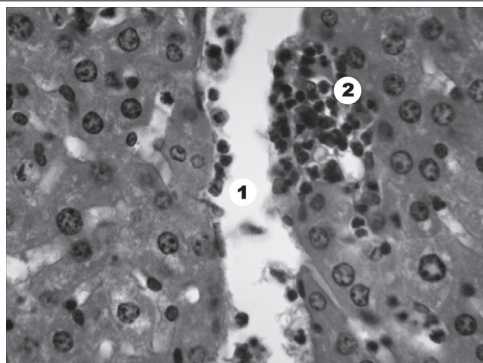


Рис. 3. Фрагмент печінки миші з модельним сепсисом без лікування, забарвлення гематоксиліном та еозином. Мікропрепарат. Збільшення – $\times 400$.
1 – Синусоїд
2 – Вогнищевий некроз гепатоцитів

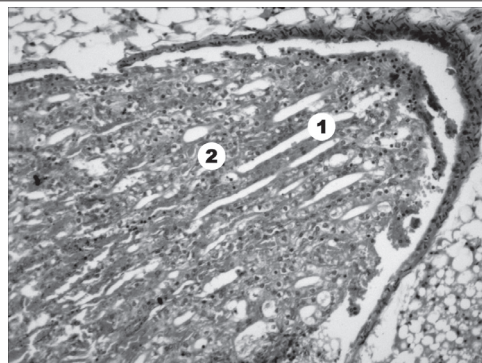


Рис. 4. Фрагмент нирки миші з модельним сепсисом без лікування, забарвлення гематоксиліном та еозином. Мікропрепарат. Збільшення – $\times 100$.
1 – Повнокров'я судин мікроциркуляторного русла
2 – Дифузна лейкоцитарна інфільтрація інтерстицію мозкової речовини

Результат лікування оцінювали за даними гістологічного дослідження. Встановлено, що каліксарен (речовина № 2) у дозі 0,1 мг/мл крові миші сприятливо вплинув на розвиток сепсису. Під час розтину зафіксовано меншу вираженість сепсису порівняно з інфікованими тваринами, які не отримували лікування (рис. 6). У печінці виявлено повнокров'я судин та дифузну лейкоцитарну інфільтрацію. Лейкоцитарна інфільтрація найбільше була виражена в порталних трактах. Ділянки некрозу не спосте-

рігали (рис. 6). У нирках – повнокров'я судин та інфільтрація лейкоцитів менш виражені, ніж при сепсисі без лікування.

У тварин, що отримували каліксарен (речовина № 2) у дозі 2 мг/мл крові одно- та триразово, під час розтину зафіксовано ще менш виражений сепсис порівняно з картиною в інфікованих тварин, які не отримували лікування (рис. 7–10). Гістологічна картина сепсису не відрізнялася при 1- та 3-разовому введенні каліксарену (речовина № 2) у дозі 2 мг/мл крові миші.

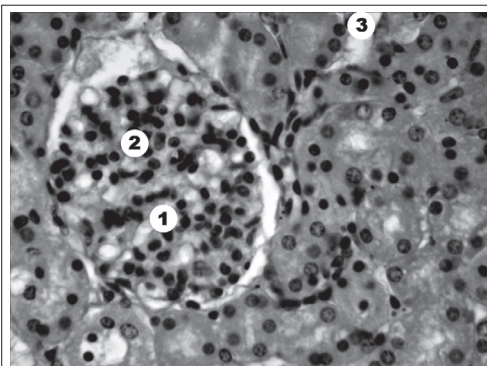


Рис. 5. Фрагмент нирки миші з модельним сепсисом без лікування, забарвлення гематоксиліном та еозином. Мікропрепарат. Збільшення – $\times 400$.
1 – Розширені та повнокровні просвіти капілярів клубочків
2 – Лейкоцитарна інфільтрація
3 – Повнокров'я перитубулярних капілярів

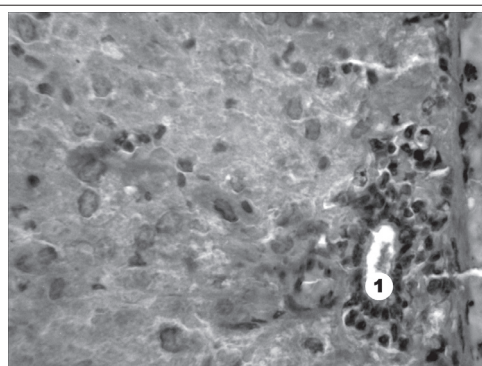


Рис. 6. Фрагмент печінки миші з модельним сепсисом, що отримувала лікування каліксареном у дозі 0,1 мг/мл крові миші (одноразове введення через 2 год після інфікування), забарвлення гематоксиліном та еозином. Мікропрепарат. Збільшення – $\times 400$.
1 – Повнокров'я центральної вени

У легенях просвіти судини помірно повнокровні, альвеоли розширені, але стінки альвеол не потовщені, на відміну від тварин, у яких моделювали сепсис, але не лікували (рис. 7, 8). У печінці просвіти центральних вен повнокровні, лейкоцитарна інфільтрація була менш виражена, ніж у групі тварин без лікування, просвіти центральних вен і синусоїдів розширені й випрямлені, спостерігали вакуолярну дистрофію цитоплазми гепатоцитів (рис. 9). У нирках також спостерігали порушення кровотоку, що проявлялося повнокров'ям судин кіркової й мозко-

вої речовин. Капіляри клубочків у ниркових тільцях були різко повнокровні, їхні просвіти розширені (рис. 10).

Таким чином, застосування різних схем уведення каліксарену (речовина № 2) у дозі 2 мг/мл крові миші, як одноразово (група 4), так і триразово (група 5), не вплинуло на результати дослідження.

Усі миші з контрольної групи 2 (не інфіковані) вижили.

Як уже зазначалося, для нових антибіотиків дуже важливою є відсутність або мінімальна кількість побічних ефектів. Одним із таких ефектів є вплив на

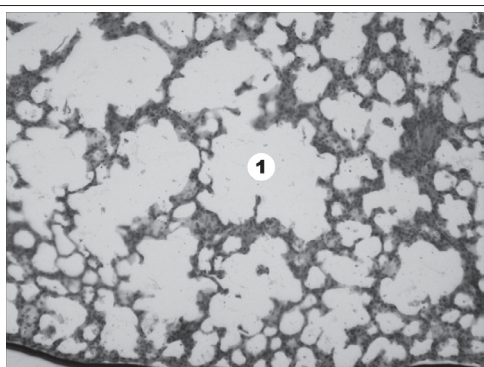


Рис. 7. Фрагмент легені миші з модельним сепсисом, що отримувала лікування каліксареном у дозі 2 мг/мл крові миші. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Мікропрепарат. Збільшення – $\times 100$.
1 – Альвеола

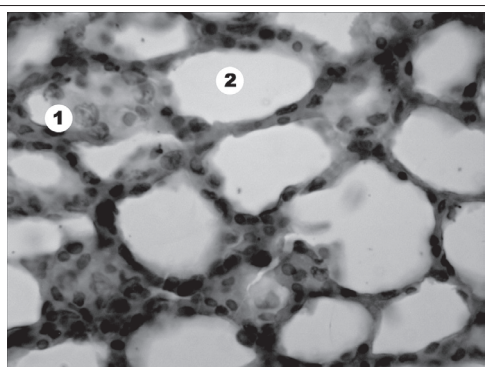


Рис. 8. Фрагмент легені миші з модельним сепсисом, що отримувала лікування каліксареном у дозі 2 мг/мл крові миші. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Мікропрепарат. Збільшення – $\times 400$.
1 – Просвіт кровоносного капіляра
2 – Просвіт альвеоли

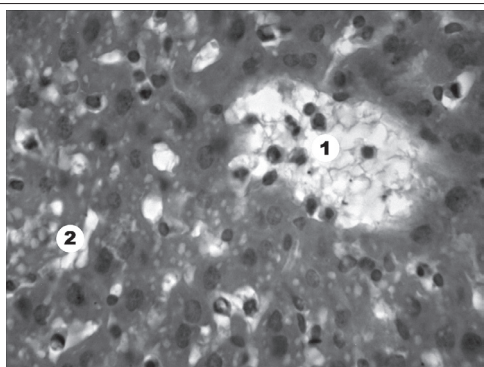


Рис. 9. Фрагмент печінки миші з модельним сепсисом, що отримувала лікування каліксареном у дозі 2 мг/мл крові миші. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Мікропрепарат. Збільшення – $\times 400$.
1 – Центральна вена
2 – Вакуолярна дистрофія цитоплазми гепатоцитів

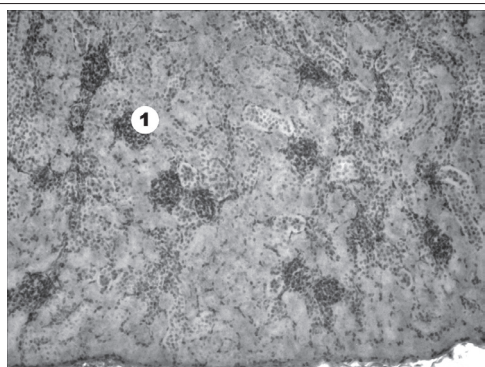


Рис. 10. Фрагмент нирки миші з модельним сепсисом, що отримувала лікування каліксареном у дозі 2 мг/мл крові миші. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Мікропрепарат. Збільшення – $\times 100$.
1 – Ниркові тільця кіркових нефронів

Вплив каліксаренів на показники АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів, ($M \pm m$, $n = 4$)

Показники агрегації тромбоцитів	Контроль	Каліксарени			
		1	2	3	4
Ступінь агрегації, %	57,90 $\pm$ 3,20	58,30 $\pm$ 3,13	59,70 $\pm$ 1,76	62,40 $\pm$ 2,68	58,70 $\pm$ 1,61
Час агрегації, с	379,0 $\pm$ 39,3	414,0 $\pm$ 19,9	416,0 $\pm$ 19,8	392,0 $\pm$ 28,0	393,0 $\pm$ 25,3
Швидкість, % за хв	44,50 $\pm$ 2,09	40,10 $\pm$ 4,46	42,30 $\pm$ 2,90	43,40 $\pm$ 3,85	44,90 $\pm$ 4,37

склад крові та провокування утворення тромбів у капілярах. Було проведено вивчення впливу каліксаренів на агрегацію тромбоцитів людини *in vitro*.

У ході дослідження не встановлено вірогідного впливу каліксаренів № 1, № 2, № 3 та № 4 у концентрації 0,04 мг/мл на агрегацію тромбоцитів людини (табл. 4).

Автори висловлюють щиру подяку члену-кореспонденту НАН України, доктору хімічних наук, професору Віталію Івановичу Кальченко за плідну дискусію та допомогу в аналізі результатів.

Висновки

1. Продемонстровано в мікробіологічних дослідженнях, що каліксарени № 1 та № 2 мають виражену активність відносно грампозитивного штаму *S. Aureus* 209 P, у той час, як каліксарени № 3 та № 4 такої активності не мають.
2. Показано, що антибактеріальна активність залежить від конформа-

ції кістяка та довжини алкільних груп на нижньому вінці макроциклу. Конформаційно-жорсткі калікс [4]арени № 1 та № 2 є активними, у той самий час, як конформаційно-рухливий каліксарен № 4 – не активний. При збільшенні довжини алкільних груп на нижньому вінці макроциклу антибактеріальна активність каліксаренів зменшується (каліксарен № 3).

3. Активності відносно грамнегативного штаму кишкової палички *E. coli* M 17 у мікробіологічних дослідженнях не встановлено в жодного з досліджених каліксаренів.
4. Не виявлено вірогідного впливу досліджуваних каліксаренів у концентрації 0,04 мг/мл на показники АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів людини *in vitro*.
5. З огляду на отримані результати, доцільно проводити подальше дослідження антибактеріальних властивостей каліксаренів.

1. Зоркий П. М. Супрамолекулярная химия: возникновение, развитие, перспективы / Зоркий П. М., Лубнина И. Е. // Вестн. Моск. Ун-та. Сер.2. Химия. – 1999. – Т. 40, № 5. – С. 300–307.
2. Лен Ж.-М. Супрамолекулярная химия. Концепции и перспективы / Ж.-М. Лен. – Новосибирск: Наука, 1998. – 334 с.
3. Сид Д. В. Супрамолекулярная химия / Сид Д. В., Этвуд Д. Л.; в 2-х томах. – М.: Академкнига, 2007. Том 1. – 480 с. Том 2. – 416 с.
4. Gutsche C. D. Calixarenes Revisited / Gutsche C. D. // The Royal Society of Chemistry, Cambridge. – 1998. – 233 p.
5. Calixarenes for Separations / Lumetta G. J., Rogers R. D., Gopalan A. S. [et al.] // American Chemical Society. – Washington, 2000. – 366 p.
6. Urea derivatives of calix [4]arene 1,3 –alternate: an anion receptor with profound negative allosteric effect / Budka J., Lhotak P., Michlova V., Stibor I. // Tetrahedron Lett. – 2001. – V. 42. – P. 1583–1586.
7. Complexation of small neutral organic molecules by water soluble calix [4]arenes / Arena G., Contino A., Gulino F.G. [et al.] // Tetrahedron Lett. – 2000. – V. 41. – P. 9327–9330.
8. New wide rim phosphomethylated calix [4]arenes in extraction of americium and europium / Klimchuk O., Atamas L., Miroshnichenko S. [et al.] // Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry. – 2004. – V. 49. – P. 47–56.
9. Water-soluble calixarenes as new inverse phase / Shimizu S., Shirakawa S., Suzuki T., Sasaki Y. // Tetrahedron. – 2001. – V. 57. – P. 6169–6174.
10. Calixarene based QCM sensors array and it's response to volatile organic vapours / Kalchenko V. I., Koshets I. A., Matsas E. P. [et al.] // Materials Science. – 2002. – V. 20. – P.73–88.
11. Casnati A. Peptido- and Glycocalixarenes: Playing with Hydrogen Bonds around Hydrophobic Cavities / Casnati A., Sansone F., Ungaro U. // Acc. Chem. Res. – 2003. – V. 36. – P.246–254.
12. Calix [4]arenes in bioorganic chemistry / Casnati A., Fabbi M., Pelizzi N. [et al.] // Bioorg. Med. Chem. Lett. – 1996. – V. 6. – P.2699–2704.

