
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

№ 6(31)/2012

ЗМІСТ

СУЧАСНІ АСПЕКТИ НЕЙРОФАРМАКОЛОГІЇ

- Важнича О. М.* Антистресорна дія піридоксину як прояв його фармакодинамічної активності.....3
- Лук'янчук В. Д., Житіна І. О., Кравець Д. С., Сейфулліна І. Й., Марцинко О. Е., Песарогло О. Г.* Фармакокінетичне дослідження нового церебропротектора ОК-7 у нормі та за умов ішемії головного мозку8
- Пішель В. Я.* Протиабстинентна активність та механізм дії антинаркотичного засобу Флуридон 13

У НАУКОВИХ ЛАБОРАТОРІЯХ

- Булига Л. О., Бутко Я. О., Іванчик Л. Б.* Порівняння протизапальної активності лосьйону, крему та мазі «Елоком» за умов субхронічного запалення шкіри в щурів..... 18
- Ворожбит А. П.* Моноамінергічні механізми розвитку толерантності до дії антидепресантів 23
- Георгієвський Г. В., Зінченко О. А.* Визначення вмісту технологічних домішок у субстанції 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-тріазолію броміду 29
- Геращенко І. В.* Токолітична активність похідних імідазо[1,2- α]азепінію 37
- Геруш О. В., Яковлева Л. В., Леницька О. Б., Горбань Є. М.* Вплив нового комбінованого рослинного препарату капсул «Гепафісан» на розвиток запальної реакції 42
- Демченко С. А., Смольський О. С., Бобкова Л. С.* Оцінка антиоксидантної та антирадикальної активності нових похідних 5-[2-(3,5-дитретбутил-4-гідроксифеніл)-2-оксоетил]-7-*R*-2-метил-[1,3]-тіазоло-[4,5-*d*]піридазин-4(5*H*)-ону в дослідях *in vitro* 47
- Джан Т. В., Джан А. М., Коновалова О. Ю., Клименко С. В.* Вивчення цукрознижувальної активності екстрактів з листя айви (*Cydonia oblonga* L.) та хеномелесу (*Chaenomeles* L.)52
-

<i>Кононенко А. В., Дроговоз С. М.</i> Вивчення гепатозахисної активності екстракту горобини звичайної	58
<i>Лук'янчук В. Д., Ніженковський О. І., Федорова В. С., Кравець Д. С., Сейфулліна І. Й., Марцинко О. Е., Песарогло О. Г.</i> Скринінгове дослідження церебропротекторної активності координаційних сполук германію на моделі закритої черепно-мозкової травми.....	63
<i>Монатко К. В., Подплетня О. А.</i> Дослідження гострої токсичності, діуретичної та урикозуричної дії ліофільного порошку кавуна	69
<i>Новохацька Т. В.</i> Корекція скоротливої дисфункції судин спонтанно гіпертензивних щурів шляхом сайленсингу гена δ -ізоформи протейнінази С за допомогою РНК-інтерференції	73
КЛІНІЧНА ФАРМАКОЛОГІЯ	
<i>Давидова Ю. В., Ципкун А. Г., Березенко В. С., Апресова К. Г., Огородник А. А., Бутенко Л. П.</i> Особливості перинатального менеджменту вагітних з гіперфункцією щитоподібної залози	81
АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ ЛІКАРСЬКОЇ ТОКСИКОЛОГІЇ	
<i>Дроговоз С. М., Лук'янчук В. Д., Шейман Б. С., Кононенко А. В.</i> Можливі механізми токсичної дії антипсихотичних засобів	86
Правила для авторів	90
CONTENT	92

О. М. Важнича

Антистресорна дія піридоксину як прояв його фармакодинамічної активності

ВДНЗ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Ключові слова: піридоксин, стрес, антиоксидантна дія

Відомо, що вітамінні препарати крім своєї специфічної активності мають фармакодинамічні ефекти, що проявляються при використанні великих доз цих засобів [1]. Наприклад, добре відомо гіполіпідемічна дія нікотинової кислоти (ніацину) [2] або знеболювальний ефект ціанокобаламіну та тіаміну [3]. Сьогодні увагу дослідників привертають ефекти високих доз піридоксину (вітаміну B₆) [4]. Серед цих ефектів особливе місце посідає протисудомна дія при окремих видах епілепсії [5, 6]. Зазначають, що, хоча великі дози піридоксину та піридоксальфосфату можуть викликати побічні явища, зокрема, периферичну нейропатію, така терапія є життєво необхідною при піридоксин-залежній епілепсії в дітей [7]. З огляду на роль активної форми піридоксину в синтезі серотоніну й ГАМК, а також наявність кореляції між низькою забезпеченістю організму піридоксином та виникненням депресії, вважають за доцільне застосування високих доз цього вітаміну з метою обмеження негативних наслідків психоемоційного стресу, насамперед, зменшення ризику гіпертензії, атеросклерозу та ішемічної хвороби серця [8]. Існують експериментальні дослідження, у яких продемонстровано захисний ефект піридоксину (1,11 мг/кг) стосовно рівня катехоламінів у головному мозку та виразок шлунка за умов іммобілізаційного стресу в мишей [9, 10], однак вплив високих доз вітаміну B₆ на інші реакції, індуковані стресором в організмі, описано недостатньо й потребує подальшого дослідження.

Мета роботи – вивчення дії високої дози піридоксину на загально-соматич-

ні показники, реакцію системи крові та перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) при гострому стресі.

Матеріали та методи. Експерименти виконано на 24 білих мишах-самцях, яких утримували за стандартних умов віварію. На проведення експерименту було одержано дозвіл комісії з питань біоетики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія». Гострий стрес у мишей відтворювали шляхом підвищування тварин за шкірну складку шиї за допомогою атравматичних затискачів протягом 60 хв [11]. Піридоксину гідрохлорид (Фармацевтична компанія «Здоров'я», Харків, Україна) вводили тваринам у дозі 100 мг/кг інтраперитонеально за 30 хв до початку дії стресорного фактора. Евтаназію тварин і взяття дослідного матеріалу здійснювали через 60 хв після завершення стресу. Мишей декапітували під ефірним наркозом.

Визначали вагові коефіцієнти надниркових залоз і тимуса [12] та частоту виразкоутворення [13] як критерії розвитку стрес-синдрому та інтегральну оцінку його фармакопрофілактики. Загальну кількість каріоцитів (цитоз) у тимусі, селезінці та кістковому мозку стегнової кістки досліджували за методом П. Д. Горизонтова і співавт. (1983 р.), використовуючи весь орган, гомогенізований у 5 % розчині оцтової кислоти [14]. Загальну кількість лейкоцитів і еритроцитів визначали шляхом підрахунку клітин у камері Горяєва [14]. Лейкоцитарну формулу підраховували в мазках крові, пофарбованих за Паппенгеймом. Рівень ПОЛ у крові та головному мозку тварин досліджували за вмістом продуктів, що реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБКАП) [15]. Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за гальмуванням автоокиснення адреналіну [16].

Одержані результати статистично обробляли з використанням стандартних комп'ютерних програм. Вірогідність різниці між групами оцінювали з використанням критерію t-Ст'юдента або непараметричного критерію ТМФ, «точний метод Фішера» (для аналізу утворення виразок у шлунку).

Результати та їх обговорення. Показано, що підвищування мишей за шкірну складку шиї супроводжується збільшенням вагового індексу надниркових залоз у 1,4 разу та зменшенням вагових індексів тимуса та селезінки в 1,8 і 1,1 разу відповідно порівняно з інтактними тваринами (табл. 1). Про розвиток стрес-синдрому також свідчить інтенсивне утворення виразок на слизовій оболонці шлунка. Їхня частота становить 87,5 % за відсутності таких ушкоджень в інтактних мишей ($P_{\text{тмф}} \leq 0,025$). Множинність виразок при стресі дорівнює $3,3 \pm 0,5$ од.

Піридоксин запобігає гіпертрофії надниркових залоз та інволюції тимуса порівняно зі стресом без фармакологічної корекції (табл. 1). Застосування препарату зменшує частоту ушкоджень слизової оболонки шлунка до 25 % ($P_{\text{тмф}} \leq 0,025$), а їхню множинність – до $1,5 \pm 0,6$ од. Виявлений гастропротективний ефект піридоксину при стресі узгоджується з даними літератури стосовно меншої дози піридоксину, ніж застосована в дослідженні [9, 10].

Стрес характеризується зменшенням цитозу тимуса й селезінки та зростанням загальної кількості каріоцитів у кістковому мозку (табл. 2). Ці зрушення відбуваються на фоні збільшення загальної кількості еритроцитів у 1,3 разу та загальної кількості лей-

коцитів у крові в 1,2 разу порівняно з інтактними тваринами. Вони супроводжуються змінами в лейкоцитарній формулі крові, що проявляються нейтрофіліозом, лімфопенією та тенденцією до еозинопенії. Такі зрушення цитологічних параметрів кровотворних органів та крові є закономірними для стрес-синдрому й відображають перерозподіл лейкоцитів під впливом глюкокортикоїдів і катехоламінів [14]. За цих умов підвищення числа еритроцитів у кровообігу може бути наслідком викиду цих клітин із депо, зокрема, із селезінки при скороченні її капсули під впливом катехоламінів. Це узгоджується з даними інших авторів, які спостерігали аналогічну реакцію за певних режимів відтворення стресу як відгук на зростання кисневого «запиту» тканин [17].