13. Hart P. D. Calixarenes with host- mediated potency in experimental tuberculosis: further evidence that macrophage lipids are involved in their mechanism of action / Hart P. D., J. A. Armstrong J.A., Brodaty E. // *Infect. And Immun.* – 1996. – V. 64. – P.1491–1493.
14. Hwang K. M., Qi Y. M., Liu S.-Y. Patent US5196452 - Macrocyclic antiviral compound and method, 1993.
15. Takeshi Y., Kazuhiro F., Makiko O. Patent of Japan JP10203906A2 1998.
16. Пасечников С. П. Декасан в лечении инфицированных ран после урологических операций / Пасечников С. П., Никитин О. Д. // *Мистецтво лікування: журнал сучасного лікаря.* – 2005. – № 6. – С. 22–26.
17. Кальченко В. І. Каліксарени. Перспективи медико-біологічного застосування / Кальченко В. І., Родік Р. В., Бойко В. І. // *Журнал органічної та фармацевтичної хімії (ЖОФХ).* – 2005. – Т. 3, Вип. 4. – С. 13–29.
18. Hwang K. M., Qi Y. M., Liu S.-Y., Thomas B., Lee C., Bruno S., Choy W. et al. Patent US5409959 – Antithrombotic treatment with calix(n)arene compounds, 1995. (Ca. 123: 959c).
19. Mecca T., Consoli G. M. L., Geraci C., La Spina R., Cunsolo F. polycationic calix [8]arenes able to recognize and neutralize heparin // *Org. Biomol. Chem.* – 2006. – V. 4. – P. 3763–3768.
20. The Nature of Aqueous Solutions of a Cationic Calix [4]arene: A Comparative Study of Dye-Calixarene and Dye-Surfactant Interactions / Mchedlov-Petrosyan N. O., Vilkova L. N., Vodolazkaya N. A. [et al.] // *Sensors.* – 2006. – V. 6. – P. 962–977.
21. Virus-Sized DNA Nanoparticles for Gene Delivery Based on Micelles of Cationic Calixarenes / Rodik R. V., Klymchenko A. S., Jain N. [et al.] // *Chem. Eur. – J.* 2011 – V. 17. – P. 5526–5538.
22. Aggregation of cationic calixarenes in water solutions and influence of their aggregates on the acid-base equilibrium of indicator dyes / Mchedlov-Petrosyan N. O., Bogdanova L. N., Rodik R. V. [et al.] // *Reports of NAS of Ukraine (Ukrainian).* – 2010. – № 3 – P. 148–153.
23. Доклінічні дослідження лікарських засобів / Методичні рекомендації за редакцією Стефанова О. В. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.
24. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р. У. Хабриева – М. : Медицина, 2005. – 832 с.
25. Першин Г. Н. Методы экспериментальной химиотерапии / Г. Н. Першин. – М.: Медицина, 1971. – 541 с.
26. Микробиология и иммунология / Под редакцией А. А. Воробьева. – М. : Медицина, 2005. – 496 с.
27. Born G. V. R. Effects of inorganic ions and of plasma proteins on the aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate / Born G. V. R., Cross M. J. // *J. Physiol.* – 1964. – V. 170. – P.397–414.
28. Баркаган З. С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / Баркаган З. С., Момот А. П. – М.: Ньюдиамед-АО, 2008. – 292 с.

**Т. І. Ющенко, Т. А. Германюк, С. І. Чернокнижний, Н. В. Заичко,
А. П. Король, З. М. Прокопчук, Р. В. Родик, Е. А. Чешун**

Антибактериальная и антиагрегантная активность каликс [4, 6]аренов

Изучена антибактериальная и антиагрегантная активность четырех поликатионных каликсаренов. Установлена выраженная активность каликсаренов № 1 и № 2 относительно грамположительного штамма стафилококка (*S. aureus* 209 P), которая зависит от их химической структуры, а именно от конформации скелета и длины алкильных групп на нижнем венце макроцикла. Экспериментальные исследования на белых мышах в условиях моделирования сепсиса показали перспективность дальнейшего изучения антибактериальной активности каликсаренов. Не выявлено влияния изученных каликсаренов на показатели АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов *in vitro*.

Ключевые слова: каликсарены, антибактериальная активность, антиагрегантная активность

T. I. Yushchenko, T. A. Germaniuk, S. I. Chernoknizhny, N. V. Zaichko,

A. P. Korol, Z. M. Prokopchuk, R. V. Rodyk, E. A. Cheshun

Antibacterial and antiaggregant activity of calyx [4,6]arenes

It was studied the antibacterial and antiaggregant activity of four polycationic calixarenes. It was revealed marked activity of calixarenes number 1 and number 2 as to the gram-positive strain of staphylococcus (*S.aureus* 209 P), that depends on their chemical structure, namely, on conformation of the skeleton and the length of the alkyl groups on the lower crown of macrocycle. The experimental studies on white mice with modeling sepsis showed the promise of further study of antibacterial activity of the calixarenes. There were revealed no effects of studied calixarenes on parameters of ADP-induced platelet aggregation *in vitro*.

Key words: calixarenes, antibacterial activity, antiaggregant activity

Надійшла: 11. 10. 2012 р.

Контактна особа: Ющенко Тетяна Іванівна, канд. хім. наук, доцент, завідувача кафедрою фармацевтичної хімії, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018.

Л. В. Яковлева¹, О. П. Маційчук², Є. О. Ковальова¹, Н. С. Чорна¹

Вплив нових фітопрепаратів на основі соку подорожника на секрецію шлункового соку та стан слизової оболонки шлунка щурів за умов норми та патології

¹Національний фармацевтичний університет,

Центральна науково-дослідна лабораторія (ЦНДЛ), м. Харків,

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

Ключові слова: подорожник великий,
подорожник ланцетолистий, виразкова
хвороба шлунка

Виразкова хвороба шлунка (ВХШ) – гетерогенне, хронічне, з різною періодичністю рецидивуюче захворювання, з різними варіантами перебігу та прогресування, у частини хворих призводить до серйозних ускладнень. Діагностують ВХШ майже в 10 % населення Європи та 15 % населення Америки. В Україні поширеність виразкової хвороби шлунка складає 8–10 % [1]. В Україні інфікованість населення *H. pylori* становить понад 80 %. У всіх інфікованих розвивається хронічний антральний гастрит типу В, який є тлом для розвитку ерозій та виразкової хвороби [2, 3].

За сучасних умов у комплексній терапії гастроентерологічних захворювань широко використовуються препарати рослинного походження. Це зумовлено їхніми численними перевагами перед синтетичними препаратами: низькою токсичністю, низькою частотою або відсутністю побічних явищ, можливістю довгострокового застосування тощо [4].

Подорожник великий (*Plantago major* L.) – одна з найпопулярніших лікарських рослин, яка давно використовується при різноманітних захворюваннях, особливо як ранозагоювальна. Дані літератури свідчать, що витяжки з подорожника пригнічують виразкоутворення на 37–40 %, збільшують хемотактильну активність нейтрофілів, інгібують синтез простагландинів, проявляють аналгетичну дію на моделі оцто-

вих корчів, проявляють антиоксидантну дію [5].

Було запропоновано технологію отримання нових комплексних препаратів на основі двох видів подорожника – подорожника великого та подорожника ланцетолистого з метою посилення противиразкової активності порівняно з препаратом «Подорожника сік» (ВАТ «Лубнифарм»), що містить виключно сік подорожника великого.

Мета роботи – вивчення впливу двох фітопрепаратів на основі соку подорожника великого та подорожника ланцетолистого, отриманих за новою технологією, на секреторну активність шлунка та виразкоутворення на моделі етанол-преднізолонкової виразки шлунка в щурів.

Матеріали та методи. Об'єктами проведених досліджень були два комплексні фітопрепарати (далі СП 1 та СП 2), різні за вмістом листя, коренів та насіння подорожників ланцетолистого та великого. Фітопрепарати отримано на кафедрі фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О. О. Богомольця під керівництвом доктора хімічних наук Н. П. Максютіної.

Ефективність зразків оцінювали порівняно із препаратом «Подорожника сік» (ВАТ «Лубнифарм») (ПП). Умовно-терапевтичну дозу препарату порівняння для щурів розраховали з використанням коефіцієнтів видової стійкості за Ю. П. Риболєвцевим, виходячи із середньодобової дози для людини [9].

Сік подорожника № 1 (СП 1) містив сік листя подорожника великого, а

також водний витяг із насіння та коренів (1:1).

Сік подорожника № 2 (СП 2) містив сік листя подорожника великого та подорожника ланцетистого (1:1) та водний витяг з їхнього насіння (1:3).

Усі дослідження були проведені на білих безпородних щурах. Утримання тварин відповідало діючим правилам щодо пристроїв, обладнання та утримання віваріїв. Тварини отримували стандартне харчування відповідно до діючих норм [6]. Із тваринами поводитися згідно з правилами «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.). Виведення тварин з експерименту здійснювали під інгаляційним наркозом.

Вивчення впливу соку подорожника на секреторну функцію шлунка та стан слизової оболонки шлунка (СОШ) проводили за методом Н. І. Андрєєвої й С. Д. Шарової [7]. Експеримент проводили на 42-х білих щурах самицях масою 180–200 г по 6 щурів у групі. Тварин витримували 48 год голодними з вільним доступом до води, після чого дослідним щурам внутрішньошлунково вводили СП 1, СП 2 і препарат порівняння в дозах 2,7 мл/кг і 4 мл/кг, щурам негативного контролю вводили еквівалентну кількість води. Через 1 год тварин наркотизували тіопенталом натрію в дозі 40 мг/кг, проводили лапаротомію та накладали лігатуру на пілоричний сфінктер шлунка. Через 4 год накладали лігатуру на кардіальний сфінктер, виймали шлунок і вимірювали об'єм шлункового соку. Інтенсивність секреції шлункового соку розраховували відносно маси тіла тварини (на 100 г). Загальну й вільну кислотність визначали шляхом титрування шлункового соку 0,1 N розчином їдкого натру в присутності індикаторів фенолфталеїну й бромтимолового синього. Загальну й вільну кислотність виражали кількістю мілілітрів 0,1 N розчину NaOH, необхідного для нейтралізації 100 мл шлункового соку. Зв'язану кислотність визначали за різницею між загальною та вільною кислотністю. У вилучених шлунках за допомогою лупи

проводили обстеження СОШ. Оцінювали стан слизової оболонки в балах залежно від сумарної площі виразкових дефектів та наявності інших ушкоджень: відсутність видимих ушкоджень – 0 балів; наявність набряку чи крововиливів, 1–3 невеликих крапкових виразок – 1 бал; кілька (більше ніж 3) невеликих виразок чи 1 виразка значного розміру – 2 бали; виразка значних розмірів (діаметр до 4 мм) – 3 бали; кілька великих виразок – 4 бали; проривна виразка – 5 балів.

Вивчення противиразкових властивостей соку подорожника проводили на експериментальній моделі ураження СОШ сумішню етилового спирту із преднізолоном.

Дана модель належить до гострих експериментальних виразкових патологій, які швидко розвиваються, відрізняється високою відтворюваністю, нетривалим перебігом і відповідністю деяких елементів патогенезу виразки шлунка в людини [8].

У цій серії дослідів використано 48 білих безпородних щурів – самиць із масою тіла 240–260 г. Досліджувані зразки вводили внутрішньошлунково в лікувально-профілактичному режимі: протягом 1 тижня до відтворення патології та через 1 год після відтворення виразки шлунка. Перед відтворенням патології тварин протягом 12 год утримували голодними з вільним доступом до води. Суміш преднізолону в дозі 20 мг/кг і 80 % етилового спирту вводили з розрахунку 0,8 мл на 100 г маси внутрішньошлунково за допомогою металевого зонду. Дослідним групам через 1 год вводили досліджувані препарати: СП 1, СП 2 і препарат порівняння в дозах 2,7 мг/кг і 4 мг/кг, групі тварин позитивного контролю (ПК) вводили еквівалентну кількість води.

Через 24 год тварин усіх груп виводили з експерименту передозуванням ефірного наркозу. У тварин виймали шлунок, промивали фізіологічним розчином і візуально оцінювали стан СОШ. При цьому враховували площу виразок у балах (S), як наведено вище, і відсоток тварин з ерозивними пошкодженнями (T_B), що дозволило розрахувати інтегральний показник противиразко-

вої активності – виразковий індекс (ВІ). ВІ розраховували за формулою 1:

$$ВІ = S \cdot T_v / 100 \quad (1), \text{ де}$$

S – середня площа виразкових уражень у всіх тварин у групі;

T_v – кількість тварин з виразковими ураженнями в групі, %.

Противиразкову активність (ПВА) розраховували за формулою 2:

$$ПВА = ВІ_{\text{контр}} / ВІ_{\text{досл.}} \quad (2), \text{ де}$$

$ВІ_{\text{контр.}}$ – виразковий індекс у контрольній групі;

$ВІ_{\text{досл.}}$ – виразковий індекс у дослідній групі.

Отримані дані обробляли статистично за методом варіаційної статистики на рівні значущості 0,05. Розраховували медіану та верхній і нижній квартилі (Me; LQ; UQ). Для отримання статистичних висновків застосовували критерій Крускала-Уоліса для даних, які не підлягають нормальному закону розподілення [8].

Результати та їх обговорення. У клінічній і амбулаторній практиці препарат плантаглоцид та подорожника сік використовується для лікування виразкової хвороби шлунка й гастритів, що

перебігають із нормальною або зниженою секреторною функцією шлунка [2]. За даними літератури можна зробити висновок, що препарати подорожника можуть по різному впливати на секреторну активність шлунка. З роботи В. Г. Дем'яненко, Г. В. Оболенцевої [4] витікає, що гранули «Плантаглоцид» збільшують об'єм шлункового соку, але статистично не значуще. Також без вірогідних змін залишається зменшення в соку пепсину та соляної кислоти. У роботі Е. Д. Гольдберг і Н. В. Грибель на моделі гострої виразкової хвороби, відтвореної перев'язуванням пілоричного сфінктера шлунка протягом 24 год, спостерігали зменшення шлункового соку й концентрації соляної кислоти під впливом препаратів подорожника [11].

Результати даного експерименту свідчать про незначне підвищення утворення шлункового соку й соляної кислоти під впливом СП 1 у дозі 2,7 мл/кг. При введенні щурам СП 1 і СП 2 у дозі 4 мл/кг також дещо підвищувалася кількість шлункового соку, але кислотність його знижувалася порівняно з групою тварин, що не отримували препарати (негативний контроль – НК). Результати дослідження наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

Вплив фітопрепаратів на основі соку подорожника на секреторну функцію шлунка та стан слизової оболонки шлунка в здорових щурів, Me (LQ;UQ), n = 6

Група тварин	Об'єм шлункового соку, мл/100 г маси тварини	Загальна кислотність, мл 0,1 N NaOH/100 мл шлункового соку	Вільна кислотність, мл 0,1 N NaOH/100 мл шлункового соку	Зв'язана кислотність, мл 0,1 N NaOH/100 мл шлункового соку	Ерозивні дефекти, бали
НК	0,8 (0,7; 1,3)	105,0 (80,0; 131,4)	98,3 (76,7; 128,6)	5,6 (1,9; 6,7)	0,5 (0; 1,0)
СП 1, 2,7 мл/кг	1,0 (0,7; 2,5)	119,9 (110,4; 145,8)	118,9 (104,2; 125,0)	4,6 (3,6; 6,5)	2,0 (1,0; 3,0)
СП 1, 4 мл/кг	1,0 (0,5; 1,4)	102,8 (75,0; 107,1)	96,7 (71,4; 103,6)	6,7 (2,1; 11,1)	1,0 (1,0; 2,0)
СП 2, 2,7 мл/кг	0,7 (0,5; 1,2)	87,9 (70,0; 127,8)	81,9 (66,7; 116,7)	4,4 (3,4; 5,0)	1,0 (0,5; 1,0)
СП 2, 4 мл/кг	1,1 (0,8; 1,3)	87,8 (83,3; 93,1)	82,2 (79,2; 89,7)	5,1 (2,9; 5,6)	1,0 (0; 2,0)
ПП, 2,7 мл/кг	0,9 (0,6; 1,2)	91,3 (72,7; 123,5)	87,6 (68,2; 120,6)	7,5 (4,3; 10,0)	2,0 (1,0; 2,0)
ПП, 4 мл/кг	0,5 (0,3; 1,2)	110,9 (90,0; 120,0)	100,0 (80,0; 110,9)	5,1 (3,3; 6,7)	0,75 (0,5; 2,0)

Вплив фітопрепаратів на основі соку подорожника на стан слизової оболонки шлунка щурів з експериментальним етанол-преднізолоновим ураженням шлунка, Me (LQ;UQ), n = 6

Група тварин	Кількість тварин з ерозивними дефектами, %	Середня площа ерозивних дефектів у групі, бали	ВІ	ПВА
ПК (модель патології)	100	4,0 (4,0; 4,0)	4	-
СП 1, 1,35 мл/кг	83	3,5 (3,0; 5,0)	2,9	1,38
СП 1, 2,7 мл/кг	83	4,0 (3,0; 5,0)	3,3	1,21
СП 1, 4,0 мл/кг	83	2,25 (2,0; 3,0)	1,9	2,11
СП 2, 1,35 мл/кг	100	4,0 (3,0; 4,0)	4	1,00
СП 2, 2,7 мл/кг	100	4,0 (3,0; 4,0)	4	1,00
СП 2, 4,0 мл/кг	83	3,0 (2,0; 4,0)	2,5	1,60
ПП, 2,7 мл/кг	83	3,0 (2,25; 4,0)	2,5	1,60

Препарат порівняння «Подорожника сік» також не впливав вірогідно на секрецію шлункового соку. При введенні ПП у дозі 4 мл/кг кількість шлункового соку дещо знижувалася, а кислотність при цьому зростала. При введенні дослідних зразків дещо збільшилася кількість ерозивних дефектів СОШ, але ці дані не носили вірогідного характеру. З даного дослідження можна зробити висновок про відсутність суттєвого впливу дослідних та референтного зразків на секреторну активність шлунка. Вони також не чинять статистично значущої ушкоджуючої дії на СОШ.