Уведення піридоксину попереджує клітинне спустошення тимуса й селезінки та запобігає зростанню цитозу кісткового мозку (табл. 2). Піридоксин сприяє зменшенню лейкоцитозу й викликає тенденцію до зменшення числа еритроцитів у крові порівняно зі стресом без фармакологічної корекції. Препарат запобігає стресорним змінам лейкоцитарної формули крові. Такий розвиток процесів, вочевидь, пояснюється гальмуванням міграції та перерозподілу лімфоцитів та гранулоцитів у стадію тривоги стрес-синдрому, що зумовлює відсутність характерних зрушень у лейкограмі та лімфоїдного піка в кістковому мозку. З урахуванням протективної дії піридоксину стосовно загально-соматичних показників тріади Сельє, можна припустити, що превентивна дія високої дози цього вітамі-

Таблиця 1

Вагові коефіцієнти внутрішніх органів мишей при стресі та його корекції піридоксином, $M \pm m$

Група тварин	Надниркові залози, од.	Тимус, од.	Селезінка, од.
1. Інтактні (n = 8)	$0,014 \pm 0,001$	$0,124 \pm 0,016$	$0,501 \pm 0,013$
2. Стрес + розчинник (n = 8)	$0,020 \pm 0,002$ $P_{1-2} < 0,002$	$0,069 \pm 0,010$ $P_{1-2} < 0,02$	$0,457 \pm 0,015$ $P_{1-2} < 0,05$
3. Стрес + піридоксину гідрохлорид (n = 8)	$0,011 \pm 0,001$ $P_{1-3} > 0,25$ $P_{2-3} < 0,001$	$0,094 \pm 0,004$ $P_{1-3} > 0,25$ $P_{2-3} < 0,05$	$0,487 \pm 0,010$ $P_{1-3} > 0,25$ $P_{2-3} < 0,25$

Примітка. Тут і в табл. 2, 3: у дужках наведено кількість спостережень.

**Цитоз кровотворних органів і гематологічні показники мишей
при стресі та його корекції піридоксином, $M \pm m$**

Показник	Група тварин, (n = 8)		
	1. Інтактні	2. Стрес + розчинник	3. Стрес + піридоксину гідрохлорид
Цитоз кісткового мозку, млн клітин	18,05 ± 0,92	20,47 ± 0,64 $P_{1-2} < 0,05$	18,20 ± 0,82 $P_{1-3} > 0,25$ $P_{2-3} < 0,05$
Цитоз тимуса, млн клітин	185,3 ± 8,4	155,8 ± 7,1 $P_{1-2} < 0,02$	196,1 ± 8,0 $P_{1-3} > 0,25$ $P_{2-3} < 0,005$
Цитоз селезінки, млн клітин	206,7 ± 6,6	170,4 ± 4,0 $P_{1-2} < 0,001$	204,0 ± 3,5 $P_{1-3} > 0,25$ $P_{2-3} < 0,001$
Загальна кількість еритроцитів у крові, $10^{12}/л$	9,13 ± 0,63	11,45 ± 0,72 $P_{1-2} < 0,05$	9,52 ± 0,54 $P_{1-3} > 0,25$ $P_{2-3} < 0,1$
Загальна кількість лейкоцитів у крові, $10^9/л$	7,28 ± 0,33	8,9 ± 0,47 $P_{1-2} < 0,02$	7,58 ± 0,27 $P_{1-3} > 0,25$ $P_{2-3} < 0,05$
Лейкограма (%): - нейтрофіли	42,6 ± 3,1	66,5 ± 2,4 $P_{1-2} < 0,001$	44,8 ± 1,8 $P_{1-3} > 0,25$ $P_{2-3} < 0,001$
- еозинофіли	0,5 ± 0,3	0 $P_{1-2} < 0,25$	1,4 ± 0,4 $P_{1-3} < 0,1$ $P_{2-3} < 0,005$
- лімфоцити	51,9 ± 2,9	31,8 ± 3,3 $P_{1-2} < 0,001$	49,8 ± 2,2 $P_{1-3} > 0,25$ $P_{2-3} < 0,001$
- моноцити	4,8 ± 0,8	3,0 ± 0,6 $P_{1-2} > 0,25$	4,1 ± 0,7 $P_{1-3} > 0,25$ $P_{2-3} > 0,25$

ну стосовно клітинних показників системи крові має центральне походження, є результатом гальмування ініціальних ланок стрес-синдрому й стоується як симпато-адреналової системи, так і гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи. Щодо участі піридоксину в регуляції симпатичної активності, то слід зазначити, що вже досить давно описана асоціація між симпатичною стимуляцією та дефіцитом піридоксину [18].

Установлено, що стрес підвищування в мишей супроводжується накопиченням ТБКАП у головному мозку тварин, концентрація яких підвищується в 1,4 разу порівняно з інтактними тваринами (табл. 3). Це відбуваєть-

ся на фоні зростання активності СОД у 2,5 разу. У крові тварин, підданих стресу, також спостерігається збільшення концентрації проміжних продуктів ПОЛ у 1,4 разу на фоні тенденції до зниження активності СОД порівняно з контролем. Виявлені зрушення, вочевидь, відображають стан оксидативного стресу, який закономірно супроводжує стрес-синдром.

Профілактичне застосування піридоксину цілком запобігає накопиченню ТБКАП у головному мозку та крові тварин порівняно зі стресом без фармакокорекції (табл. 3), сприяє підтриманню нормальної активності СОД у цих тканинах. Це дає підстави вважати, що піридоксин у фармако-

Уміст проміжних продуктів ПОЛ і активність СОД у головному мозку та крові мишей за умов стресу та його корекції піридоксином, $M \pm m$

Група тварин	Головний мозок		Кров	
	ТБКАП, мкмоль/г	СОД, од. акт.	ТБКАП, мкмоль/мл	СОД, од. акт.
1. Інтактні (n = 7)	0,230 ± 0,018	0,69 ± 0,12	0,016 ± 0,002	1,12 ± 0,09
2. Стрес + розчинник (n = 8)	0,311 ± 0,013 $P_{1-2} < 0,005$	1,74 ± 0,18 $P_{1-2} < 0,001$	0,022 ± 0,002 $P_{1-2} < 0,02$	0,95 ± 0,07 $P_{1-2} < 0,1$
3. Стрес + піридоксину гідрохлорид (n = 8)	0,267 ± 0,013 $P_{1-3} > 0,25$ $P_{2-3} < 0,05$	0,83 ± 0,09 $P_{1-3} > 0,25$ $P_{2-3} < 0,001$	0,014 ± 0,003 $P_{1-3} > 0,25$ $P_{2-3} < 0,05$	1,24 ± 0,10 $P_{1-3} > 0,25$ $P_{2-3} < 0,05$

динамічний дозі здатний обмежувати ПОЛ, тобто виявляє антиоксидантні властивості. Лімітація ПОЛ у даному випадку може бути як опосередкованою центральними ефектами препарату, так і прямою. Останнє припущення узгоджується з даними літератури стосовно здатності піридоксину здійснювати захист проти супероксид-аніон радикала в культурах *S. cerevisiae* [19].

Таким чином, піридоксин у високій дозі (100 мг/кг) виявляє профілактичну дію при гострому стресі в лабораторних тварин, запобігаючи розвитку тріади Сельє, клітинних реакцій у системі крові та оксидативного стресу. Вивчення механізму цього фармакодинамічного ефекту й визначення можливості його клінічного застосування становитиме напрям наших подальших досліджень.

Висновки

1. Гострий стрес підвішування (60 хв) викликає в мишей розвиток гіпертрофії надниркових залоз, інволюцію тимуса, зменшення маси селезінки та утворення пептичних виразок у шлунку, що супроводжується клітинним спустошенням лімфоїдних органів, зростанням цитозу кісткового мозку, нейтрофіліозом та лімфопенією і відбувається на фоні оксидативного стресу.
2. Піридоксину гідрохлорид (100 мг/кг), введений тваринам за 30 хв до стресу, запобігає стресорним змінам вагових коефіцієнтів надниркових залоз і тимуса, зменшує утворення виразок у шлунку, сприяє підтриманню нормального рівня клітинних показників кровотворних органів і крові та окисно-відновної рівноваги.