На моделі етанол-преднізолонової виразки шлунка щурів у групі ПК у 100 % випадків спостерігали ураження СОШ у вигляді набряку та гіперемії, численних геморагічних ерозій та виразок (табл. 2). Під впливом СП 1 у всіх дослідних групах спостерігали невірогідне зниження ВІ на 28, 18 і 53 % з підвищенням дози, та зменшення кількості тварин з ерозивними дефектами на 17 % у кожній групі. Противираzkова активність відповідно була 1,38, 1,21 та 2,11. Під впливом СП 2 лише доза 4 мл/кг відзначилася невірогідним зменшенням кількості тварин з ерозивними дефектами, ВІ при цьому зменшився на 38 %, ПВА становила 1.6. Референтний зразок

«Подорожника сік» виявив противиразкову активність на рівні СП 2 у дозі 4 мл/кг (табл. 2.).

Отже, у результаті вивчення противиразкових властивостей двох фітопрепаратів на основі соку подорожника на моделі етанол-преднізолонового ураження СОШ встановлено, що досліджувані препарати знижують виразкоутворення, викликане сумішшю етанолу з преднізолоном, на рівні препарату порівняння «Подорожника сік».

Висновки

Встановлено, що фітопрепарати на основі соку подорожника (СП 1 та СП 2) як і препарат порівняння «Подорожника сік» не чинять статистично значущого впливу на секреторну функцію шлунка та не ушкоджують СОШ у здорових тварин. Противираzkова активність СП 1 у дозі 4,0 мл/кг переважала таку інших зразків. Виразковий індекс при застосуванні зразків соку подорожника статистично значуще не відрізнявся від нелікованих тварин, але майже в усіх груп, що отримували лікування, кількість тварин з ерозивними дефектами зменшилась на 17 %. Противираzkова активність та вплив на секреторну функцію шлунка дослідних зразків цілком відповідає фармакологічним характеристикам препарату порівняння.

1. Клінічна настанова лікування диспепсій // ДЕЦ, Київ.– 2011.– 74 с.

2. Гаврилюк Н. С. Ефективність інвазивних методів виявлення *Helicobacter pylori* у хворих на хронічний ерозивний антральний гастрит з урахуванням функціонального стану печінки / Гаврилюк Н. С., Вірстюк Н. Г., Цимбаліста І. В. // Сучасна гастроентерологія.– 2011.– № 6 (62).– С. 51–55.

-
3. Арбузов А. Г. Противоязвенная активность экстракта подорожника / Арбузов А. Г. // www.argo-shop.com.ua/article-6861.html
 4. Фармакологічні дослідження гранул «плантаглюцид», опромінених потоком прискорених електронів / Дем'яненко В. Г., Оболенцева Г. В., Дем'яненко Д. В., Єгоров І. А. // Вісник фармації.– 2003.– № 1.– С. 72–75.
 5. Оленников Д. Н., Samuelson A. B., Танхаева Л. М. // Химический состав и применение / Оленников Д. Н., Samuelson A. B., Танхаева Л. М. // Химия растительного сырья.– 2007.– № 2.– С. 37–50.
 6. Западнюк М. П. Лабораторные животные. Использование в эксперименте / Западнюк М. П., Западнюк В. И., Захария Е. А.– К.: Высшая школа, 1983.– 382 с.
 7. Андреева А. И. Определение влияния веществ на секрецию соляной кислоты в желудке / Андреева А. И., Шарова С. А. // Фармакология и токсикология.– 1978.– № 4.– С. 428–432.
 8. Методичні рекомендації з експериментального вивчення нових противиразкових препаратів / Г. В. Оболенцева, Л. В. Яковлева, Л. П. Брюзгінова.– К.: ФК МОЗ України, 1995.– С. 16.
 9. Рыболовлев Ю. П. Токсикол. аспекты безопасности готовых лекарственных форм: сборник / Рыболовлев Ю. П., Сидяров Д. П., Афонин Н. И.– М., 1981.– С. 9.
 10. Лапач С. Н. Статистические методы в медикобиологических исследованиях с использованием Excel / Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н.– 2001.– 320 с.
 11. Патент 2071343 Россия, МПК А61К35/78. Способ получения вещества, обладающего противоязвенной активностью и фармацевтическая композиция на его основе / Гольдберг Е. Д., Грибель Н. В., Дыгай А. М., Литвиненко В. И., Попова Т. П. Заявка № 93010288/14 Заявл.1993.02.26. Опубл. 1997.01.10.

Л. В. Яковлева, А. П. Мацийчук, Е. А. Ковалева, Н. С. Чорная
Влияние новых препаратов на основе сока подорожника на секрецию
желудочного сока и состояние слизистой оболочки желудка
в норме и при патологии

Исследовано влияние новых фитопрепаратов на основе сока подорожника большого и подорожника ланцетолистного на секрецию желудочного сока и состояние слизистой оболочки желудка. Установлено, что противоязвенная активность обоих препаратов полностью соответствует препарату сравнения.

Ключевые слова: подорожник большой, подорожник ланцетолистный, язвенная болезнь желудка

L. V. Yakovleva, A. P. Maciychuk, I. A. Kovalova, N. S. Chorna
The impact of new phytopreparations based on plantain juice
on gastric juice secretion and the state of the gastric mucosa of rats
in normal and pathological conditions

Study of the effects of new plant preparations based on plantain juices from *Plantago major* and *Plantago lanceolata* on gastric juice secretion and gastric mucosal state in rats was carried out. It was revealed that the antiulcer activity of both preparations is fully conforms such an activity of referent drug.

Key words: common plantain (Plantago major), buckthorn plantain (Plantago lanceolata), gastric ulcer

Надійшла: 15.10.2012 р.

Контактна особа: Ковальова Євгенія Олександрівна, молодший науковий співробітник, Центральна науково-дослідна лабораторія, Національний фармацевтичний університет, б. 53, вул. Пушкінська, м. Харків, 61002. Тел.: +38 (093) 706-70-29. E-mail: janekovaleva@mail.ru

О. К. Ярош¹, І. А. Мазур², В. М. Бобков¹, Л. І. Кучеренко²,
О. І. Барчина¹, А. Г. Крисько¹, Г. В. Георгієвський³, А. В. Волуй¹

Профіль фармакокінетики сполуки «Лізиній» у крові після парентерального введення

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

²НВО «Фарматрон», м. Запоріжжя

³Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: кардіотропна сполука
«Лізиній», біодоступність, кров,
одноразове парентеральне введення,
ВЕРХ

Великий арсенал існуючих лікарських засобів для терапії серцево-судинних захворювань не вирішує, на жаль, до цього часу проблему інвалідності та смертності внаслідок ускладнень цієї патології. Тому тема пошуку нових препаратів та вдосконалення вже існуючих із метою підвищити їхні позитивні властивості залишається актуальною для практичної медицини [2, 5].

Серед вітчизняних препаратів, здатних коригувати порушені метаболічні процеси в різних тканинах, добре відомий лікарський засіб – тіотриазолін, розроблений вченими Запорізького медичного університету та НВО «Фарматрон» під керівництвом професора І. А. Мазура. Препарат «Тіотриазолін» добре зарекомендував себе як коректор порушених метаболічних функцій у багатьох тканинах організму при різних видах патологічних процесів.

Тіотриазолін довів свою ефективність при низці патологічних станів [10], що робить його перспективним для створення препаратів зі спрямованою модифікацією властивостей для підвищення ефективності при найпоширенішій у світі серцево-судинній патології, яка займає перше місце серед причин смертності населення в більшості країн світу. Однією з таких сполук є нова розробка НВО «Фарматрон» оригінального препарату під робочою назвою «Лізиній». Широке вивчення фармакодинаміки показало перспективність цієї розробки для практичного втілення при серцево-судинній патоло-

гії. Однак наскільки співпадають фармакодинамічні властивості цієї сполуки з особливостями її фармакокінетики – це питання залишалося відкритим, що спонукало вивчити його проведенням спеціальних серій досліджень.

Мета дослідження – вивчення профілю фармакокінетики сполуки «Лізиній» у крові після парентерального введення експериментальним тваринам.

Матеріали та методи. Експерименти проведені на 45 білих статевозрілих щурах обох статей масою 180–320 г, вирощених у ПП «Біомодельсервіс» за стандартних умов відповідно до основних вимог GLP (Належної Лабораторної Практики). Тваринам піддослідної групи вводили внутрішньочеревинно (в/ч) «Лізиній» у 0,85 % розчині натрію хлориду в дозі 50 мг/кг маси тіла. Проби крові брали відразу після евтаназії тварин під ефірним наркозом через 3, 5, 10, 20, 40, 60, 90, 120 та 180 хв після в/ч введення сполуки «Лізиній».

Підготовку проб до хроматографування виконували в декілька етапів. Вилучення субстанції «Лізиній» з крові для хроматографування виконували наступним чином. У пробірку вносили 0,8 мл сироватки крові, додавали 1,0 мл метанолу та ставили на 5 хв в ультразвукову баню при температурі 55 °С для повного осадження білків. Центрифугували при 8 000 об/хв протягом 30 хв. Отриманий прозорий розчин декантували піпеткою в нову чисту пробірку та заміряли його точний об'єм, який переносили до віали для подальшого хроматографування.

Визначення концентрації сполуки «Лізиній» здійснювали за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) з мас-селективним детектором фірми «Agilent Technologies 1200

Series» (США). Детектор був налаштований на визначення діючої речовини сполуки «Лізиній» – 3-метил-1,2,4-триазолін-5-тіоацетат (173-176 m/z, враховуючи ізотопи вуглецю), параметри налаштування мас-селективного детектора наведено в таблиці 1.

Хроматографування проводили з використанням двох аналітичних колонок Rapid Resolution HT Cartridge 4,6 × 30 mm, 1,8 μm Zorbax SB-C18 та Agilent XDB-C18 4,6 × 50 mm, 1,8 μm, з'єднаних послідовно.

Валідацію методики хроматографічного визначення сполуки «Лізи-

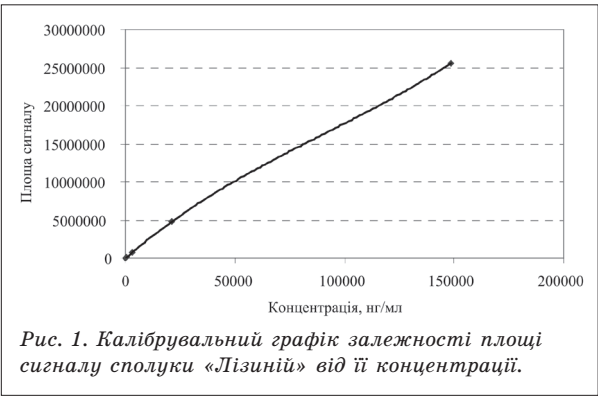


Рис. 1. Калібрувальний графік залежності площі сигналу сполуки «Лізиній» від її концентрації.

ній» у сироватці крові проводили відповідно до міжнародних настанов та національних правил проведення біо-аналітичних досліджень [1, 9, 12, 19,

Таблиця 1

Параметри налаштування мас-селективного детектора

Параметр	Показник (рівні)
Детектор	Agilent Technologies G6130A Quadrupole LC/MS System
Фрагментор	120
Тривалість аналізу	10 хв
Тиск розпилювача	35 psig
Швидкість подачі газу	12 л/хв
Температура газу	250 °C
Напруга на капілярі	4000 В
Спосіб іонізації	Електроспрей (ES) позитивних іонів
Об'єм ін'єкції	2 мкл
Метод реєстрації	SCAN Method (173.0 – 176.0 m/z)
Елюент	0,5 % розчин мурашиної кислоти в суміші вода-ацетонітрил (90 % – 10 %) (А); 0,5 % розчин мурашиної кислоти в ацетонітрилі (В)
Швидкість потоку	0,5 мл/хв
Температура колонки	45 °C
Маса катіона 3-метил-1,2,4-триазолін-5-тіоацетат *	173 – 176 m/z
Час утримання на хроматограмі	2,5 хв

Примітка. *Катіон був отриманий шляхом протонування аніона 3-метил-1,2,4-триазолін-5-тіоацетату (за допомогою мурашиної кислоти в елюенті). Протонування здійснювали з метою підвищення чутливості детектора майже в 100 разів.

Таблиця 2

Результати проведеної валідації методики

Параметр	Показник (рівні)
Верхня межа кількісного визначення (ВМКВ)	10 200 нг/мл
Нижня межа кількісного визначення (НМКВ)	10,2 нг/мл
Правильність	≤ 11 %
Збіжність (Precision – % RSD)	≤ 5,2 %
Середній ступінь вилучення	~ 83,1 %
Коефіцієнт кореляції (Correlation coefficient – R ²)	0.9999

Таблиця 3

Концентрація субстанції «Лізиній» у крові щурів після її парентерального введення, мкг/мл

Час, хв									
№	3	5	10	20	40	60	90	120	180
1	5,97	23,67	37,03	21,03	9,53	2,31	0,87	0,22	0,061
2	8,36	19,82	39,83	22,99	3,20	1,19	0,73	0,39	0,057
3	5,32	16,39	59,18	19,01	8,20	–	0,21	0,085	0,027
4	10,14	7,24	54,74	12,40	1,82	0,59	0,24	0,084	–
5	19,20	5,49	19,32	6,46	3,03	1,48	0,15	–	–
M	9,80	14,52	42,02	16,38	5,16	1,59	0,44	0,20	0,048
±m	5,60	7,90	15,82	6,83	3,46	0,49	0,34	0,14	0,019

Примітка. – – відсутність замірів, M – середнє значення, m – стандартна похибка.

24], результати валідації наведено в таблиці 2, калібрувальний графік – на рисунку 1.