1. Lemoine A. Clinical conditions requiring elevated dosages of vitamins / A. Lemoine, C. Le Devehat // Int. J. Vitam. Nutr. Res. Suppl. – 1989. – V. 30. – P. 129–147.
2. Rang's and Dale's Pharmacology, 6th edition / Rang H. P., Dale M. M., Ritter J. M. [et al.] – London: Churchill-Livingstone Elsevier, 2007. – 830 p.
3. Thiamine, pyridoxine, cyanocobalamin and their combinatuin inhibit thermal, but not mechanical hyperalgesia in rats with primary sensory neuron loss / Z. B. Wang, Q. Gan, R. L. Rupert [et al.] // Pain. – 2005. – V. 114. – P. 266–277.
4. Vitamin B₆: a long known compound of surprising complexity / S. Mooney, J. E. Leuendorf, C. Hendrickson [et al.] // Molecules. – 2009. – V. 14, № 1. – P. 329–351.
5. Wang H. S. Vitamin B₆ related epilepsy during childhood / H. S. Wang, M. F. Kuo // Chang Gung Med. J. – 2007. – V. 30, № 5. – P. 396–401.
6. Pyridoxine dependent epilepsy and antiquitin deficiency: clinical and molecular characteristics and recommendations for diagnosis, treatment and follow-up / S. Stockler, B. Plecko, S. M. Jr. Gospe // Mol. Genet. Metab. – 2011. – V. 104, № 1–2. – P. 48–60.
7. Clayton P. T. B₆-responsive disorders: a model of vitamin dependency / P. T. Clayton // J. Inherit. Metab. Dis. – 2006. – V. 29, № 2–3. – P. 317–326.
8. McCarty M. F. High-dose pyridoxine as an 'anti-stress' strategy / M. F. McCarty // Med. Hypotheses. – 2000. – V. 54, № 5. – P. 803–807.
9. Effect of Pyridoxine and Magnesium on Stress-Induced Gastric Ulcers in Mice Selected for Low or High Blood Magnesium Levels / J. G Henrotte, N. Aymardb, M. Allixb [et al.] // Ann. Nutr. Metab. – V. 39, № 5. – 1995. – P. 285–290.

10. Effect of pyridoxine on mice gastric ulcers and brain catecholamines after an immobilization stress / J. G. Henrotte, G. Franck, M. Santarromana [et al.] // Ann. Nutr. Metab.– 1992.– V. 36, № 5–6.– P. 313–317.
11. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рекомендації / [наук. ред. О. В. Стефанов].– К.: Авіцена, 2001.– 527 с.
12. Показатели нормы у лабораторных животных в токсикологическом эксперименте (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы) / Трахтенберг И. М., Сова Р. Е., Шефтель В. О. [и др.].– М.: Медицина, 1978.– 176 с.
13. Виноградов В. М. Влияние нейропептидов на экспериментальную дуоденальную язву у крыс / В. М. Виноградов, В. А. Полонский // Пат. физиол. и эксперим. терапия.– 1983.– Вып. 1.– С. 3–6.
14. Горизонтов П. Д. Стресс и система крови / П. Д. Горизонтов, О. И. Белоусова, М. И. Федотова.– М.: Медицина, 1983.– 240 с.
15. Гаврилов В. Б. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой / В. Б. Гаврилов, А. Р. Гаврилова, Л. М. Мажуль // Вопр. мед. химии.– 1987.– Т. 33, № 1.– С. 118–122.
16. Сирота Т. В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы / Т. В. Сирота // Вопр. мед. химии.– 1999.– № 3.– С. 263–272.
17. Цейликман В. Э. Изменение стрессорной реактивности системы крови при переходе к толерантной стратегии адаптации: дис. доктора биол. наук : 14.00.16 / Цейликман Вадим Эдуардович.– Челябинск, 1998.– 333 с.
18. Sympathetic stimulation and hypertension in the pyridoxine-deficient adult rats / C. S. Paulose, K. Dakshinamurti, S. Packer [et al.] // Hypertension.– 1988.– V. 11, № 4.– P. 387–391.
19. Piulats E. Pyridoxine as a protector against oxidative stress / E. Piulats // Eur. J. Biochem.– 2001.– V. 268, № S1.– P. 139–143.

Е. М. Важничая

Антистрессорное действие пиридоксина как проявление его фармакодинамической активности

В экспериментах на 24 белых мышах моделировали острый стресс путем атравматического подвешивания животных в течение 60 мин. Высокую (фармакодинамическую) дозу пиридоксина гидрохлорида (100 мг/кг) вводили за 30 мин до стресса. Показано, что стресс вызывает гипертрофию надпочечников, инволюцию тимуса, уменьшение массы селезенки и образование пептических язв в желудке. Эти изменения сопровождаются клеточным опустошением лимфоидных органов, возрастанием цитоза костного мозга, нейтрофилезом и лимфопенией. Они происходят на фоне оксидативного стресса. Пиридоксин предупреждает изменения весовых коэффициентов надпочечников и тимуса, уменьшает образование язв в желудке, способствует поддержанию нормального уровня клеточных показателей кроветворных органов и крови. Препарат также ограничивает избыточную липопероксидацию. Полученные данные свидетельствуют о том, что высокие дозы пиридоксина способны оказывать антистрессорное и антиоксидантное действие.

Ключевые слова: пиридоксин, стресс, антиоксидантное действие

Ye. M. Vazhnichaya

Pyridoxine's anti-stress effect as manifestation of its pharmacodynamics activity

In the experiments on 24 albino mice an acute stress was simulated by atraumatic hanging of animals during 60 min. High (pharmacodynamic) dose of pyridoxine hydrochloride (100 mg/kg) was administered 30 min before the stress exposure. It is shown that stress causes the hypertrophy of adrenal glands, thymus involution, a decrease in spleen mass and peptic ulcers formation in the stomach. These changes are accompanied by the cells emptying of lymphoid organs, an increase of bone marrow cytolysis, neutrophilosis, and lymphopenia. They take place on the ground of oxidative stress. Pyridoxine prevents the changes in weight coefficients of adrenal glands and thymus, decreases gastric ulcers formation, maintains normal level of cell parameters in the blood and hemopoietic organs. It also limits lipids peroxidation. The data obtained testify that high doses of pyridoxine are able to realize anti-stress and antioxidant effects.

Key words: pyridoxine, stress, antioxidant action

Надійшла: 20.09.2012 р.

Контактна особа: Важничая Олена Митрофанівна, доктор медичних наук, професор, кафедра експериментальної та клінічної фармакології, ВДНЗ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава. Тел.: + 38 (0532) 56-20-59. Електронна адреса: vazhnichaya@ukr.net

В. Д. Лук'янчук¹, І. О. Житіна¹, Д. С. Кравець¹,
І. Й. Сейфулліна², О. Е. Марцинко², О. Г. Песарогло³

Фармакокінетичне дослідження нового церебропротектора ОК-7 у нормі та за умов ішемії головного мозку

¹ДЗ «Луганський державний медичний університет»

²Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

³Одеський державний аграрний університет

Ключові слова: гострий ішемічний інсульт,
германійорганічна сполука ОК-7,
фармакокінетика

Актуальною проблемою сучасної неврології є гострий ішемічний інсульт у зв'язку з його значною поширеністю, високою смертністю та ступенем інвалідизації населення [1]. Щороку 15 млн людей на планеті переносять інсульт, 5 млн із них помирає, а 5 млн залишаються інвалідами, що потребують допомоги своїх близьких [2]. Ключовою причиною такого положення справ є відсутність в арсеналі лікарів високо-ефективних та безпечних протиішемічних засобів, що відповідають сучасним вимогам [3]. З огляду на це, пошук та розробка нових церебропротекторів є однією із пріоритетних проблем сучасної фармакології. Створення сучасних ліків передбачає обов'язкове їхнє фармакокінетичне дослідження на доклінічному етапі, оскільки дані фармакокінетики дозволяють оцінити безпечність застосування та, за необхідності, коригувати режим дозування майбутнього лікарського засобу за умов цереброваскулярної патології [4, 5].

У наших попередніх дослідженнях було встановлено високу протиішемічну активність уперше синтезованої германійорганічної координаційної сполуки ОК-7 на моделі гострого церебрального ішемічного інсульту [6].

Мета дослідження – порівняльний фармакокінетичний аналіз сполуки ОК-7 у нормі та за умов гострої цереброваскулярної недостатності ішемічного генезу.

Матеріали та методи. Досліди виконано в лабораторії кафедри фармакології ДЗ «Луганський державний медичний університет» на 48 статевозрілих білих нелінійних щурах обох статей масою 160–200 г відповідно до методичних рекомендацій ДП «Державний експертний центр МОЗ України» [7].

Експериментальною моделлю тотальної гострої ішемії головного мозку був патологічний процес, що розвивається у тварин при двосторонній одномоментній оклюзії загальних сонних артерій до місця їхньої біфуркації, яку здійснювали під натрій-тіопенталовим наркозом (50 мг/кг). Щурів розподіляли на дві групи: норма (ОК-7) та дослід (ішемія + ОК-7).

Тваринам обох груп вводили 1 % водний розчин церебропротектора – сполуки ОК-7 внутрішньочеревинно в дозі 65 мг/кг через 35 хв після перев'язування судин [8], а також щурам без патології (норма) у такій самій дозі.

Концентрацію потенційного церебропротектора в сироватці крові визначали за екстракційно-фотометричним методом шляхом ідентифікації мікрокількостей германію [9]. Вивчення параметрів фармакокінетики проводили через 2, 8, та 24 год після введення ОК-7.

Показники, що характеризують фармакокінетику ОК-7, обчислювали за допомогою спеціально розробленої нами комп'ютерної програми [10] за двочастковою моделлю зі всмоктуванням відповідно до методичних рекомендацій [11].