Результати експериментів піддавали статистичній обробці за допомогою комп'ютерних програм Excel Microsoft Statistika 6,0 із використанням t-критерію Ст'юдента [3, 8, 14].

Результати та їх обговорення. Після проведення експерименту одержані хроматограми досліджуваних розчинів були інтегровані, а їхні результати наведені в таблиці 3.

Типові хроматограми визначених концентрацій сполуки «Лізиній» у крові наведено на рисунку 2 (А-Е).

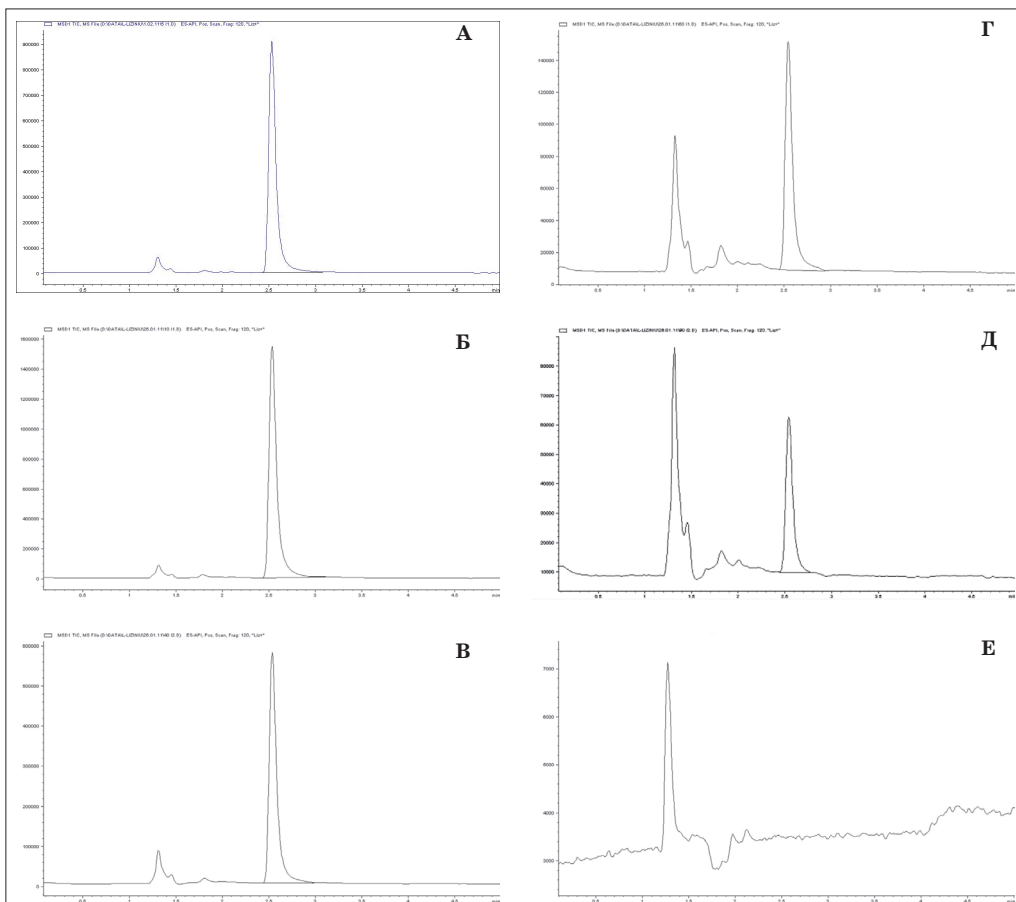
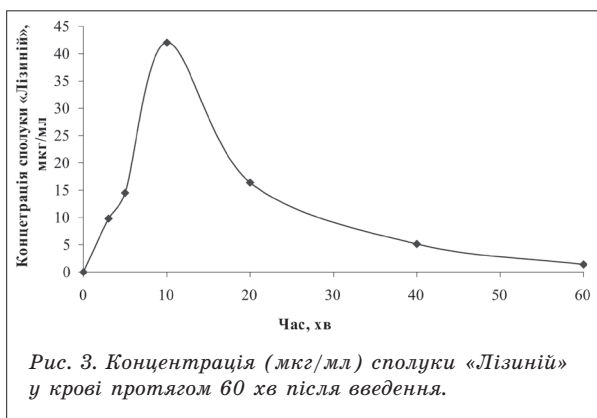


Рис. 2. Хроматограми сполуки «Лізиній» у різні періоди після внутрішньочеревинного введення щурам: А – 5 хв, Б – 10 хв, В – 40 хв, Г – 60 хв, Д – 90 хв, Е – контроль (сироватка без сполуки «Лізиній»).



Аналіз отриманих результатів показав, що вже на 3 хв сполука визначалася на рівні $9,8 \pm 5,6$ мкг/мл сироватки, а максимальну концентрацію реєстрували через 10 хв, що становила $42,0 \pm 15,8$ мкг/мл сироватки. Через 20 хв починався період зниження вмісту сполуки «Лізиній» у крові до $16,4 \pm 6,83$ мкг/мл (рис. 3). Зниження до показника майже нижньої межі визначення спостерігали на 60 хв, коли вміст досліджуваної субстанції становив $1,59 \pm 0,49$ мкг/мл. У період з 90 до 180 хв концентрація сполуки «Лізиній» реєструвалася зі зниженням від $0,44 \pm 0,34$ мкг/мл до $0,048 \pm 0,019$ мкг/мл сироватки.

Отримані експериментальні значення концентрації сполуки «Лізиній» піддавали математичній обробці для обрахунку фармакокінетичних параметрів [15]. Результати обчислення основних показників за умови їхнього математичного моделювання представлені в таблиці 4.

Після одноразового парентерального введення щурам сполуки «Лізиній» у дозі 50 мг/кг, максимальна концентрація препарату в крові за розрахунковим математичним обчисленням становила $91,7 \pm 14,2$ мкг/мл.

Об'єм розподілу (V_d), що характеризує процес проникнення субстанції в центральні органи (серце, печінку, легені, нирки, ендокринні залози, шлунок) та периферичні тканини (шкіру, жирову та м'язову тканини), у нашому експерименті був в середньому $463,9 \pm 3,4$ мл/кг. Це свідчить, що необхідний уявний об'єм рідини становить близько 0,5 л, щоб рівномірно розподілити всю введену дозу в організмі.

Показник середнього часу перебування введеної сполуки в організмі коливається в межах $19,9 \pm 0,93$ хв, тобто сполуку «Лізиній» за фармакокінетичним показником MRT можна віднести до речовин, що надовго не затримуються в крові.

Інтегрований показник фармакокінетики для сполуки «Лізиній», зокрема, площа під фармакокінетичною кривою (AUC) – становить $2143,2 \pm 101,8$ нг·хв·мл⁻¹.

Період напіввиведення ($T_{1/2}$) сполуки з організму в середньому становить $13,9 \pm 2,2$ хв. За цим показником сполуку «Лізиній» можна віднести до речовин зі швидкою екскрецією з організму. Даний

Таблиця 4

Основні розрахункові параметри фармакокінетики сполуки «Лізиній» у крові щурів після парентерального введення в дозі 50 мг/кг

№ п/п	Параметр	Позначення	Значення
1	Уявна початкова концентрація, мкг/мл	C_0	$107,8 \pm 8,9$
2	Максимальна концентрація препарату, мкг/мл	$C_{\max}$	$91,7 \pm 14,2$
3	Уявний об'єм розподілу, мл/кг	V_d	$463,9 \pm 3,4$
4	Площа під фармакокінетичною кривою, нг · хв · мл ⁻¹	AUC	$2143,2 \pm 101,8$
5	Константа напівелімінації, хв ⁻¹	K_{el}	$0,050 \pm 0,002$
6	Загальний кліренс, нг · хв ⁻¹ · кг ⁻¹	Cl_t	$23,3 \pm 1,1$
7	Середній час перебування в організмі, хв	MRT	$19,90 \pm 0,93$

висновок підтверджується розрахунковим показником загального кліренсу, який визначався на рівні $23,3 \pm 1,1 \text{ нг} \cdot \text{хв}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1}$.

Таким чином, отримані дані свідчать, що сполука «Лізиній» при її одноразовому парентеральному введенні в дозі 50 мг/кг маси має середнє зв'язування з білками крові при визначенні *in vitro* на рівні $16,9 \pm 5,4 \%$, а середній час утримання в організмі реєструється на рівні $19,9 \pm 0,93 \text{ хв}$. Екскреція за експериментально-розрахунковим показником кліренсу з крові коливається в межах $6,2 \pm 0,9 \text{ мг/хв}$.

Однак такі параметри, що характерні для одноразового введення, можуть змінюватися при курсовому введенні сполуки та інших шляхах введення.

Висновки

1. Розроблено та валідовано методику ВЕРХ з мас-селекторною детекцією діючої речовини для кількісного визначення сполуки «Лізиній», придатну для моніторингу її в крові протягом усього періоду перебування в організмі.
2. Максимальна концентрація ($C_{\max}$) сполуки в сироватці крові щурів становила $42,0 \pm 15,2 \text{ мкг/мл}$, зв'язування з білками при визначенні *in vitro* сягало $16,9 \pm 5,4 \%$.
3. Показник уявного розподілу (V_d) сполуки «Лізиній» в організмі дорівнював $463,9 \pm 3,4 \text{ мл/кг}$, середній час перебування (MRT) у крові становив $19,9 \pm 0,93 \text{ хв}$.
4. Екскреція сполуки «Лізиній» за експериментально-розрахунковим показником кліренсу із крові становила $6,2 \pm 0,9 \text{ мг/хв}$.

1. Валідація аналітичних методик і випробувань // Державна Фармакопея України. ДП «Наук.-експертн. фармакоп. центр». (1-е вид.). – Харків : PIPEГ, 2001. – Доп. 1. – 2004. – С. 58–67.
2. Основные направления поиска и создания новых лекарственных средств сотрудниками Запорожского государственного медицинского университета / Визир А. Д., Дунаев В. В., Визир В. А., Мазур И. А. // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки і практики: 36. наук. ст. Вып. 1. – Запорожье, 1997. – С. 3–13.
3. Гельман В. Я. Медицинская информатика: практикум / Гельман В. Я. – СПб: Питер, 2001. – 480 с.
4. Гонта Н. А. Определение фуросемида в моче методом ВЭЖХ с предварительным мицеллярно-экстракционным концентрированием / Гонта Н. А., Дроздова М. В., Куличенко С. А. // Журнал аналитической химии. – 2009. – Т. 64, № 10. – С. 1050–1054.
5. Горбась И. М. Эпидемиологические аспекты сердечно-сосудистых заболеваний / И. М. Горбась, И. П. Смирнова // Руковод. по кардиологии: под ред. В. Н. Коваленко. – К.: Морион, 2008. – С. 138–144.
6. Григорьев А. М. Определение метаболитов димедрола методами ГХ-МС и ВЭЖХ в моче / Григорьев А. М., Машкова И. В. // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2008. – Т. 8, Вып. 1. – С. 13–14.
7. Дзяк Л. А. Дозозависимая эффективность тиацетама в лечении дисциркуляторной энцефалопатии II стадии на фоне атеросклероза сосудов головного мозга / Дзяк Л. А., Сирко А. Г. // Новости медицины и фармации. – 2006. – № 1 – 3 (183 – 184). – Вып. 8. – С. 146–152.
8. Лапач С. Н. Статистика в науке и бизнесе / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич – К.: Морион, 2002. – 640 с.
9. Либина В. В. Национальные и международные правила проведения биоаналитических исследований по оценке биоэквивалентности генерических препаратов / Либина В. В. // Вісник фармакології та фармації. – 2006. – № 8. – С. 30 – 37.
10. Метаболитотропные препараты / Мазур И. А., Чекман И. С., Беленичев И. Ф. [и др.]. – Запорожье, 2007. – 309 с.
11. Методичні рекомендації по доклінічному вивченню фармакокінетики лікарських засобів: Під ред. М. Я. Головенка, І. С. Безверхої, В. А. Жили, В. Г. Зіньковського, О. В. Жука. – К.: ФК МОЗ України, 1995. – 28 с.
12. Подпружников Ю. В. Изучение биоэквивалентности: основа доказательной медицины и фармации / Подпружников Ю. В., Зупанец И. А. // Новости медицины и фармации. – 2009. – № 11–12 (285–286).
13. Сернов Л. Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Сернов Л. Н., Гацура В. В. – М., 2000. – 345 с.
14. Фармакокінетика / [Каркищенко Н. Н., Хоронько В. В., Сергеева С. А., Каркищенко В. Н.]. – Ростов-на-Дону : Феникс, 2001. – 384 с.
15. Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту // Державна Фармакопея України. ДП «Наук.-експертн. фармакоп. Центр». 1-е вид. – Харків : PIPEГ, 2001. – Доп. 1. – 2004. – С. 187–214.

16. Удалов А. В. Применение микроколоночной градиентной высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения димедрола в моче при комбинированных отравлениях / Удалов А. В., Тарашук Е. Ю. // Судебно-медицинская экспертиза. – 2006. – № 2. – С. 34–42.
17. Baldacci A. Identification of diphenhydramine metabolites in human urine by capillary electrophoresis-ion trap-mass spectrometry / Baldacci A., Prost F., Thormann W. // Electrophoresis. – 2004. – V. 25, № 10–11. – P. 1607–1614.
18. Gaviraghi G. Pharmacokinetic Challenges in Lead Optimization / G. Gaviraghi, R. J. Barnaby and M. Pellegatti / Verona. – 2002. – 324 p.
19. FDA, Guidance for Industry: Process Validation: General Principles and Practices [Электронный ресурс] // Federal Register. – 2011. – V. 76, № 16. – P. 4360–4361. – Режим доступа: <https://federalregister.gov/a/2011-1437>
20. Kumar S. Simultaneous determination of diphenhydramine, its Noxide metabolite and their deuterium-labeled analogues in ovine plasma and urine using liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry / Kumar S., Rurak Dan W., Riggs K.W. // J. Mass Spect. – 1999. – V. 33. – P. 1171–1181.
21. High performance liquid chromatography in pharmaceutical analyses / Nikolin B., Imamović B., Medanhodžić-Vuk S., Sober M. // Bosn. J. Basic. Med. Sci. – 2004. – V. 4, № 2. – P. 5–9.
22. Analysis of basic compounds in urine by on-line extraction-HPLC-DAD / Schonberg L., Grobosch T., Lampe D. and Kloft Ch. // T + K. – 2007. – V. 74, № 1. – P. 64–68.
23. Pharmacokinetic Optimization in Drug Research / [Testa B., Waterbeemd H., Folkers G., Guy R.]. – Verlag Helvetica Chimica Acta. Zurich, 2001. – 655 p.
24. Simultaneous analysis of diphenhydramine and a stable isotope analog, (2H10)-diphenhydramine, using capillary gas chromatography with mass selective detection in biological fluids from chronically instrumented pregnant ewes / Tonn G. R., Mutlib A., Abbott F. S. [et al.] // Biol. Mass Spectrom. – 1993. – V. 22. – P. 633–642.
25. Validation of analytical Methods: Definitions and Terminology // ICH Topic Q 2 EMEA. CPMP/ICH/381/95. – P. 1–5.
26. Comparative Pharmacokinetics of Biphenamine in Camels and Horses after Intravenous Administration / Wasfi I. A., Abdel Hadi A. A., Elghazali M. [et al.] // Veterinary Research Communications. – 2004. – V. 27, № 6. – P. 463–473.