Визначали низку параметрів, що характеризують різні етапи фармакокінетики ОК-7 в організмі тварин:

- абсорбція – константа швидкості абсорбції (K_{01}), період напівабсорбції ($t_{1/2,\alpha}$), максимальна концентрація ($C_{\max}$), час досягнення максимальної концентрації ($t_{\max}$);
- розподіл – константа швидкості розподілу (k_{12}), період напіврозподілу (α), об'єм розподілу (V_d);
- елімінація – константа швидкості елімінації (k_{el}), період напівелімінації ($t_{1/2}$), загальний кліренс (CL_T), середній час перебування в організмі (MRT), площа під фармакокінетичною кривою (AUC).

Результати та їх обговорення. Отримані в експерименті дані з визначення ОК-7 у сироватці крові щурів у нормі та за умов церебральної ішемії стали основою для побудови фармакокінетичних кривих, наданих на рисунку, для подальших розрахунків основних фармакокінетичних параметрів.

Порівняльний аналіз отриманих кривих у нормі та в досліді дозволив встановити, що за умов гострого ішемічного інсульту інтенсивність абсорбції досліджуваної сполуки знижується. Про це свідчить зменшення кута нахилу початкової ділянки фармакокінетичної кривої, що характеризує процес всмоктування церебропротектора в системний кровоток.

Відмічається також уповільнення процесів елімінації сполуки, що досліджується, у щурів дослідної серії – кінцева ділянка фармакокінетичної кри-

вої набуває значно більш пологого вигляду порівняно з нормою.

На наступному етапі дослідження було визначено математичну залежність «концентрація – час», що характеризує фармакокінетику ОК-7. Із цією метою було проведено математичний аналіз отриманих експериментальних даних, що в подальшому дало змогу встановити такі залежності:

$$C(t) = 0,0001 \cdot e^{-0,0014t} + 0,00783 \cdot e^{-0,00096t} - \text{у тварин у нормі};$$

$$C(t) = 0,0001 \cdot e^{-0,00119t} + 0,00671 \cdot e^{-0,00055t} - \text{у тварин з ішемією},$$

де: $C(t)$ – функція залежності концентрації ОК-7 у сироватці крові від часу дослідження;

e – основа натурального логарифма;

t – час дослідження.

Отримані залежності концентрацій ОК-7 від експозиції як у нормі, так і за церебральної ішемії однозначно вказують на доцільність розрахунків за двочастковою моделлю, оскільки представлені сумою двох експотенційних функцій.

Початковим етапом, який характеризує процес надходження сполуки до системного кровообігу, є абсорбція, основні фармакокінетичні параметри якої наведено в таблиці 1.

Насамперед особливої уваги заслуговує аналіз такого ключового параметра, що характеризує процес всмоктування, як константа швидкості абсорбції. Так, k_{01} у нормі складає лише $0,47 \text{ год}^{-1}$, що свідчить про відносно повільне всмоктування сполуки, що, на нашу думку, імовірно пов'язано з об'ємною структурою молекул ОК-7. Ці факти безпосередньо зумовлюють те, що період напівабсорбції ОК-7 у нормі складає майже 1,5 год.

У групі тварин з модельованою ішемією, яким з лікувальною метою вводили ОК-7, реєструється уповільнення швидкості всмоктування ОК-7, на що вказує деяке зниження константи швидкості абсорбції

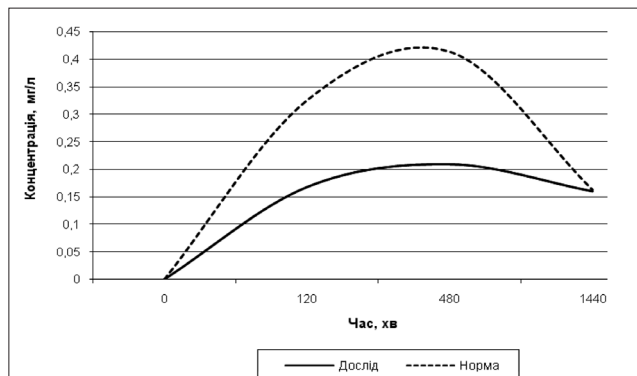


Рисунок. Фармакокінетика ОК-7 (при внутрішньочеревному введенні в дозі 65 мг/кг) у сироватці крові щурів у нормі та за умов гострого ішемічного інсульту.

**Фармакокінетичні параметри, що характеризують абсорбцію ОК-7
у нормі та за умов гострого ішемічного інсульту (n = 8)**

Фармакокінетичний параметр		Статистичний показник	Група тварин	
Назва	Позначення, розмірність		Норма	Дослід
Константа швидкості абсорбції	k_{01} , год ⁻¹	M ± m P ₁	0,471 0,031	0,401 0,031 > 0,05
Період напівабсорбції	$t_{1/2, \alpha}$, год	M ± m P ₁	1,471 0,110	1,720 0,111 > 0,05
Максимальна концентрація	C_{max} , мг/мл	M ± m P ₁	424,950 29,141	252,030 19,211 < 0,01
Час досягнення максимальної концентрації	t_{max} , год	M ± m P ₁	5,051 0,430	6,750 0,531 < 0,05

Примітка. Тут і в табл. 2, 3: P₁ – вірогідність порівняно з нормою.

до 0,40 год⁻¹ та відповідно збільшення періоду напівабсорбції на 17 % порівняно з групою тварин без патології. Такі фармакокінетичні зміни абсорбційних процесів ОК-7, скоріш за все, зумовлені порушенням кровообігу та зниженням проникності капілярів черевини при гострій цереброваскулярній ішемії.

За умов патології відбувається зниження в 1,7 разу максимальної концентрації сполуки в крові тварин порівняно з нормою, а також збільшення часу досягнення максимальної концентрації на 1,7 год відносно норми.

Таким чином, є підстави дійти висновку, що за умов гострого ішемічного інсульту знижується абсорбція ОК-7 у системний кровообіг, що зумовлює зменшення його максимальної концентрації та збільшення часу її досягнення. Це, на нашу думку,

пов'язано з порушенням центральних регуляторних процесів щодо проникності біомембран та регіонарного кровообігу за умов гострої церебральної недостатності ішемічного генезу.

У подальшому досліджували параметри розподілу ОК-7 у периферичній камері (органи та тканини) кінетичної моделі розподілення. Отримані результати наведено в таблиці 2, з якої видно, що ОК-7 достатньо повільно розподіляється по периферичних органах та тканинах як у нормі, так і в досліді, про що свідчать порівняно низькі значення константи швидкості розподілу, які складають 0,084 та 0,066 год⁻¹ відповідно. Звертає на себе увагу зниження величини k_{12} у досліді порівняно з нормою. Це, на нашу думку, може бути пов'язано із пригніченням процесів абсорбції ОК-7 за умов гострого ішемічного

Таблиця 2

**Фармакокінетичні параметри, що характеризують процеси розподілу ОК-7
у нормі та за умов гострого ішемічного інсульту (n = 8)**

Фармакокінетичний параметр		Статистичний показник	Група тварин	
Назва	Позначення, розмірність		Норма	Дослід
Константа швидкості розподілу	k_{12} , год ⁻¹	M ± m P ₁	0,084 0,005	0,071 0,003 < 0,05
Період напіврозподілу	α , год	M ± m P ₁	8,231 0,610	9,660 0,721 > 0,05
Об'єм розподілу	V_d , мл	M ± m P ₁	175,511 11,260	317,091 21,360 < 0,001

**Фармакокінетичні параметри, що характеризують елімінацію ОК-7
у нормі та за умов гострого ішемічного інсульту (n = 8)**

Фармакокінетичний параметр		Статистичний показник	Група тварин	
Назва	Позначення, розмірність		Норма	Дослід
Константа швидкості елімінації	k_{el} , год ⁻¹	M ± m P ₁	0,058 0,004	0,033 0,002 < 0,001
Період напівелімінації	$t_{1/2}$, год	M ± m P ₁	11,951 0,950	21,000 1,961 < 0,01
Загальний кліренс	Cl _T , мл/год	M ± m P ₁	0,168 0,011	0,175 0,011 > 0,05
Середній час перебування в організмі	MRT, год	M ± m P ₁	17,100 1,211	29,931 1,870 < 0,001
Площа під фармакокінетичною кривою	AUC ₀ мг · мл ⁻¹ · хв ⁻¹	M ± m P ₁	9891,620 721,311	9504,791 761,320 > 0,05

ного інсульту. Діаметрально протилежні зміни відбуваються з константою швидкості розподілу, що зворотно пропорційна до періоду напіврозподілу, який збільшується на 1,43 год у дослідній групі тварин порівняно з аналогічним показником у групі щурів без церебральної ішемії.

При порівняльному аналізі процесів розподілу ОК-7 у периферичних органах та тканинах, звертає на себе увагу величина об'єму розподілу. Так, цей показник у тварин без патології складає 175,51 мл, що значно перевищує реальний об'єм щура та свідчить про високий ступінь депонування координаційної германійорганічної сполуки, що вивчається, у організмі тварин. При цьому слід зазначити, що величина V_d у досліді збільшується в 1,8 разу порівняно з тваринами без патології, що вказує на збільшення ступеня депонування ОК-7 в органах і тканинах щурів з гострим ішемічним інсультом.

Таким чином, особливістю фармакокінетики ОК-7 на етапі розподілу в периферичну камеру є зниження надходження сполуки в органи та тканини за умов гострої цереброваскулярної ішемії з одночасним збільшенням об'єму розподілу, що, на нашу думку, буде сприяти збільшенню часу перебування препарату в організмі та пролонгуванню його терапевтичного ефекту.

Наступним етапом роботи було дослідження процесів елімінації ОК-7 за умов експерименту, що моделюється. Отримані дані представлено в таблиці 3.

Як показав аналіз швидкості, що характеризує процес елімінації, даний показник у нормі складає 0,058 год⁻¹, а в досліді величина цього параметра менша в 1,76 разу, що вказує на порівняно низьку швидкість «зникнення» ОК-7 з центрального кровообігу шляхом екскреції та біотрансформації в щурів з ішемічним інсультом. Ці дані зумовлюють і величини періоду напівелімінації в нормі та досліді, що знаходяться на досить високому рівні та складають 11,95 і 21,00 відповідно.

Заслужують на увагу дані щодо загального кліренсу ОК-7, який характеризує швидкість «очищення» одиниці об'єму розподілу за одиницю часу. Установлено, що величина Cl_T як за умов норми, так і досліді знаходиться майже на однаковому рівні та складає в середньому 0,17 мл/год.

Аналізуючи середній час перебування церебропротектора в організмі, потрібно відмітити, що ОК-7 у нормі циркулює близько 17 год, а в організмі щурів з гострим ішемічним інсультом величина MRT сягає майже 30 год. При цьому площі під фармакокінетичною кривою в обох групах дослідження практично однакові.

Висновок

Таким чином, проведене фармакокінетичне дослідження сполуки ОК-7 та аналіз отриманих результатів дозволяє констатувати, що за умов інсульту має місце суттєва модифікація фармакокінетики потенційного протиішемичного засобу – зменшу-

ється швидкість абсорбції, збільшується депонування та знижується швидкість елімінації, що, у свою чергу, призводить до збільшення часу перебування досліджуваної германійорганічної сполуки в організмі та в підсумку – до пролонгування її фармакотерапевтичного ефекту.

1. Заутнер Н. А. Применения цитиколина и традиционной сосудистой терапии при ишемическом инсульте: материалы XII Российского конгресса молодых ученых с международным участием [«Науки о человеке»], (Томск, 26-27 мая, 2011 г.) / под ред. Л. М. Огородовой, Л. В. Капилевича. – Томск : СибГМУ, 2011. – 104 с.
2. Губарев Ю. Д. Ишемический инсульт и вопросы патогенеза атеросклероза / Ю. Д. Губарев, О. А. Ефремова, Н. И. Оболонкова // Серия Медицина. Фармация. – 2011. – № 10 (105). Выпуск 14. – С. 5–8.
3. Майорова Н. Г. Клинический опыт применения нейрокса у пациентов с цереброваскулярным заболеванием / Н. Г. Майорова, В. А. Павлов // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2011. – № 1. – С. 71–74.
4. Фармакокінетична характеристика МІГУ-1 в нормі і в умовах церебральної ішемії / В. Д. Лук'янчук, В. Й. Кресюн, Д. С. Кравец [и др.] // Журнал АМН України. – 2008. – № 3. – С. 582–592.
5. Крилова О. В. Порівняльна фармакокінетика нового потенційного церебропротектора – ВІПІН-1 на етапі абсорбції в нормі і при церебральній ішемії / О. В. Крилова // Фармацевтичний журнал. – 2010. – № 2. – С. 33–38.
6. Скринінг і порівняльна оцінка протиішемичної ефективності серед координаційних сполук германію при гострій цереброваскулярній недостатності / В. Д. Лук'янчук, І. О. Житіна, І. Й. Сейфулліна [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2010. – № 1–2 (14–15). – С. 61–64.
7. Доклинические исследования лекарственных средств: методические рекомендации / под ред. чл.-кор. АМН Украины А. В. Стефанова. – К.: ДФЦ МОЗ України, 2002. – 567 с.
8. Еспериментально-математичний аналіз режиму застосування потенційного нейропротектора ОК-7 при церебральному ішемічному інсульті / В. Д. Лук'янчук, І. О. Житіна, Д. С. Кравец [та ін.] // Одеський медичний журнал. – 2011. – № 6 (128). – С. 19–21.
9. Кресюн В. Й. Екстракційно-фотометричне визначення мікрокількостей германію у тканинах експериментальних тварин / В. Й. Кресюн, А. Г. Відавська, К. Ф. Шемонаєва // Одеський медичний журнал – 2000. – № 6 (62). – С. 7–11.
10. Кравец Д. С. Оптимизация методических приемов расчета параметров хемобиокинетики с помощью прикладных программ для ЭВМ / Д. С. Кравец // Украинский медицинский альманах. – 2000. – Т. 1., № 2. – С. 90–91.
11. Методические рекомендации по компьютерным расчетам фармакокінетических параметров лекарственных средств (линейные частотные модели) // Н. Я. Головенко, В. Д. Лук'янчук, О. В. Жук, В. Г. Зиньковский, Д. С. Кравец, М. С. Жук. – Киев: Государственный научно-экспертный центр лекарственных средств, 1999. – 70 с.

В. Д. Лук'янчук, І. А. Житіна, І. Й. Сейфулліна, Е. Э. Марцинко, А. Г. Песарогло **Фармакокінетичне дослідження нового церебропротектора ОК-7** **в нормі і в умовах ішемії головного мозгу**

В опытах на крысах с острой ишемией головного мозга показана существенная модификация фармакинетики координационного соединения германия с калием и лимонной кислотой (ОК-7) – уменьшается скорость абсорбции, увеличивается депонирование и снижается скорость элиминации, что увеличивает время нахождения исследуемого германийорганического соединения в организме и, в итоге, способствует пролонгированию его фармакотерапевтического эффекта.

Ключевые слова: острый ишемический инсульт, германийорганическое соединение ОК-7, фармакокінетика

V. D. Lukyanchuk, I. A. Zhytina, I. I. Seifullina, E. E. Martsinko, A. G. Pesaroglo **Pharmacokinetics study of new cerebroprotector compound OK-7** **in norma and under acute ischemic stroke**

In the experiments on rats with acute ischemic stroke was shown a significant modification of the pharmacokinetics of coordinating compound of germanium with potassium and citric acid (OK-7) by reducing through reduction the rate of absorption, increase deposition and decrease elimination rate which lead to increase the time spent compound of germanium in the body and ultimately to prolongation of its pharmacological effects.

Key words: an acute ischemic stroke, coordinating compound of germanium OK-7, pharmacokinetics

Надійшла: 31.08.2012 р.

Контактна особа: Житіна Ірина Олександрівна, аспірант, кафедра фармакології, ДЗ «Луганський державний медичний університет», кв. 50-річчя Оборони Луганська 1, м. Луганськ, 91045. Тел.: +38 (050) 022-88-45. Електронна адреса: Zhytina-Ira@rambler.ru

В. Я. Пішель

Противабстинентна активність та механізм дії антинаркотичного засобу Флуридон

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

Ключові слова: опіоїдна залежність, експериментальна терапія, антиандрогенні засоби, Флуридон, механізм дії

Загальновизнаним є положення, що основним принципом раціональної фармакотерапії опіоїдної наркоманії має бути її патогенетична спрямованість. Проте існуючі схеми застосування синтетичних лігандів опіатних рецепторів не відповідають вимогам сучасної клінічної практики. Так, замісна терапія опіоїдними агоністами (метадон, бупренорфін) не виправдала сподівань щодо зменшення споживання наркотиків, а антагоністи (налоксон, налтрексон) виявилися недостатньо ефективними для запобігання рецидивам захворювання. Зважаючи на складність механізмів розвитку залежності, певного успіху можна досягти шляхом застосування лікарських засобів, що діють на рівні класичних нейромедіаторних систем – ГАМК-, дофамін-, серотонін- та адренергічної [1]. Водночас результати проведених нами досліджень свідчать про вагомий роль андрогенних гормонів у процесах формування опіоїдної залежності та підтверджують доцільність вивчення антиандрогенів як перспективних засобів фармакотерапії наркоманій [2, 3]. Зокрема, на моделі фізичної залежності від морфіну доведено ефективність антиандрогенних препаратів (флутамід, бікалутамід, нілутамід, ципротерон) та нейрорептика останнього покоління респеридону, курсове введення яких позитивно впливало на перебіг абстинентного синдрому у щурів Вістар [4, 5].

Мета дослідження – вивчення противабстинентної дії та можливого механізму реалізації антинаркотичної активності прототипу лікарського засобу – фіксованої комбінації Флуридон.

Матеріали та методи. Досліди виконано на статевозрілих самцях мишей генетичної лінії Balb/c із розплідника Інституту геронтології НАМН України. У період проведення експериментів тварин утримували у віварії за належних кліматичних умов, з дотриманням стандартного раціону харчування.