**А. К. Ярош, И. А. Мазур, В. Н. Бобков, Л. И. Кучеренко, Е. И. Барчина,
А. Г. Криско, Г. В. Георгиевский, А. В. Волуй**

Профиль фармакокинетики соединения «Лизиний» в крови после парентерального введения

Разработанная методика ВЭЖХ для количественного определения соединения «Лизиний» пригодна для мониторингирования потенциального препарата в течение всего цикла фармакокинетики в организме. Фармакокинетический профиль соединения «Лизиний» характеризуется быстрым, но кратковременным подъемом до максимального уровня содержания соединения в крови на 10-й мин и постепенным снижением до предела его определения на 60-й мин. Соединение «Лизиний» по своим фармакокинетическим свойствам может быть рекомендовано для дальнейшего доклинического исследования.

Ключевые слова: кардиотропное соединение «Лизиний», биодоступность, кровь, одноразовое парентеральное введение, ВЭЖХ

**A. Yarosh, J. Mazur, V. Bobkov, L. Kucherenko, H. Barchina,
A. Krisko, G. Georgievskiy, A. Volyi**

Pharmacokinetics profile of compound «Liziniy» in the blood after parenteral administration

The developed method of HPLC to quantify of «Liziniy» is suitable for monitoring the potential drug during the entire cycle of pharmacokinetics in the body. The pharmacokinetics profile of compound «Liziniy» is characterized by rapid but short-lived rise to maximum level of compound in the blood at the 10th min and a gradual decrease to the limit of its definition at the 60th min. Compound «Liziniy» as to its pharmacokinetics properties can be recommended for further preclinical studies.

Key words: cardiotropic compound «Liziniy», bioavailability, blood, disposable parenteral administration, HPLC

Надійшла: 23.07.2012 р.

Контактна особа: Ярош Олександр Кузьмич, докт. мед. наук, професор, завідувач відділу фармакокінетики, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», вул. Е. Потье, 14, м. Київ, 03680. Тел.: +38 (044) 456-98-65. E-mail: yarosh44@mail.ru

А. В. Гудзенко, О. О. Цуркан, Т. В. Ковальчук

Реалізація сучасних підходів до стандартизації полікомпонентних фітопрепаратів

ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

Ключові слова: *речовини-маркери, багатокомпонентні лікарські засоби рослинного походження, стандартизація, ВЕРХ, ГРХ*

Серед великого арсеналу існуючих лікарських засобів рік від року все більшої популярності набувають препарати природного, зокрема, рослинного походження. Натепер у розвинених країнах світу лікарські засоби (ЛЗ) рослинного походження займають суттєву частину загального фармацевтичного ринку. Зокрема, частка фітопрепаратів у США складає близько 26 % внутрішнього ринку лікарських препаратів [19]. У Німеччині доля зареєстрованих рослинних лікарських засобів складає близько 13 % [19, 24].

Український ринок ЛЗ рослинного походження також характеризується значним асортиментом. Зокрема, згідно з дослідженнями [19], серед зареєстрованих в Україні готових лікарських засобів рослинні препарати займають близько 10 %, що можна зіставити з відповідною часткою в Німеччині.

Підвищення попиту на лікарські засоби саме рослинного походження зумовлено низкою факторів, насамперед таких, як незначна кількість побічних ефектів, мала токсичність, наявність структур, близьких до ендегенних біологічно активних речовин (БАР), досить висока ефективність, успішний багатовіковий досвід використання багатьох із них у народній медицині та ін. [1, 2, 15, 20, 21].

Суттєву частку фітопрепаратів складають багатокомпонентні лікарські засоби рослинного походження (БЛЗРП). Зокрема, на фармацевтичному ринку України зареєстровано та добре зарекомендували себе понад 200 БЛЗРП [14, 22]. Дані препарати з

кожним роком мають усе більшу популярність у всьому світі в зв'язку з широким спектром фармакологічної дії, низькою токсичністю та можливістю використання протягом тривалого часу [20].

Але існуючі методики аналізу вищезазначених фітозасобів здебільшого не відповідають сучасним фармакопейним вимогам, не є специфічними, не дають можливості проведення ідентифікації та визначення кількісного вмісту окремих компонентів суміші.

Таким чином, приведення процедур контролю якості та стандартизації полікомпонентних засобів рослинного походження до сучасних фармакопейних вимог є одним з актуальних питань фармацевтичного аналізу та вимагає нових конструктивних підходів.

Одним із можливих і найперспективніших напрямів модернізації процесів аналізу полікомпонентних засобів рослинного походження є застосування маркерних сполук або маркерів, тобто речовин, присутність яких характерна тільки для певного виду рослинної сировини.

Наукова новизна даного підходу до стандартизації БЛЗРП полягає в тому, що можливість сучасних високоселективних фармакопейних методів аналізу передбачає створення комплексу методик ідентифікації та кількісного визначення речовин-маркерів у рослинній сировині та сумішах, що сприятиме впровадженню нових методичних підходів до контролю якості та стандартизації полікомпонентних засобів рослинного походження.

Доцільність використання зазначених методичних підходів полягає в тому, що розроблені методики аналізу речовин-маркерів дають можливість якісної та кількісної стандартизації кожного з компонентів рослинної сумі-

ші, чим досягається приведення аналітичної нормативної документації на зазначену суміш до сучасних фармакопейних вимог.

Як зазначалося в наших попередніх дослідженнях [9], такі речовини-маркери повинні відповідати декільком критеріям, а саме:

- 1) вибір речовин-маркерів має залежати від складу та лікарської форми БЛЗРП;
- 2) наявність і кількісний уміст речовин-маркерів у конкретній лікарській рослинній сировині повинен бути індивідуальним і суттєво не змінюватися в процесі зберігання;
- 3) можливість проведення якісного та кількісного визначення речовини-маркера одним із фармакопейних методів;
- 4) речовини-маркери повинні бути присутні як у вихідній лікарській рослинній сировині, так і в готовому фітопрепараті;
- 5) речовини-маркери повинні бути доступні для придбання через систему спеціалізованих хімічних каталогів (Fluka, Aldrich, Merck, Sigma тощо) або, якщо це неможливо, повинні бути наявні відтворювані методики їхнього синтезу або виділення.

Ураховуючи можливість реалізації сучасних підходів до стандартизації полікомпонентних фітопрепаратів шляхом використання для їхнього аналізу маркерних сполук, важливо провести пошук маркерів для компонентів, що найчастіше входять до складу БЛЗРП.

Мета дослідження – пошук маркерів для стандартизації найпоширеніших компонентів БЛЗРП, що зареєстровані на фармацевтичному ринку України.

Матеріали та методи. Дослідження полікомпонентних фітопрепаратів проводили з використанням інформаційної бази зареєстрованих в Україні лікарських засобів, представленої на офіційному сайті ДП «Державний експертний центр МОЗ України» [14].

Методичні підходи до стандартизації визначених маркерів у БЛЗРП та рослинних сумішах розробляли з використанням методу високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) [25] та методу

газорідинної хроматографії (ГРХ) [23].

Результати та їх обговорення. У таблиці 1 наведено дані щодо 50 найпоширеніших компонентів БЛЗРП, зареєстрованих на фармацевтичному ринку України. Як свідчать дані таблиці 1, найпоширенішими компонентами БЛЗРП є м'ята перцева та солодка гола, частота використання яких у полікомпонентних фітопрепаратах складає 28,9 % та 20 % відповідно. Трохи рідше використовують ромашку лікарську, деревій звичайний та звіробій звичайний (16 %, 13,8 % та 12 % відповідно). До десятки найпоширеніших компонентів БЛЗРП входять куркума довга, імбир справжній, кропива дводомна, валеріана лікарська та перець довгий, частота використання яких в полікомпонентних фітопрепаратах складає відповідно 10,7 %, 9,3 %, 9,3 %, 9,3 % та 8,4 %.

Саме серед рослинних компонентів, що надані в таблиці 1, тобто, серед 50 найпоширеніших складових БЛЗРП, зареєстрованих на фармацевтичному ринку України, були обрані об'єкти нашого дослідження.

У результаті проведених досліджень були визначені маркери для якісної та кількісної стандартизації в рослинних сумішах 25 рослинних компонентів, наведених у таблиці 1. Зокрема, розроблені методики якісного та кількісного аналізу визначених маркерів у присутності БАР рослинних компонентів із застосуванням ВЕРХ та ГРХ, що найчастіше входять разом з об'єктами дослідження до складу зареєстрованих на Україні БЛЗРП.

У таблиці 2 наведені об'єкти дослідження, визначені маркери для стандартизації рослинних сумішей та рослинні компоненти, у присутності яких можлива стандартизація об'єктів дослідження за визначеними маркерами.

Згідно з даними, представленими в таблиці 2, маркером для стандартизації ехінацеї пурпурової в БЛЗРП може бути фенілпропанойд – цикорієва кислота. Як моделі для визначення можливості стандартизації ехінацеї пурпурової в рослинних сумішах були використані наступні препарати: сироп «Імунотон» (ЗАТ «Артеріум»), складні настої «Ладостим» (ВАТ «Біолік») та

**Частота використання рослинних компонентів у БЛЗРП,
що зареєстровані на фармацевтичному ринку України**

№	Рослинний компонент	Частота використання рослинного компонента в БЛЗРП, %
1	М'ята перцева (<i>Mentha piperita</i> L.)	28,9
2	Солодка гола (<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.)	20,0
3	Ромашка лікарська (<i>Chamomilla recutita</i> L.)	16,0
4	Деревій звичайний (<i>Achillea millefolium</i> L.)	13,8
5	Звіробій звичайний (<i>Hypericum perforatum</i> L.)	12,0
6	Куркума довга (<i>Curcuma longa</i> L.)	10,7
7	Імбир справжній (<i>Zingiber officinale</i> Rosc.)	9,3
8	Кропива дводомна (<i>Urtica dioica</i> L.)	9,3
9	Валеріана лікарська (<i>Valeriana officinalis</i> L.)	9,3
10	Перець довгий (<i>Piper longum</i> L.)	8,4
11	Глід (<i>Crataegus</i> sp.)	8,1
12	Хміль звичайний (<i>Humulus lupulus</i> L.)	8,1
13	Чебрець звичайний (<i>Thymus serpyllum</i> L.)	7,6
14	Шипшина (<i>Rosa</i> sp.)	7,6
15	Алея лікарська (<i>Althaea officinalis</i> L.)	7,6
16	Адатода судинна (<i>Justicia adhatoda</i> L.)	7,1
17	Шавлія лікарська (<i>Salvia officinalis</i> L.)	6,7
18	Аір болотний (<i>Acorus calamus</i> L.)	6,2
19	Нагідки лікарські (<i>Calendula officinalis</i> L.)	5,8
20	Подорожник великий (<i>Plantago major</i> L.)	5,8
21	Евкалипт прутовидний (<i>Eucalyptus viminalis</i> Labill.)	5,8
22	Материнка звичайна (<i>Origanum vulgare</i> L.)	5,8
23	Ембліка лікарська (<i>Phyllanthus emblica</i> L.)	5,3
24	Кардамон справжній (<i>Elettaria cardamomum</i> Maton.)	4,9
25	Коріандр посівний (<i>Coriandrum sativum</i> L.)	4,9
26	Липа серцелиста (<i>Tilia cordata</i> Mill.)	4,9
27	Меліса лікарська (<i>Melissa officinalis</i> L.)	4,9
28	Оман високий (<i>Inula helenium</i> L.)	4,9
29	Базилік священний (<i>Ocimum tenuiflorum</i> L.)	4,4
30	Ехінацея пурпурова (<i>Echinaceae purpurea</i> Moench)	4,4
31	Чистотіл звичайний (<i>Chelidonium majus</i> L.)	4,4
32	Дуб звичайний (<i>Quercus robur</i> L.)	4,4
33	Буркун лікарський (<i>Melilotus officinalis</i> L.)	4,0
34	Овес посівний (<i>Avena sativa</i> L.)	3,6
35	Елеутерокок колючий (<i>Eleutherococcus senticosus</i> Rupr. Et Maxim.)	3,6
36	Пасльон чорний (<i>Solanum nigrum</i> L.)	3,6
37	Кропива собача (<i>Leonurus cardiaca</i> L.)	3,6
38	Цмин пісковий (<i>Helichrysum arenarium</i> Moench.)	3,6
39	Кульбаба лікарська (<i>Taraxacum officinalis</i> Web.)	3,6
40	Барбарис звичайний (<i>Berberis vulgaris</i> L.)	3,1
41	Бузина чорна (<i>Sambucus nigra</i> L.)	2,7
42	Лепеха звичайна (<i>Acorus calamus</i> L.)	2,7
43	Ожина звичайна (<i>Rubus caesius</i> L.)	2,7
44	Розмарин лікарський (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.)	2,7
45	Полин гіркий (<i>Artemisia absinthium</i> L.)	2,7
46	Розторопша плямиста (<i>Silbum marianum</i> Gaers.)	2,7
47	Спориш звичайний (<i>Polygoni aviculare</i> L.)	2,7
48	Фіалка триколірна (<i>Viola tricolor</i> L.)	2,7
49	Чебрець повзучий (<i>Thymus serpyllum</i> L.)	2,7
50	Цикорій звичайний (<i>Cichorium intybus</i> L.)	2,2

Визначені маркери для стандартизації деяких компонентів БЛЗРП

№	Об'єкт дослідження	Визначений маркер	Метод дослідження	Рослинні компоненти, у присутності яких можлива стандартизація за визначеним маркером
1	Ехінацея пурпурова (<i>Echinacea purpurea</i> L.), корені, квітки	Цикорієва кислота	ВЕРХ	Корені з кореневищами елеутерококу, трава звіробою звичайного, трава деревію звичайного, листя кропиви дводомної, листя м'яти перцевої, корені цикорію дикого, плоди шипшини, трава материнки звичайної, кореневища лепехи, плоди горобини звичайної, плоди горобини чорноплідної
2	Меліса лікарська (<i>Melissa officinalis</i> L.), листя, трава	Розмаринова кислота	ВЕРХ	Плоди глоду, трава кропиви собачої, шишки хмелю, плоди коріандрру, трава буркуну лікарського, корені імбиру, корені солодки, листя чаю зеленого, корені куркуми
3	Деревій звичайний (<i>Achillea millefolium</i> L.), трава	Борнеол, 1,8-цинеол	ГРХ	Квітки нагідок лікарських, плоди глоду, трава споришу, трава звіробою звичайного, плоди шипшини
		Лютеолін, Апігенін	ВЕРХ	Плоди глоду, листя кропиви дводомної, шишки хмелю, корені цикорію дикого, квітки бузини чорної, квітки нагідок лікарських, плоди шипшини, корені кульбаби лікарської, трава звіробою звичайного, насіння льону
4	Чистотіл звичайний (<i>Chelidonium majus</i> L.), трава	Кофеїл-яблучна кислота	ВЕРХ	Трава деревію звичайного, листя м'яти перцевої, квітки ромашки лікарської, квітки нагідок лікарських, квітки пижми звичайної, квітки лаванди колоскової
5	Звіробій звичайний (<i>Hypericum perforatum</i> L.), трава	Гіперозид	ВЕРХ	Листя кропиви дводомної, кора дуба, корені цикорію дикого, корені кульбаби лікарської, насіння льону
		Ізокверцетрин	ВЕРХ	Листя кропиви дводомної, корені цикорію дикого, насіння льону, корені імбиру, корені куркуми
6	Ромашка лікарська (<i>Chamomilla recutita</i> L.), квітки	Апігенін, лутеолін	ВЕРХ	Листя кропиви дводомної, насіння льону, плоди глоду, трава споришу, кора дуба звичайного, квітки нагідок лікарських, плоди шипшини, корені кульбаби лікарської, трава звіробою, корені цикорію дикого
		Апігенін-7-глюкозид	ВЕРХ	Шишки хмелю, насіння льону, плоди глоду, листя кропиви дводомної, трава фіалки триколірної, трава звіробою звичайного, трава чебрецю, кора дуба звичайного, зерна вівса посівного, корені імбиру, корені лепехи, листя чаю зеленого, корені куркуми, трава хвощу польового
7	Солодка гола (<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.), корені	Гліциризинова кислота	ВЕРХ	Кора крушини ламкої, трава деревію звичайного, плоди коріандрру, листя сени, трава кропиви собачої, листя м'яти перцевої, шишки хмелю, корені з кореневищами валеріани лікарської
8	Кропива дводомна (<i>Urtica dioica</i> L.), листя	Скополетин	ВЕРХ	Плоди глоду, трава споришу, квітки нагідок лікарських, плоди шипшини, корені та кореневища валеріани лікарської, кора крушини, кореневища лепехи, насіння льону
		Кофеїл-яблучна кислота	ВЕРХ	Квітки ромашки аптечної, листя м'яти перцевої, листя подорожника, плоди шипшини, корені цикорію дикого, корені з кореневищами валеріани лікарської, зерно вівса посівного, кора крушини ламкої, трава деревію звичайного, корені лепехи
9	Бузина чорна (<i>Sambucus nigra</i> L.), квітки	Астрагалін	ВЕРХ	Корені з кореневищами валеріани лікарської, трава звіробою звичайного, корені цикорію дикого, насіння льону
10	Елеутерокок колючий (<i>Eleutherococcus senticosus</i> L.), корені	Елеутерозид Е	ВЕРХ	трава звіробою звичайного, корені ехінацеї пурпурової