Феномен терапевтичної резистентності до знеболювальної дії морфіну вивчали за динамікою змін порогів больової чутливості. Алгічний синдром викликали шляхом інтраперитонеального (і/п) введення розчину оцтової кислоти 0,6 % (по 0,1 мл на 10 г маси тіла). Оцінку ефекту проводили за змінами чисельності специфічних рухових реакцій тварин із вигнанням спини та витягуванням задніх кінцівок при візуальному спостереженні впродовж 20 хв. Тварини були розподілені на 6 груп по 10 особин у кожній. У групі активного контролю за 15 хв до ін'єкції кислоти мишам вводили розчин морфіну гідрохлориду (МГХ), 9 мг/кг. Тварини дослідних груп щоденно протягом 10 діб, за 30 хв до ін'єкції морфіну, отримували: олійний розчин ДГЕА (по 0,1 мг на тварину, підшкірно), респеридону (і/п по 1 мг/кг), флутаміду (і/п по 25 мг/кг) або Флуридон. Мишам групи інтактного контролю вводили і/п фізіологічний розчин натрію хлориду. При аналізі даних знеболювальну ефективність морфіну оцінювали за зменшенням чисельності «корчів» відносно показника групи інтактного контролю. Величину Δ -коефіцієнта визначали за формулою скринінгової оцінки анальгетичної дії біологічно активних речовин [6].

Модель стадії фізичної залежності в мишей відтворювали методом форсованої наркотизації [6]. Розчин МГХ вводили підшкірно 2 рази на день протягом 6 діб поспіль за схемою інтенсивного підвищення доз – від 20 мг/кг до 120 мг/кг маси тіла. В останній день морфінізації

тварини отримували лише вранішню ін'єкцію наркотику, а через 24 год після неї – налоксон і/п у дозі 1 мг/кг. Реєстрували динаміку змін маси мишей та чисельність стрибків у скляному циліндрі при спостереженні протягом 10 хв.

Визначення концентрації тестостерону в сироватці крові тварин проводили методом твердофазового імуноферментного аналізу [7] із використанням набору реактивів «Стероїд ІФА-Тестостерон» виробництва ЗАТ «Алкор-Біо», Росія. Обчислення результатів здійснювали на планшетному фотометрі Multiscan-EX («Labsystems», Фінляндія) при довжині хвилі 450 нм.

Під час проведення дослідів застосували: МГХ («Macfarlan Smith Ltd»; Великобританія); Налоксон-М – розчин для ін'єкцій («Здоров'я народу»); субстанції дегідроепіандростерону (ДГЕА) виробництва «Sigma», США, флутаміду («Ферміон», Фінляндія), рisperидону («Ауробіндо Фарма ЛтД», Індія); фіксовану комбінацію Флуридон-ЛХ – капсули виробництва ЗАТ «Технолог», підприємства АТ «Лекхім», Україна.

Результати та обговорення. Терапевтична резистентність до специфічної дії опіоїдних аналгетиків передуює розвитку наркотичної залежності, тому цей феномен визнають за адекватну модель початкового періоду опіоманії.

Динаміку змін активності морфіну вивчали на моделі, яку найчастіше використовують при дослідженні периферичних механізмів дії аналгетиків. Щоденне введення оптової кислоти мишам групи інтактного контролю призводило до виникнення «корчів», чисельність яких упродовж періоду проведення експерименту перебувала в межах від $45,5 \pm 8,3$ до $53,7 \pm 9,6$. У тварин експериментальних груп при першому тестуванні спостерігали суттєве зменшення частоти реєстрації проявів вісцерального болю після ін'єкції морфіну. При подальшому спостереженні із щоденним проведенням повторних тестів у тварин групи активного контролю було виявлено поступове зменшення активності опіоїдного аналгети-

ка, що закономірно відображало процес формування толерантності до дії препарату. Так, на шосту добу значення Δ -коефіцієнта зменшилося в 1,9 разу, на восьму – у 2,4 разу, а при двох останніх тестуваннях – у 3,4 – 3,8 разу (рис. 1).

Застосування андрогенного гормона ДГЕА значною мірою прискорило розвиток толерантності. Уже на четверту добу активність МГХ зменшилася в 2 рази і продовжувала швидко знижуватися в наступні дні спостереження. Досягнувши найнижчого рівня на восьму добу, значення Δ -коефіцієнтів практично не змінювалися в останні 5 днів дослідів, залишаючись у 5,2–6,6 разу менше вихідного фону та в 2,1–2,9 разу нижче, ніж відповідні показники тварин групи активного контролю (рис. 1).

Флутамід кардинально змінив перебіг ноцицептивних реакцій. На відміну від ДГЕА, після введення антагоніста тестостерону навіть на завершальному етапі дослідів значення Δ -коефіцієнтів зменшилися лише на 53 % відносно вихідного показника. При цьому порівняно з контролем кількісний показник активності опіоїдного аналгетика збільшився в 2,4 разу.

Динаміка змін знеболювальної дії морфіну в мишей, яким вводили Флуридон, характеризувалася незначними коливаннями відносно вихідного рівня. Натомість порівняно з відповідними показниками групи активного контролю при заключному тестуванні спостерігали суттєве підвищення значень Δ -коефіцієнтів – у 2,8 разу (рис. 2). Відсутність виражених ознак розвитку толерантності до ефектів МГХ була

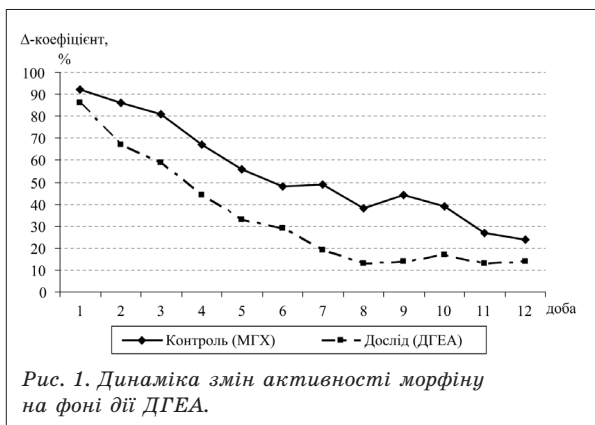


Рис. 1. Динаміка змін активності морфіну на фоні дії ДГЕА.

зафіксована також і при тривалому застосуванні рисперидону.

Зміни показників маси наркозалежних тварин належать до об'єктивних критеріїв оцінки ступеня тяжкості соматичних проявів абстиненції [8]. За результатами послідовних зважувань мишей було встановлено, що форсована морфінізація призводить до опозитних змін маси тварин у групах інтактного та активного МГХ-контролю.

Якщо інтактні тварини демонстрували помірний приріст ваги, то в морфінізованих мишей групи активного контролю спостерігали зменшення маси тіла на 14 % відносно величини вихідного показника (рис. 3).

Результатом андрогенізації морфінзалежних тварин шляхом уведення ДГЕА став розвиток тенденції до збільшення маси тіла. Натомість блокада андрогенних рецепторів змінила спрямованість тенденції на протилежну – у мишей, які отримували флутамід, ваговий показник зменшився на 9 %.

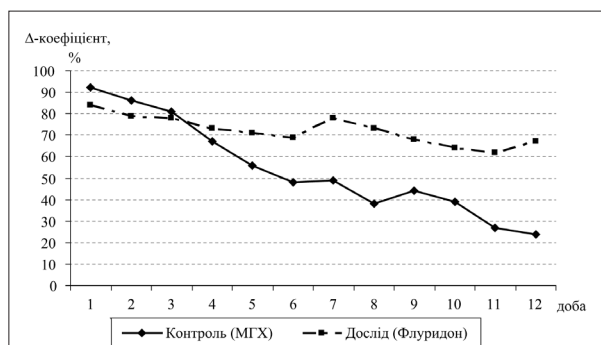


Рис. 2. Динаміка змін активності морфіну на фоні дії Флуридону.

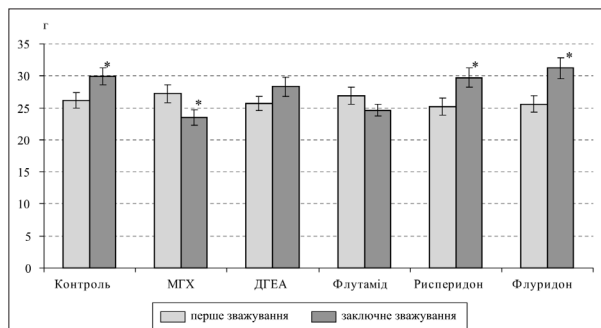


Рис. 3. Динаміка змін маси мишей на фоні введення морфіну з ДГЕА та Флуридоном.

Примітка. Тут і на рис. 4–5: * відмінності достовірні при $P(t) < 0,05$; кількість спостережень у кожній групі $n = 10$.

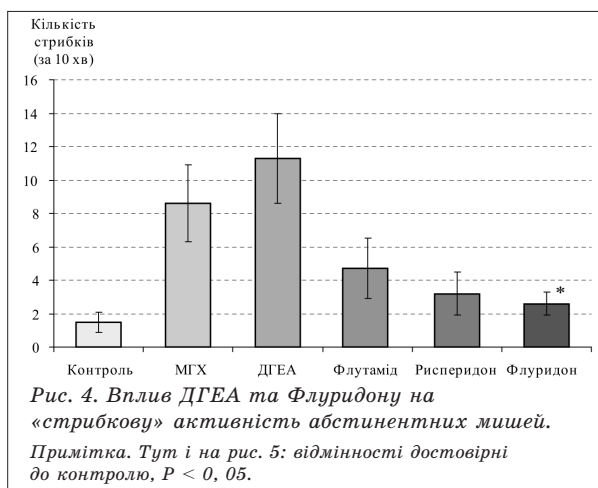
Рисперидон спричинив збільшення маси тварин на 22 %, аналогічною виявилася й динаміка змін на фоні застосування Флуридону – середній приріст маси тіла становив 18 % (рис. 3).