№	Об'єкт дослідження	Визначений маркер	Метод дослідження	Рослинні компоненти, у присутності яких можлива стандартизація за визначеним маркером
11	Розмарин лікарський (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.), листя	Розмаринова кислота	ВЕРХ	Корені любистку, трава золототисячнику, корені солодки голої, плоди шипшини, плоди коріандру, шишки хмелю
12	Цмин пісковий (<i>Helichrysum arenarium</i> L.), квітки	Апігенін	ВЕРХ	Плоди глоду, корені алтеї лікарської, корені солодки голої, корені цикорію дикого, корені кульбаби лікарської, шишки хмелю, трава кропиви собачої, листя та квітки глоду, трава звіробою, насіння льону
13	Хвощ польовий (<i>Equisetum arvense</i> L.), трава	ди-Е-кофеїл-мезовинна кислота	ВЕРХ	Трава хвоща польового, трава омели білої, трава звіробою звичайного, квітки та листя глоду, плоди глоду, трава м'яти перцевої, трава меліси лікарської, квітки ромашки аптечної, трава споришу, плоди амі зубної, трава деревію звичайного, листя кропиви дводомної, кора дуба звичайного
14	Материнка звичайна (<i>Origanum vulgare</i> L.), трава	Розмаринова кислота	ВЕРХ	Листя кропиви дводомної, трава кропиви собачої, плоди шипшини, зерна вівса посівного, корені цикорію дикого, трава споришу, квітки бузини чорної, плоди глоду, корені кульбаби лікарської, насіння льону
		Лютеолін-7-глюкозид	ВЕРХ	Листя мати-й-мачухи, корені алтеї лікарської
15	Дуб звичайний (<i>Quercus robur</i> L.), кора	Елагова кислота	ВЕРХ	Листя кропиви дводомної, корені цикорію дикого, насіння льону, корені імбиру, корені куркуми довгої, корені лепехи, зерна вівса посівного
16	М'ята перцева (<i>Mentha piperita</i> L.), листя	Апігенін	ВЕРХ	Трава кропиви собачої, корені солодки голої, шишки хмелю, корені з кореневищами валеріани лікарської, квітки бузини чорної, трава чебрецю, листя подорожника
		Розмаринова кислота	ВЕРХ	Трава кропиви собачої, корені солодки голої, шишки хмелю, корені з кореневищами валеріани лікарської
		Ментол	ГРХ	Листя кропиви дводомної, трава деревію звичайного, квітки нагідок лікарських, корені з кореневищами валеріани лікарської, корені кульбаби лікарської, кореневища лепехи, листя меліси лікарської
17	Глід (<i>Crataegus</i> sp.), листя та квітки	Гіперозид	ВЕРХ	Листя кропиви дводомної, кора дуба звичайного, корені цикорію дикого, корені кульбаби лікарської, насіння льону
		Вітексин-2-О-рамнозид	ВЕРХ	Шишки хмелю, листя кропиви дводомної, насіння льону, кора дуба звичайного, корені цикорію дикого, корені кульбаби лікарської, кореневища з коренями валеріани лікарської, трава споришу, корені імбиру, корені куркуми довгої
18	Глід (<i>Crataegus</i> sp.), плоди	Гіперозид	ВЕРХ	Листя кропиви дводомної, кора дуба звичайного, корені цикорію дикого, корені кульбаби лікарської, насіння льону
		Ізокверцетрин	ВЕРХ	Листя кропиви дводомної, кора дуба звичайного, насіння льону, корені імбиру, корені куркуми довгої
19	Фіалка триколірна (<i>Viola tricolor</i> L.), трава	Віолантин	ВЕРХ	Листя кропиви дводомної, кора дуба звичайного, корені цикорію дикого, корені кульбаби лікарської, насіння льону, шишки хмелю, корені з кореневищами валеріани, трава споришу, корені куркуми довгої, корені імбиру
20	Нагідки лікарські (<i>Calendula officinalis</i> L.), квітки	Ізорамнетин	ВЕРХ	Корені цикорію дикого, корені ехінацеї пурпурої, корені кульбаби лікарської, корені та кореневища валеріани лікарської, плоди шипшини, листя м'яти перцевої, шишки хмелю
		Ізорамнетин-3-рутинозид	ВЕРХ	Плоди шипшини, плоди та квітки глоду колючого, шишки хмелю, листя м'яти перцевої, листя подорожника великого, квітки ромашки аптечної

№	Об'єкт дослідження	Визначений маркер	Метод дослідження	Рослинні компоненти, у присутності яких можлива стандартизація за визначеним маркером
21	Куркума довга (<i>Curcuma longa</i> L.)	Куркумін	ВЕРХ	Листя меліси лікарської, корені імбиру, корені солодки голої, листя чаю зеленого
22	Імбир справжній (<i>Zingiber officinale</i> Rosc.), корені	Гінгерол-6	ВЕРХ	Листя меліси лікарської, корені солодки голої, листя чаю зеленого, корені куркуми довгої
23	Шавлія лікарська (<i>Salvia officinalis</i> L.), листя	Розмаринова кислота	ВЕРХ	Листя кропиви дводомної, насіння льону, корені кульбаби лікарської, трава споришу, трава кропиви собачої, плоди шипшини, зерна вівса посівного, корені цикорію дикого, плоди глоду
		1,8-цинеол	ГРХ	Квітки нагідок лікарських, плоди глоду колючого, трава споришу, трава звіробою звичайного, плоди шипшини
24	Евкалипт прутовидний (<i>Eucalyptus viminalis</i> Labill.), листя	Кверцетрин	ВЕРХ	Насіння льону, шишки хмелю, листя кропиви дводомної, трава фіалки триколірної, квітки бузини чорної, корені алтеї лікарської, зерна вівса посівного, корені солодки голої, корені лепехи
		1,8-цинеол	ГРХ	Квітки нагідок лікарських, плоди глоду, трава споришу, трава звіробою звичайного, плоди шипшини
25	Буркун лікарський (<i>Melilotus officinalis</i> L.), трава	Кумарин	ВЕРХ	Плоди глоду, трава кропиви собачої, шишки хмелю, зерна вівса посівного, трава меліси лікарської, плоди коріандру

«Вітастим» (ВАТ «Біолік»). У результаті проведених досліджень з використанням методу ВЕРХ доведено можливість стандартизувати ехінацею в присутності 11 рослинних компонентів [12].

Для визначення маркера, за яким можлива стандартизація меліси лікарської в рослинних сумішах, моделями були наступні препарати: краплі «Антифронт» виробництва «Beresh Pharmaceuticals Co. Ltd.» (Угорщина) і складна настойка «Седофлор» виробництва АТ «Ефект» (Харків). У результаті проведених досліджень доведено можливість використовувати як маркер меліси лікарської розмаринову кислоту в присутності БАР 10 рослинних компонентів (табл. 2) [13].

Маркерами трави деревію звичайного можуть бути флавонові аглікони – лютеолін і апігенін та терпеноїди – борнеол і 1,8-цинеол. Зокрема, з використанням методів ВЕРХ та ГРХ розроблені хроматографічні методики, застосування яких дає можливість стандартизації деревію в присутності БАР 10 та 5 рослинних компонентів відповідно (табл. 2) [3, 5, 11].

Як маркери квіток нагідок лікарських можливо використовувати ізорафнетин [6] та ізорафнетин-3-

рутинозид [16], для стандартизації коренів солодки голої доцільно використовувати гліциризинову кислоту [7].

Маркером чистотілу звичайного, окрім алкалоїдів, склад яких у рослині дуже мінливий, може бути кофеїл-яблучна кислота, поширення якої в рослинній сировині обмежене. Нами доведена можливість стандартизувати чистотіл за наявністю та вмістом кофеїл-яблучної кислоти в присутності БАР 6 рослинних компонентів (табл. 2) [17].

Маркерами квіток ромашки лікарської можуть бути флавоноїди апігенін, апігенін-7-глюкозид та лютеолін [4]; скополетин та кофеїл-яблучна кислота можуть бути використані при стандартизації рослинних сумішей кропиви дводомної [8, 10].

Як модель для визначення можливості стандартизації елеутерококу колючого в БЛЗРП використали сироп «Імунотон» (ЗАТ «Артеріум»). У результаті проведених досліджень було доведено можливість якісного та кількісного визначення елеутерококу за вмістом елеутерозиду Е у присутності БАР ехінацеї пурпурової та звіробою звичайного.

Маркером квіток бузини чорної може бути флавоноїд астрагалін, зокрема, показана можливість стандартиза-

ції бузини за вмістом зазначеного маркера в присутності БАР 5 лікарських рослин [18].

Розмаринова кислота може виступати маркером розмарину лікарського, флавоноїд апігенін – квіток цмину піскового, флавоноїди гіперозид та ізокверцетрин – трави звіробою звичайного, елагова кислота – кори дуба звичайного, ди-Е-кофеїл-мезовинна кислота – трави хвощу польового, флавоноїд віолантин – трави фіалки триколірної (табл. 2).

Показана можливість використання як маркерів м'яти перцевої розмаринової кислоти, апігеніну та ментолу для стандартизації м'яти в рослинних сумішах у присутності 4, 8 та 7 рослинних компонентів відповідно (табл. 2).

Як маркери материнки звичайної можна використовувати флавоноїд – лютеолін-7-глікозид та фенілпропаноїд – розмаринову кислоту, плодів глоду – флавоноїди гіперозид та ізокверцетрин, квіток та листя глоду – флавоноїди, вітексин-2-О-рамнозид та гіперозид (табл. 2).

Куркумін може бути маркером коренів куркуми довгої, гінгерол-6 – коренів імбиру, кумарин – трави буркуну лікарського, кверцетрин та 1,8-цинеол – листя евкаліпту прутовидного, розмаринова кислота та 1,8-цинеол – листя шавлії лікарської (табл. 2).

Висновки

1. Запропоновано методологію якісного та кількісного аналізу рослинних сумішей із використанням речовин-маркерів як один зі шляхів реалізації сучасних підходів до стандартизації полікомпонентних фітозасобів.
2. Проведено аналіз найпоширеніших компонентів БЛЗРП, що зареєстровані на фармацевтичному ринку України.
3. Визначено маркери, за допомогою яких можлива якісна та кількісна стандартизація 25 рослинних компонентів у складі БЛЗРП із використанням високоселективних фармакопейних методів аналізу.

1. Алехина Н. Д. Физиология растений : За ред. И. П. Ермакова / Н. Д. Алехина. – М., 2007. – 640 с.
2. Блажей А. Фенольные соединения растительного происхождения / А. Блажей, Л. Шутый. – М. : Мир, 1977. – 240 с.
3. Гудзенко А. В. Дослідження ліпофільних екстрактів трави деревію звичайного (*Achillea millefolium* L.) / Гудзенко А. В. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2010. – № 6 (19). – С. 62–68.
4. Гудзенко А. В. Дослідження препаратів та рослинних сумішей квіток ромашки лікарської / Гудзенко А. В. // Фітотерапія, часопис. – 2011. – № 2. – С. 84–87.
5. Гудзенко А. В. Розробка підходів до якісного та кількісного визначення компонентів трави деревію звичайного (*Achillea millefolium* L.) у багатокомпонентних рослинних сумішах / Гудзенко А. В. // Фармацевтичний журнал. – 2011. – № 1. – С. 79–84.
6. Гудзенко А. В. Розробка підходів до стандартизації квіток нагідок лікарських у багатокомпонентних рослинних сумішах / Гудзенко А. В. // Фітотерапія, часопис. – 2011. – № 1. – С. 80–83.
7. Гудзенко А. В. Розробка підходів до стандартизації коренів солодки голої (*Glycyrriza glabra* L.) у рослинних сумішах / Гудзенко А. В. // Фітотерапія, часопис. – 2011. – № 4. – С. 65–67.
8. Гудзенко А. В. Розробка підходів до стандартизації кропиви дводомної (*Urtica dioica* L.) в рослинних сумішах / Гудзенко А. В. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – № 4 (23). – С. 61–66.
9. Гудзенко А. В. Використання речовин-маркерів – сучасний підхід до стандартизації багатокомпонентних лікарських засобів рослинного походження / Гудзенко А. В., Цуркан О. О., Ковальчук Т. В. // Фармацевтичний журнал. – 2011. – № 5. – С. 87–91.
10. Гудзенко А. В. Дослідження препаратів та рослинних сумішей листя кропиви дводомної (*Urtica dioica* L.) / Гудзенко А. В., Цуркан О. О., Ковальчук Т. В. // Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика. – 2011. – Вип. 20, Кн. 3. – С. 467–473.
11. Гудзенко А. В., Дослідження препаратів та рослинних сумішей трави деревію звичайного (*Achillea millefolium* L.) / Гудзенко А. В., Цуркан О. О., Ковальчук Т. В. // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2011. – Вип. XXIV, № 2. – С. 61–64.
12. Гудзенко А. В. Стандартизація ехінацеї пурпурової у багатокомпонентних рослинних сумішах / Гудзенко А. В., Цуркан О. О., Ковальчук Т. В. // Фармацевтичний журнал. – 2009. – № 1. – С. 130–135.

13. Гудзенко А. В. Стандартизація меліси лікарської у багатокомпонентних рослинних сумішах / Гудзенко А. В., Цуркан О. О., Ковальчук Т. В. // Фармацевтичний журнал.– 2010.– № 5.– С. 70–74.
14. Довідник лікарських засобів, зареєстрованих в Україні станом на 01.01.2011 // www.Pharmaceutical.kiev.ua.
15. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. Гродзінський А. М.– К. : Головна ред. УРЕ, 1989.– 544 с.
16. Патент на корисну модель № 56796 Україна, МПК G01N 30/00. Спосіб стандартизації квіток нагідок лікарських (*Calendula officinalis* L.) в багатокомпонентних рослинних сумішах / А. В. Гудзенко, О. О. Цуркан, Т. В. Ковальчук (Україна).– № у 2010 008783; Заявл. 14.07.2010; Опубл. 25.01.2011, Бюл. № 2.– 7 с.
17. Патент на корисну модель № 67509 Україна, МПК A61K 31/00. Спосіб стандартизації чистотілу звичайного (*Chelidonium majus* L.) в багатокомпонентних рослинних сумішах / А. В. Гудзенко, О. О. Цуркан, Т. В. Ковальчук (Україна).– № у 2011 09156; Заявл. 21.07.2011; Опубл. 27.02.2012, Бюл. № 4.– 4 с.
18. Патент на корисну модель № 69764 Україна, МПК A61K 31/00. Спосіб стандартизації квіток бузини чорної (*Sambucus nigra* L.) в багатокомпонентних рослинних сумішах / А. В. Гудзенко, О. О. Цуркан, Т. В. Ковальчук (Україна).– № у 2011 13087; Заявл. 07.11.2011; Опубл. 10.05.2012, Бюл. № 9.– 5 с.
19. Украинский рынок растительных препаратов по лекарственным формам: предпочтения и перспективы / Пивень Е. П., Дихтярев С. И., Левченко В. В., Тихомиров Е. В. // Фармаком.– 2008.– № 4.– С. 102–107.
20. Преображенский В. Современная энциклопедия лекарственных растений / В. Преображенский.– Донецк : ООО ПКФ «БАО», 2006.– 592 с.
21. Растительные лекарственные средства / Максютин Н. П., Комиссаренко Н. Ф., Прокопенко А. П. [и др.].– К.: Здоров'я, 1985.– 280 с.
22. Справочник «Компендиум-2011 – лекарственные препараты» / Под ред. В. Н. Коваленко, А. П. Викторова.– К.: Морион, 2011.– 2270 с.
23. Barry E. Modern Practice of Gas Chromatography: Application and Column Selections / E. Barry, T. Brettel.– John Wiley & Sons, N.Y., 2012.– 576 p.
24. Rote List.– Frankfurt/Main: Service GmbH, 2006.– 535 p.
25. Waksmundzka-Hajnos M. High performance liquid chromatography in phytochemical analysis / M. Waksmundzka-Hajnos, J. Sherma.– London : CRC Press, 2010.– 995 p.

А. В. Гудзенко, А. А. Цуркан, Т. В. Ковальчук

Реализация современных подходов к стандартизации поликомпонентных фитопрепаратов

С целью приведения методик анализа многокомпонентных лекарственных средств растительного происхождения (МЛСРП) к современным фармакопейным требованиям, предложена методология качественной и количественной стандартизации отдельных компонентов сложных фитопрепаратов по веществам-маркерам. Среди зарегистрированных на фармацевтическом рынке Украины МЛСРП проведен поиск 50 наиболее часто используемых растительных компонентов. Для 25 из них предложены маркерные соединения, позволяющие осуществлять качественную и количественную стандартизацию растительных компонентов в смесях.

Ключевые слова: вещества-маркеры, многокомпонентные лекарственные средства растительного происхождения, стандартизация, ВЭЖХ, ГЖХ

A. V. Gudzenko, O. O. Tsurkan, T. V. Kovalchuk

Realization of modern approaches to the standardization of multicomponent plant medicines

In order to bring the techniques of analyzing multi-component plant medicines in compliance with modern pharmacopoeia requirements there were proposed marker's compounds methodology which make it possible the qualitative and quantitative standardization of components from complex plant medicines. Among registered in the pharmaceutical market of Ukraine multi-component plant medicines searched the 50 most commonly used herbal ingredients. For 25 of them were offered marker's compounds, which can be used for qualitative and quantitative standartization of plant components in mixtures.

Key words: markers compounds, multicomponent plant medicines, standartization, HPLC, GC

Надійшла: 18.07.2012 р.

Контактна особа: Гудзенко Андрій Вікторович, старший науковий співробітник Державної лабораторії з контролю якості лікарських засобів, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», вул. Е. Потье, 14, м. Київ, 03680. Тел.: +38 (044) 277-41-18. E-mail: ganvi@yandex.ru

Н. О. Горчакова, І. С. Чекман, А. К. Галицька, О. О. Нагорна**Ранолазин – засіб метаболічної терапії:
фармакодинаміка, клінічна фармакологія***Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ
ДП «Інститут кардіології імені М. Д. Стражеска», м. Київ*

*Ключові слова: метаболічна терапія,
ранолазин, фармакодинаміка, клінічна
фармакологія*

Сучасна кардіологія спрямована на вдосконалення фармакотерапії серцево-судинних захворювань і, у першу чергу, ішемічної хвороби серця (ІХС), хронічної серцевої недостатності (ХСН), артеріальної гіпертензії (АГ). Ці захворювання суттєво погіршують якість життя хворих, можуть призвести до порушення соціальної активності, інвалідизації, летальності. Однією з головних кардіологічних проблем вважають пошук раціональних схем лікування стабільної стенокардії як форми ІХС, що часто діагностується й має високий ризик розвитку інфаркту міокарда та інших несприятливих наслідків [2, 5].

У зв'язку з тим, що фармакотерапія стабільної стенокардії є не тільки симптоматичною, а спрямована на профілактику інфаркту міокарда, попередження смертності, подовження тривалості та якості життя, до таких лікарських засобів, крім традиційних формулярних антиангінальних, гіполіпідемічних, антиагрегантів, антикоагулянтів рекомендують включати препарати метаболічної терапії, що поліпшують енергозабезпечення міокарда. До метаболічних антиангінальних препаратів, згідно з Національними і Європейськими рекомендаціями з фармакотерапії стабільної стенокардії, належать триметазидин і ранолазин [4].

Увага до засобів метаболічної терапії зумовлена тим, що їхнє включення в комплексну фармакотерапію ІХС підвищує ефективність традиційних патогенетично обґрунтованих препаратів та зменшує їхній несприятливий вплив, особливо, при підвищенні доз гемодинамічно активних препаратів, які

характеризуються здатністю до гіпотензії, брадикардії, набряків кінцівок тощо. Засоби метаболічної терапії реалізують міокардіальну цитопротекцію і, у першу чергу, корекцію енергетичного метаболізму. При ІХС порушується потреба в кисні та його постачання, що веде до підвищення ролі анаеробного гліколізу для синтезу АТФ та здійснення анаеробного синтезу АТФ, головним чином, за рахунок окиснення жирних кислот. Накопичення вільних жирних кислот веде до пошкодження кардіоміоцитів, дисфункції міокарда, порушення функції та структури мембран, клітинного ацидозу, енергодефіциту, порушення іонної рівноваги, накопичення іонів кальцію, вивільнення внутрішньоклітинних ферментів, появи вільних радикалів, посилення колаgenoутворення та інших порушень [1, 2].

Уважають, що одним з механізмів міокардіальної цитопротекції може бути блокада окиснення жирних кислот та активація окиснення глюкози. Саме цей механізм дії більшою чи меншою мірою притаманний триметазидину та ранолазину. Першим представником препаратів метаболічної терапії став триметазидин, інгібітор ферменту 3-кетоацилко-ензим-А-тіолази, завдяки чому препарат гальмує бета-окиснення довголанцюгових жирних кислот у мітохондріях, стимулює окиснення глюкози для утворення енергії [11]. Препарат, особливо в ретардній формі, зберігає енергетичний потенціал клітини – рівень АТФ, креатинфосфату, активність креатинфосфокінази, попереджує виникнення внутрішньоклітинного ацидозу, перевантаження кальцієм, відновлює роботу іонних насосів, має антиоксидантні властивості, зменшуючи активність продуктів вільнорадикального окиснення при ішемії та гіпоксії [1, 3].

Триметазидин і ранолазин є похідними піперазину, разом із тим, триметазидин випускають у лікарських формах для перорального застосування, у тому числі в таблетках з уповільненим вивільненням, ранолазин існує в лікарських формах для перорального та внутрішньовенного введення. Біодоступність триметазидину при пероральному застосуванні складає біля 90 %, ранолазину – 30–55 %. На відміну від триметазидину, екскреція якого здійснюється з сечею практично в незмінному вигляді, ранолазин виводиться, головним чином, у вигляді метаболітів, які утворюються в печінці за участю цитохрому Р-450 та його ізомерів [24].

Ранолазин вважають також парціальним інгібітором окиснення жирних кислот, зворотним інгібітором НАДН у мітохондріях. Тобто, як і триметазидин, ранолазин практично не має токсичного впливу на дихання мітохондрій, має високу антиангінальну активність, сприяє утворенню АТФ. Але порівняно з триметазидином у механізмі дії ранолазину є деякі відмінності. Ранолазин лише частково інгібує бета-окиснення жирних кислот, і цей ефект спостерігається при концентраціях препарату в крові, що значно перевищують терапевтичні [8].

Головний механізм дії ранолазину пов'язують із гальмуванням пізнього повільного натрієвого струму. Повільний інактивуючий компонент натрієвого потоку (slowly inactivating sodium current (persistent) – INaP) сприяє навантаженню натрієм серцевого м'яза й пошкодженню клітин міокарда та судин при ішемії та реперфузії [19, 22].

Ранолазин запобігає перевантаженню клітин натрієм, впливає на натрій-кальцієвий обмін, що, у свою чергу, сприяє поліпшенню коронарного кровообігу [12]. Застосування ранолазину не тільки дозволяє знизити негативні явища ішемії, але й поліпшити функцію ендотелію [18].

У зв'язку з тим, що в порушенні функції кардіоміоцитів важливу роль відіграє повільний натрієвий тік, блокада надходження натрію в клітину може як скоротити оборотно тривалість потенціалу дії, так і поліпшити скоротливість міокарда при експериментально індукованій серцевій недостатності в собак [26].

Поліпшення скоротливості міокарда під впливом ранолазину пов'язують з впливом на ріанідиновий рецептор (олігомер, який виконує функцію запуску серцевого м'яза за допомогою Ca^{2+} -індукованого викиду). Ранолазин знижує чутливість рецептора до кальцію, пригнічує його активацію, інгібує виділення Ca^{2+} , попереджає перевантаження кальцієм кардіоміоцитів [9].

Поліпшення функції міокарда під впливом ранолазину пов'язують із його безпосереднім впливом на міофіламенти та антиоксидантною дією, що дозволяє рекомендувати препарат для фармакотерапії діастолічної дисфункції [13]. Унаслідок блокади повільного натрієвого струму усувається кальцієвий дисбаланс, поліпшується діастолічна функція, знижується діастолічна напруга [23]. Визначена також незначна спорідненість ранолазину до альфа₁-, альфа₂-, бета₁-, бета₂-адренорецепторів, дофамінових D₁, M₁-, M₂-холінорецепторів, аденозинових (A₁, A₂) та серотонінових (5HT_{1A}) рецепторів, що визначає його ефективність при стабільній стенокардії [7].

Незважаючи на активну фармакотерапію й широке застосування ревазуклізації міокарда, підвищення числа хворих з хронічною стенокардією в розвинутих країнах вимагає пошуку нових підходів для лікування цього захворювання. Щоб рекомендувати або заперечити включення ранолазину в комплексну фармакотерапію стабільної стенокардії, були проведені багатоцентрові дослідження CARISA, MARISA, що доводили ефективність ранолазину у хворих зі стенокардією, але не дали вірогідних результатів щодо підвищення ризику порушень ритму та інших ускладнень. У багатоцентровому дослідженні ERICA встановлено, що ранолазин зменшує частоту нападів стенокардії, підвищує фізичну активність, зменшує потребу в нітрогліцерині при сполученні з амлодипіном. Одним з більш вірогідних багатоцентрових досліджень стало MERLIN-TIMI-36, завданням якого було підтвердження ефективності і нешкідливості ранолазину у хворих, що перенесли гострий коронарний синдром без підйому сегмента ST, у яких

перед госпіталізацією була діагностована стабільна стенокардія. Аналіз даних понад 3500 пацієнтів з гострим коронарним синдромом та стабільною стенокардією показав, що в цій популяції ранолазин має значний антиангінальний ефект, вірогідно зменшуючи частоту рецидивуючої ішемії міокарда. Терапія із включенням препарату показала його безпечність при призначенні хворим зі стабільною стенокардією без підвищення ризику загальної смертності, частоти раптової смерті та симптомів аритмії, що дало можливість стверджувати наявність у ранолазину антиангінальних та антиішемічних властивостей. Однак сам препарат, як і інші метаболітотропні засоби, не впливає на смертність від серцево-судинної причини та на ризик розвитку інфаркту міокарда, тому не може бути застосований для вторинної серцево-судинної профілактики, а також для профілактики рецидивів стенокардії у хворих, які перенесли гострий коронарний синдром, у яких не визначали симптоматику [27].

У зв'язку з відсутністю доказів доцільності застосування метаболітотропних препаратів для монотерапії та необхідністю ствердження доцільності призначення з антагоністами кальцію та бета-адреноблокаторами, проведено клінічне дослідження з визначення ефективності сполучення ранолазину з амлодипіном. Результати клінічних випробувань дозволили встановити, що поєднання ранолазину з амлодипіном зменшує частоту нападів стенокардії краще, ніж лікування самим лише амлодипіном [25].

Незважаючи на те що перші клінічні дослідження ранолазину заперечували наявність впливу препарату на частоту серцевих скорочень, його властивість блокувати повільний компонент натрієвого току стала підставою для подальшого випробування разом з блокаторами калієвих каналів як засобу для лікування тахіаритмій і попередження фібриляції передсердь. В експериментах на собаках встановлено, що ранолазин має синергічну з аміодароном антиаритмічну дію на передсердя і може підвищувати ефективний рефрактерний період передсердь [21].

Надалі було показано, що ранолазин має виражену селективність дії, тому

що препарат швидко зв'язується із фрагментами натрієвих каналів і дисоціює з цього зв'язку, індукуює післяреполяризаційну рефрактерність і тому комбінація ранолазину з амлодипіном є ефективною з точки зору пригнічення прояву фібриляції передсердь і лікування шлуночкових тахіаритмій [6]. У багатоцентровому дослідженні Merlin-Timi-36 підтверджено, що лікування ранолазином у складі комплексної фармакотерапії хворих із гострим коронарним синдромом значно знижує рівень тахіаритмій порівняно з плацебо [20].

Ранолазин має вищу вибірковість дії, ніж у багатьох інших антиаритмічних препаратів. В основі високої селективності ранолазину лежить гідрофільний доступ до іонних каналів, що забезпечує вплив на іонні канали Na^+ . Важливу роль відіграють особливості морфології передсердь та інтенсивність потенціалів, що генеруються [16].

Використання дронедаарону (мультак) і ранолазину запобігає індукції фібриляції передсердь на 17 % і 29 %. Поєднання препаратів дронедаарону та ранолазину підвищує ефективність у 90 % випадків застосування. У низьких концентраціях ці препарати мають незначну дію на електрофізіологічні ефекти, тому їхнє поєднання спричиняє потужний синергічний ефект унаслідок селективної дії, що зумовлена пригніченням активності натрієвих каналів [10].