Кардинальною ознакою абстинентного синдрому в мишей визнається наявність специфічної рухової активності у вигляді вертикальних стрибків. У наших дослідах під час проведення налоксонового тесту морфінзалежні тварини демонстрували значне підвищення рівня «стрибкової» активності – збільшення чисельності підстрибувань у циліндрі в 5,7 разу відносно показника групи інтактного контролю (рис. 4).

Гормональне навантаження потенціювало дію морфіну, що призвело до збільшення частоти стрибків на 31 % порівняно з активним контролем, у 7,5 разу – відносно групи інтактних тварин. Блокада андрогенних рецепторів флутамідом супроводжувалася тенденцією до зменшення спонтанної рухової активності мишей на 45 %. Уведення рисперидону

спричинило більш суттєве зменшення чисельності стрибків абстинентних тварин – у 2,6 разу відносно показника МГХ-контролю. Найвираженіший протиабстинентний ефект продемонстрував Флуридон, який забезпечив зниження рівня «стрибкової» активності абстинентних тварин у 3,2 разу (рис. 4).

Узагальнення отриманих даних дозволяє зробити декілька висновків та припущень. Зменшення маси тіла під час морфінізації свідчить про виражену дегідратацію організму та пригнічення апетитивної поведінки тварин при морфіновій інтоксикації. Приріст ваги мишей при введенні ДГЕА слід розглядати як прояв характерної для всіх андрогенів анаболічної дії [9]. Натомість блокада андрогенних рецепторів флутамідом запобігає реалізації анаболічних ефектів ендogenous тестостерону та його активних метаболітів. Рисперидон уповільнює обмін речовин та сприяє збільшенню маси тіла, що є



відомою побічною дією нейролептиків. Аналіз змін «стрибкової» активності тварин виявив синергізм ефектів морфіну та ДГЕА щодо підвищення ступеня тяжкості абстиненції. З іншого боку, рисперидон потенціював протиабстинентну ефективність флутаміду при їхньому сумісному застосуванні в складі комбінованого засобу Флуридон-ЛХ.

За даними імуноферментного аналізу, форсована морфінізація тварин супроводжувалася зниженням концентрації тестостерону в сироватці крові – у мишей групи МГХ-контролю вона була в 2 рази нижче, ніж у інтактних.

На висоті проявів гострого абстинентного синдрому рівень тестостеронемії збільшився в 1,4 разу відносно показника групи активного контролю. Зміни концентрації тестостерону в крові тварин, яким вводили рисперидон, за своєю спрямованістю виявилися опозитними до результатів, отриманих у двох паралельних дослідних групах (рис. 5). Якщо на фоні введення нейролептика вміст гормона зменшився на 39 % ($P < 0,05$), то Флуридон спричинив підвищення рівня тестостеронемії на 27 % відносно активного МГХ-контролю, а флутамід – на 18 % (відмінності на рівні тенденцій).

Наявні відомості щодо механізмів реалізації активності флутаміду та рисперидону свідчать, що їх антинаркотичні ефекти, виявлені в проведеному дослі-

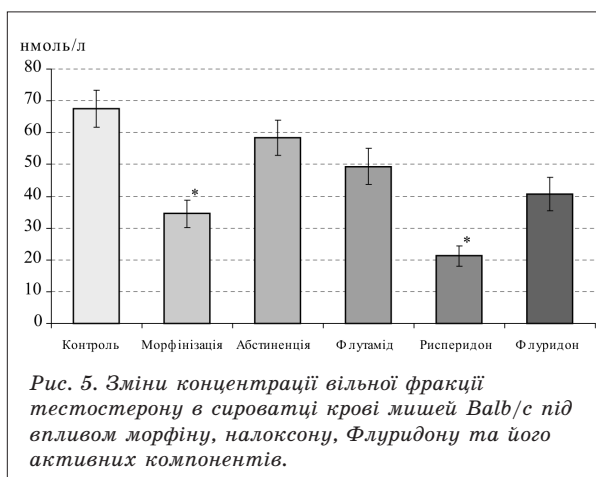
дженні, ґрунтуються на профілях дії цих компонентів Флуридону. Флутамід блокує рецептори тестостерону, локалізовані як на периферії (у гонадах, надниркових залозах), так і в андрогенчутливих тканинах структур головного мозку. Конкуруючи з андрогенами за місця зв'язування, препарат не змінює продукцію статевих гормонів та відповідні регуляторні механізми. Антиандрогенні властивості рисперидону, вірогідно, зумовлені впливом на функціонування гіпоталамо-гіпофізарної системи регуляції синтезу та вивільнення чолові-

чих статевих гормонів. Цілком імовірно, що виявлені в проведених нами експериментах антинаркотичні ефекти лікарського засобу, як і його специфічна нейролептична активність, реалізуються за посередництва дофамінергічної системи – адже рисперидону притаманний антагонізм відносно D_2 -рецепторів ЦНС.

За результатами аналізу отриманих даних можна припустити, що механізм антинаркотичної дії Флуридону полягає в активному впливі компонентів цього комбінованого засобу на різні ланки патогенезу морфінової залежності.

Висновки

1. Андрогенний гормон ДГЕА посилює проадиктивний потенціал морфіну, що сприяє підвищенню ступеня тяжкості абстинентного синдрому в наркозалежних мишей Balb/c.



2. Рисперидон і флутамід при сумісному введенні в складі комбінованого засобу Флуридон проявляють синергічну протиабстинентну дію.
3. Вірогідний механізм реалізації антинаркотичної активності Флури-

дону зумовлений впливом його компонентів на патогенетичні ланки опіоїдної наркоманії, з переважанням дії флутаміду як конкурентного антагоніста тестостерону й блоатора андрогенних рецепторів.

1. Судаков С. К. Центральная и периферическая мю-опиоидная система в механизмах эмоционального стресса / С. К. Судаков, В. Г. Башкатова // Вестник РАМН. – 2011. – № 3. – С. 3–6.
2. Пишель В. Я. Андрогенная детерминация развития опиоидной зависимости у крыс / В. Я. Пишель // Журн. АМН України. – 2007. – Т. 13, № 2–3. – С. 354–362.
3. Пишель В. Я. Порівняльний аналіз протиабстинентної дії антиандрогенних засобів на експериментальній моделі опіоїдної залежності / В. Я. Пишель // Журн. АМН України. – 2008. – Т. 14, № 3. – С. 558–565.
4. Пишель В. Я. Протиабстинентна активність антиандрогенів / В. Я. Пишель // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2008. – № 4 (5) – С. 29–34.
5. Пишель В. Я. Лікувальна ефективність рисперидону при гострому абстинентному синдромі у морфінзалежних щурів / В. Я. Пишель, А. П. Ворожбит, О. М. Струменська // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – № 1. – С. 30–34.
6. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації / за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – С. 307–321.
7. The effects of long-term administration of buprenorphine on blood testosterone level and morphometrical and histopathological changes of mouse testis / H. Babaei, G. Sepehri, R. Kheirandish [et al.] // Comparative Clinical Pathology. – 2012. – V. 21, Issue 6. – P. 1527–1532.
8. Olmstead M. C. Animal models of drug addiction / M. C. Olmstead (Ed.) / – Springer: Humana Press, 2011. – V. 53. – P. 431–461.
9. Kicman A. T. Biochemical and physiological aspects of endogenous androgens / A. T. Kicman // Hand Exp. Pharmacol. – 2010. – V. 195, № 1. – P. 25 – 64.

В. Я. Пишель

Противоабстинентная активность и механизм действия антинаркотического средства Флуридон

Проведено експериментальне дослідження активності фіксованої комбінації флутаміда і рисперидону на моделі фізичної залежності від морфіну у мишей Balb/c. Показано, що дегідротестостерон посилює проаддиктивний потенціал морфіну, тоді як антиандрогенні засоби здатні угнати підкріплюючі ефекти опіоїдів. Доведено, що противоабстинентна активність комбінованого засобу Флуридон відображає властивості його компонентів, оказавших синергічне впливання на проявлення синдрому відміни у морфінзалежних тварин. Виявлена зв'язок між функціональним станом опіоїднергічної системи і регуляцією секреції чоловічих статевих гормонів визначає сутність механізму реалізації антинаркотичної активності Флуридону, ведуча роль в якому належить флутаміду як конкурентному антагоністу тестостерону.

Ключевые слова: опиоидная зависимость, экспериментальная терапия, антиандрогенные средства, Флуридон, механизм действия

V. Y. Pishel

Antiabstinent activity and mechanism of action of Fluridon, antinarcotic drug

Experimental research of flutamide and risperidone fixed combination activity was held on a model of physical dependence on morphine in Balb/c mice. It was shown that dehydrotestosterone increases pro-addictive potential of morphine, while antiandrogen means can oppress reinforcing effects of opioids. It was proven that antiabstinent activity of Fluridon combined medicine shows properties of its components that had synergic impact on symptoms of withdrawal syndrome in morphine dependent animals. Discovered connection between functional state of the opiodergic system and the regulation of male sex hormones secretion determines the essence of mechanism of Fluridon antinarcotic activity implementation, leading role in which belongs to flutamide as a competitive antagonist of testosterone.