Препарат ранолазин здатний скоротити кількість випадків усіх типів аритмій, таких як шлуночкова тахікардія, суправентрикулярна тахікардія, фібриляція передсердь та раптова кардіальна смерть. Результати досліджень показали, що ранолазин доцільно застосовувати для попередження аритмій та лікування пацієнтів із хронічною ішемічною кардіоміопатією [15].

Хронічна стабільна стенокардія є виснажливою хворобою, часто супутнім захворюванням її діагностують цукровий діабет із підвищенням рівня глікозильованого гемоглобіну (HbA1c). Збільшення рівня HbA1c підвищує ризик виникнення інфаркту, інсульту, захворювання периферичних судин. Рівень HbA1c із показником 9 % майже в 1,5 разу збільшує ризик серцевого

нападу порівняно з рівнем HbA1c 6 %. Встановили, що завдяки включенню ранолазину у фармакотерапію хворих на хронічну стабільну стенокардію та цукровий діабет навіть з ознаками ішемії, підвищується її безпечність. Наявність цукрового діабету подвоює ризик розвитку несприятливих серцево-судинних захворювань, а також побічних ефектів деяких груп серцево-судинних засобів. β -адреноблокатори змінюють метаболізм глюкози, що негативно позначається на рівні HbA1c у хворих на цукровий діабет. Відомо, що застосування ранолазину потрібне для процесу ефективного окиснення вуглеводів, що стало підставою для призначення препарату хворим стабільною стенокардією та цукровим діабетом. Підвищення процесу окиснення жирних кислот пригнічує діяльність міокарда. Ранолазин, гальмуючи процеси окиснення жирних кислот, сприяє процесу ефективного окиснення вуглеводів та усуває негативний вплив на гемодинаміку, паралельно нормалізує рівень HbA1c [14, 17].

Останніми роками у хворих на стабільну стенокардію, в яких діагностували цукровий діабет, було встановлено, що ранолазин значно знижує рівень глікозильованого гемоглобіну від 7,5 до 6,9 %. Адже цукровий діабет є поширеною хворобою, яка часто пов'язана із серцево-судинними захворюваннями. Імовірність

захворювання на цукровий діабет підвищується з виникненням гострого коронарного синдрому, що може проявлятися порушенням метаболізму глюкози. Показано, що використання ранолазину в пацієнтів із хронічною стабільною стенокардією сприяє не тільки зменшенню проявів захворювання, підвищенню працездатності, але й знижує рівень глікозильованого гемоглобіну (HbA1c). Надалі також визначили, що ранолазин збільшує секрецію інсуліну в ізольованих острівцях підшлункової залози після внутрішньовенного введення глюкози [14].

Розробка альтернативних підходів до лікування серцево-судинних захворювань і їхніх ускладнень продовжується. Крім включення до схеми фармакотерапії стабільної стенокардії окремих інгібіторів окиснення жирних кислот, застосовують їхні комбінації, наприклад, триметазидин у поєднанні з ранолaziном. Метаболітні та метаболітотропні препарати викликають зацікавленість лікарів, тому що нормалізують діяльність серцево-судинної системи та метаболізм. Останні результати клінічного застосування ранолазину підтверджують необхідність його включення у фармакотерапію не тільки хворих зі стабільною стенокардією, але також при супутніх порушеннях ритму серця та наявності цукрового діабету.

1. Пархоменко А. Н. Метаболическая терапия или кардиопротекция при ишемической болезни сердца. Итоги и перспективы / А. Н. Пархоменко // Укр. мед. часопис. – 2008. – Т. 66, № 4. – С. 15–19.
2. Приходько В. Ю. Метаболическая терапия при сердечно-сосудистых заболеваниях / В. Ю. Приходько // Ліки України. – 2009. – Т. 130, № 4. – С. 61–64.
3. Серкова В. К. Метаболические кардиопротекторы в терапии больных ишемической болезнью сердца: роль парциальных ингибиторов окисления жирных кислот / В. К. Серкова // Рациональная фармакотерапия. – 2008. – Т. 6, № 1. – С. 48–52.
4. Серцево-судинні захворювання. Рекомендації з діагностики, профілактики та лікування / За ред. В. М. Коваленка, М. І. Лутая. – К. : Моріон, 2011. – 408 с.
5. Чекман И. С. Метаболитные и метаболитотропные препараты в системе кардио- и органопротекции / И. С. Чекман, Н. А. Горчакова, С. Б., Французова, Е. А. Нагорная. – К. : Полиграф плюс, 2009. – 155 с.
6. Antzelevitch C. Atrial-selective sodium channel block as a novel strategy for the management of atrial fibrillation / C. Antzelevitch, A. Burashnikov // J. Electrocardiol. – 2009. – V. 42, № 6. – P. 543–548.
7. Electrophysiological effects of ranolazine, a novel antianginal agent with antiarrhythmic properties / C. Antzelevitch, L. Belardinelli, A. C. Zygmunt [et al.] // Circulation. – 2004. – V. 110, № 8. – P. 904–910.
8. Azif M. Ranolazine. A review of its use in chronic stable angina pectoris / M. Asif, A. Siddigni, S. J. Kean // Drugs. – 2006. – V. 66, № 5. – P. 693–710.
9. Effects of ranolazine on cardiovascular system / I. Bonadei, E. Vizzardi, F. Quinzani [et al.] // Recent Pat. Cardiovasc. Drug. Disov. – 2011. – V. 6, № 3. – P. 215–221.
10. Synergistic effect of the combination of ranolazine and dronedarone to suppress atrial fibrillation / A. Burashnikov, S. Sicouri, J. M. Di Diego [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2010. – V. 56, № 15. – P. 1216–1224.
11. Effect of trimetazidine of the calcium transport and oxidative phosphorylation of isolated rat heart mitochondria / C. Guarneri, C. Finelli, M. Zim, C. Muscuri // Basic res. cardiol. – 1997. – V. 92. – P. 90–95.

12. Hasenfuss G. Mechanism of action of the new anti-ischemia drug Ranolazine / G. Hasenfuss, L. S. Maier // Clin. Res. Cardiol.– 2008.– V. 97, № 4.– P. 222–226.
13. Ranolazine improves cardiac diastolic dysfunction through modulation of myofilament calcium sensitivity / J. D. Loveloc, M. M. Monasky, E. M. Jeong [et al.] // Circ. Res.– 2012.– V. 110, № 6.– P. 841–850.
14. Evaluation of the glycometabolic effects of ranolazine in patients with and without diabetes mellitus in the MERLIN-TIMI 36 randomized controlled atrial / D. A. Morrow, B. M. Scirica, B. R. Chaitman [et al.] // Circulation.– 2009.– V. 119, № 15.– P. 2032–2039.
15. Nanda S. Ranolazine is effective for acute or chronic ischemic dysfunction with heart failure / S. Nanda, M. W. Martinez, T. Dey // J. Am. Coll. Cardiol.– 2010.– V. 56, № 10.– P. 822.
16. Mechanisms of atrial-selective block of Na⁺ channels by ranolazine: II. Insights from a mathematical model / V.V. Nesterenko, A. C. Zygmunt, S. Rajamani [et al.] // Am. J. Physiol. Heart Circ Physiol.– 2011.– V. 301, № 4.– P. 1615–1624.
17. Patel P. D. Utility of ranolazine in chronic stable angina patients / P. D. Patel, R. R. Arora // Vasc. Health. Risk Manag.– 2008.– V. 4, № 4.– P. 819–824.
18. Reddy B. M., Weintraub H. S., Schwartzbard A. Z. Ranolazine: a new approach to treating an old problem / B. M. Reddy // Tex. Heart Inst. J.– 2010.– V. 37, № 6.– P. 641–647.
19. Saint D. A. The cardiac persistent sodium current: an appealing therapeutic target? / Saint D. A. // Br. J. Pharmacol.– 2008.– V. 153, № 6.– P. 1133–1142.
20. Effect of ranolazine, an antianginal agent with novel electrophysiological properties, on the incidence of arrhythmias in patients with non ST-segment elevation acute coronary syndrome: results from the Metabolic Efficiency With Ranolazine for Less Ischemia in Non ST-Elevation Acute Coronary Syndrome Thrombolysis in Myocardial Infarction 36 (MERLIN-TIMI 36) randomized controlled trial / B. M. Scirica, D. A. Morrow, H. Hod [et al.] // Circulation.– 2007.– V. 116, № 15.– P. 1647–1652.
21. Synergistic electrophysiologic and antiarrhythmic effects of the combination of ranolazine and chronic amiodarone in canine atria / B. M. Scirica, D. A. Morrow, H. Hod [et al.] // Circ. Arrhythm. Electrophysiol.– 2010.– V. 3, № 1.– P. 88–95.
22. Song Y. A slowly inactivating sodium current contributes to spontaneous diastolic depolarization of atrial myocytes / Y. Song, J. C. Shryock, L. Belardinelli // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.– 2009.– V. 297, № 4.– P. 1254–1262.
23. Antagonism by ranolazine of the pro-arrhythmic effects of increasing late I_{Na} in guinea pig ventricular myocytes / Y. Song, J. C. Shryock, L. Wu, L. Belardinelli // J. Cardiovasc. Pharmacol.– 2004.– V. 44, № 2.– P. 192–199.
24. Ranolazine: new paradigm for management of myocardial ischemia, myocardial dysfunction, and arrhythmias / Y. Song, C. Shryock, Wu L., L. Belardinelli // Cardiol. Clin.– 2008.– V. 26, № 4.– P. 603–614.
25. Truffa A. A. Extended-release ranolazine: critical evaluation of its use in stable angina / A. A. Truffa, L. K. Newby, C. Melloni // Vasc. Health Risk Manag.– 2011.– V. 7.– P. 535–539.
26. Ranolazine improves abnormal repolarization and contraction in left ventricular myocytes of dogs with heart failure by inhibiting late sodium current / A. I. Undrovinas, L. Belardinelli, N. A. Undrovinas [et al.] // J. Cardiovasc. Electrophysiol.– 2006.– № 1.– P. 169–177.
27. Efficacy of ranolazine in patients with chronic angina observations from the randomized, double-blind, placebo-controlled MERLIN-TIMI (Metabolic Efficiency With Ranolazine for Less Ischemia in Non-ST-Segment Elevation Acute Coronary Syndromes) 36 Trial / S. R. Wilson, B. M. Scirica, E. Braunwald [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol.– 2009.– V. 53, № 17.– P. 1510–1516.

Н. А. Горчакова, И. С. Чекман, А. К. Галицкая, Е. А. Нагорная
Раналазин – средство метаболической терапии: фармакодинамика, клиническая фармакология

В обзоре обобщены современные данные относительно применения метаболитотропных средств в фармакотерапии стабильной стенокардии, показаны механизмы действия, фармакодинамика, клиническая фармакология раналазина.

Ключевые слова: метаболитная терапия, раналазин, фармакодинамика, клиническая фармакология

N. A. Gorchakova, I. S. Chekman, A. C. Galitskaya, E. A. Nagornaya
Ranolazine – medicine of metabolic therapy: pharmacodynamics, clinical pharmacology

In the review it is generalized modern concepts of metabolitotropic drugs use in the stable angine treatment, it is shown mechanism of action, pharmacodynamics, clinical pharmacology of ranolazine.

Key words: metabolic therapy, ranolazine, pharmacodynamics, clinical pharmacology

Надійшла: 27.06.2012 р.

Контактна особа: Чекман Іван Сергійович, завідувач кафедри фармакології та клінічної фармакології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, просп. Перемоги, 34, м. Київ. Тел.: + 38 (044) 454-49-24.

CONTENT

REVIEWS

<i>du Souich P., Enna S. J., Ruegg T., LeCount L.</i> IUPHAR Today	3
<i>Kozakova O. O., Nebesna T. J., Chekman I. S., Zagorodnyy M. I.</i> Glossary on the quantum pharmacology: research and pedagogic aspects	9

CONTEMPORARY ASPECTS OF NEUROPHARMACOLOGY

<i>Egorov A. N., Belenichev I. F., Sokolik E. P., Abramov A. V.</i> The impact of cerebrocurin and tiocetam on the early response of the genome and morphofunctional state of neurons from CA-1 zone of the hippocampus of rats under prenatal alcoholization	21
---	----

IN SCIENTIFIC LABORATORIES

<i>Butko Y. A., Drogozov S. M., Lyapunova A. N.</i> The study of anti-inflammatory effect of cream with mometasone	26
<i>Klymenko K. I., Novokhatska T. V., Kizub I. V., Soloviev A. I.</i> The effect of Lipoflavin on total outward potassium current in aortic smooth muscle cells of diabetic rats	31
<i>Kucherenko L., Bobkov V., Barchina H., Volyi A., Mazur J., Krisko A., Yarosh A.</i> Cardiac tissue bioavailability and calculated parameters of pharmacokinetics of new cardiotropic compound «Lisiny»	37
<i>Mokhort N. A., Seredinskaya N. N., Omelyanenko Z. P., Khomenko V. S., Bershova T. A., Pavliuk A. V.</i> Comparative study of cardiotropic effects of diclofenac and nimesulide in rats with adjuvant arthritis	44
<i>Novokhatska T., Tishkin S. M., Dosenko V. E., Soloviev A. I.</i> Potassium conductance correction via protein kinase C delta isoform RNA-interference in smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rat aorta	50
<i>Stepanyuk G. I., Tozyuk E. Y., Voskoboynik O. Y., Kovalenko S. I., Chornoivan N. G.</i> Screening of actoprotective activity in a series of new derivatives 5-R-thio-tetrazolo [1,5c]quinazoline	59
<i>Suvorova Z. S., Vrynchanu N. A.</i> Susceptibility of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> biofilm to the action of alkoxyaminopropanol derivatives	62
<i>Tkacheva O. V., Laryanovskaya Y. B., Iakovlieva L. V.</i> Effect of ointment «Prolidoxyd» on the morphostructure of rat skin under aseptic screen wound in rats	67
<i>Tovchiga O. V.</i> The influence of goutweed (<i>Aegopodium podagraria</i> L.) preparations on the metabolic processes in alloxan-induced diabetic mice	73
<i>Yushchenko T. I., Germanyuk T. A., Chernoknizhny S. I., Zaichko N. V., Korol A. P., Prokopchuk Z. M., Rodyk R. V., Cheshun E. A.</i> Antibacterial and antiaggregant activity of calyx [4,6]arenes	79
<i>Yakovleva L. V., Maciychuk A. P., Kovalova I. A., Chorna N. S.</i> The impact of new phytopreparations based on plantain juice on gastric juice secretion and the state of the gastric mucosa of rats in normal and pathological conditions	88
<i>Yarosh A., Mazur J., Bobkov V., Kucherenko L., Barchina H., Krisko A., Georgievskiy G., Volyi A.</i> Pharmacokinetics profile of compound «Liziny» in the blood after parenteral administration	93

DEVELOPMENT OF NEW METHODOLOGICAL PROCEDURES

<i>Gudzenko A. V., Tsurkan O. O., Kovalchuk T. V.</i> Realization of modern approaches to the standardization of multicomponent plant medicines	99
---	----

CLINICAL PHARMACOLOGY

<i>Gorchakova N. A., Chekman I. S., Galitskaya A. C., Nagornaya E. A.</i> Ranolazine – medicine of metabolic therapy: pharmacodynamics, clinical pharmacology	107
---	-----