Key words: opioid dependence, experimental therapy, antiandrogen means, Fluridon, mechanism of action

Надійшла: 18.11.2012 р.

Контактна особа: Пишель Володимир Ярославович, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», б. 14, вул. Єжена Потье, м. Київ, 03680. Тел. / факс: +38 (044) 456-92-27.
Електронна адреса: vlad.pishel@gmail.com

Л. О. Булига, Я. О. Бутко, Л. Б. Іванцик

Порівняння протизапальної активності лосьйону, крему та мазі «Елоком» за умов субхронічного запалення шкіри в щурів

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: дерматит, глюкокортикостероїди, запалення, крем, мазь, лосьйон

Запальні хвороби шкіри складають досить велику частку в загальній структурі захворювань. Найрозповсюдженішими є хронічні захворювання шкіри – екзема, алергічні дерматити, atopічний дерматит, себорея та псоріаз [2, 11, 12].

Серед усього комплексу засобів фармакокорекції дерматитів важливу роль відводять місцевому лікуванню з використанням топічних глюкокортикостероїдів (ТГКС), препаратів першого ряду в терапії хронічних запальних захворювань шкіри, оскільки вони мають потужну протизапальну, протисвербіжну, імуносупресивну дію [6]. Однак використання ТГКС обмежує широкий спектр побічної дії. Ефективність та безпечність терапії залежить від раціонального вибору препарату з урахуванням типу та клінічної форми захворювання, віку пацієнта, діючої речовини та лікарської форми [6, 7].

За результатами аналізу даних літератури було встановлено, що препарат «Елоком» (крем, мазь, лосьйон) є одним із найефективніших та безпечних ТГКС. Основним діючим компонентом цього препарату є нефторований глюкокортикостероїд (ГК) – мометазону фураат, що належить до III класу «сильних стероїдів» (за Європейською класифікацією Miller & Munro) [9]. «Елоком» має виражену протизапальну, протисвербіжну, антиексудативну та антипроліферативну дію. Мометазону фураат – потужний інгібітор синтезу трьох прозапальних цитокінів, що беруть

участь у виникненні запального процесу та його підтримці. Це свідчить про доцільність його застосування при таких дерматологічних патологіях, як atopічний дерматит, псоріаз, екзема. Елоком має низьку системну адсорбцію (0,4–0,7 %). Безпечність препарату «Елоком» порівняна з безпечністю мазі 1 % гідрокортизону ацетату, яка сьогодні є «золотим стандартом» безпеки серед топічних глюкокортикостероїдів. Різноманітність топічних форм «Елоком» дозволяє його застосовувати при різних клінічних формах дерматитів [9, 10].

Мета дослідження – експериментальне порівняння протизапальної активності різних топічних форм препарату «Елоком» із метою вивчення залежності «тип лікарської форми – сила ефекту».

Матеріали та методи. Порівняльний аналіз протизапальної активності мазі, крему та лосьйону «Елоком» здійснювали на моделі неалергічного контактного дерматиту в щурів. Усі дослідження проводили відповідно до чинних вимог та рекомендацій щодо норм біоетики. Патологію відтворювали на білих нелінійних щурах – самках масою 180–230 г шляхом щоденного нанесення на депільовану ділянку шкіри (площею $3 \times 3 \text{ см}^2$) 3 крапель живичного скипидару протягом 10 діб [1, 3]. Лікування розпочинали на 11 добу експерименту на піку розвитку субхронічного дерматиту та здійснювали протягом наступних 5 діб. В експерименті було використано 30 тварин, які були розподілені на 5 груп (по 6 тварин): 1 – інтактні тварини; 2 – контрольна патологія; 3, 4 та 5 групи – тварини, яким після 10 діб моделювання патологічного процесу

протягом 5 діб на ушкоджену ділянку шкіри наносили відповідно лосьйон, мазь та крем «Елоком». Інтенсивність розвитку дерматиту оцінювали візуально за виразністю запальної реакції шкіри в балах (0 – відсутність видимої реакції, 1 – слабка еритема, 2 – чітка еритема, 3 – чітка еритема з ущільненням, 4 – еритема з явищами геморагії, вираженою інфільтрацією та серозно-геморагічними кірками з виразками) та за динамікою товщини шкірної згортки (ТШЗ).

Протизапальну активність препарату визначали на 15-й день експерименту за формулою:

$$ПА = 100\% - (I_{\text{досл}} \cdot 100\%) / I_{\text{КП}},$$

де:

ПА – протизапальна активність;

$I_{\text{досл}}$ – інтенсивність ураження шкіри в дослідній групі;

$I_{\text{КП}}$ – інтенсивність ураження шкіри в групі контрольної патології.

Як додаткові показники інтенсивності запального процесу визначали: загальну кількість лейкоцитів, швидкість зсідання еритроцитів (ШЗЕ) [4]. Клінічний аналіз крові щурів здійснювали тричі.

Крім того, для оцінки динаміки та виразності запального процесу після 5-ї доби лікування в сироватці крові тварин за методиками фірми-виробника стандартних наборів реактивів «Філісдіагностика» визначали біохімічні показники – уміст загального білка (ЗБ) та активність аспартатамінотрансферази (АсАТ), також визна-

чали ТБК реактивні продукти, що характеризують інтенсивність перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та опосередковано – ступінь руйнування цитоплазматичних мембран клітин у процесі запалення [4]. Отримані біохімічні показники груп тварин, яких лікували, порівнювали з вихідними даними (інтактні тварини) та показниками контрольної групи тварин.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили методами варіаційної статистики з використанням показників: середнього значення, стандартного відхилення, похибки середнього, достовірності відмінностей між групами порівняння за критерієм Стюдента (t), Ньюмана-Кейсла (методом ANOVA), довірчого інтервалу (p); відмінності вважали достовірними при $P < 0,05$ [8].

Результати та їх обговорення. Про розвиток патологічного процесу в дермі на 10-у добу експерименту свідчать дані, наведені в таблиці.

Клінічно дерматит проявлявся гіперемією з геморагіями, вираженою інфільтрацією та набряком тканин. Товщина шкірної згортки на піку патології в середньому в усіх групах збільшилася в 3 рази. У деяких групах відмічено появу виразок із кірками. Інтенсивність ураження в усіх групах на 10-у добу нанесення скипидару склала 3,00–3,50 бала.

Після лікування тварин препаратами «Елоком» відмічалось покращання загального стану шкіри. У ході лікування спостерігали відторгнення

Таблиця

Вплив топічних лікарських форм препарату «Елоком» на інтенсивність проявів дерматиту в щурів, викликаного скипидаром (n = 6)

Показник	Термін дослідження, доба	Група тварин			
		Контрольна патологія	Лосьйон	Мазь	Крем
Інтенсивність запальної реакції, бали	10	3,50 ± 0,13	3,25 ± 0,17	3,17 ± 0,25	3,00 ± 0,13
	15	3,00 ± 0,13	1,42 ± 0,30*	1,25 ± 0,28*	0,83 ± 0,178*
Товщина шкірної згортки, мм	1	1,85 ± 0,11	1,55 ± 0,03	1,80 ± 0,09	1,73 ± 0,13
	10	5,59 ± 0,38	4,87 ± 0,23	5,24 ± 0,61	5,05 ± 0,64
	15	4,01 ± 0,36	2,28 ± 0,10*	2,44 ± 0,17*	2,34 ± 0,17*
ПА, %		-	53	58,33	72,33

Примітка. *Достовірно відносно контрольної патології ($P \leq 0,05$).

пошкоджених слоїв епідермісу та його відновлення, зменшення, а в деяких тварин взагалі зникнення гіперемії та набряку. У групі контрольної патології в більшості тварин запалення прогресувало, з'явилися виразки з геморагіями та кірки.

Отримані результати дослідження (таблиця) показують, що ефективність лікування в різних групах тварин була неоднаковою, так інтенсивність ураження після 5-разового застосування лосьйону, мазі, крему складала відповідно: $1,42 \pm 0,30$; $1,25 \pm 0,28$; $0,83 \pm 0,17$ бала, що достовірно менше ніж у групі контрольної патології в той самий термін спостереження – $3,00 \pm 0,13$. Товщина шкірної згортки теж була достовірно меншою в групах тварин, яких лікували кремом, маззю та лосьйоном «Елоком», порівняно з групою контрольної патології в 1,64–1,76 разу.

За виразністю протизапальної активності досліджувані лікарські форми препарату «Елоком» можна розташувати в наступному порядку: крем (72,33 %) > мазь (58,33 %) > лосьйон (53,00 %).

Про розвиток запалення за умов моделювання дерматиту свідчить також динаміка гематологічних показників (рис. 1). На 10-у добу експерименту в результаті розвитку запалення спостерігали збільшення ШЗЕ в середньому в 2,1 разу, рівня лейкоцитів – у 1,5 разу. Після лікування (15-а доба дослідження) спостерігалось зниження або нормалізація цих показни-

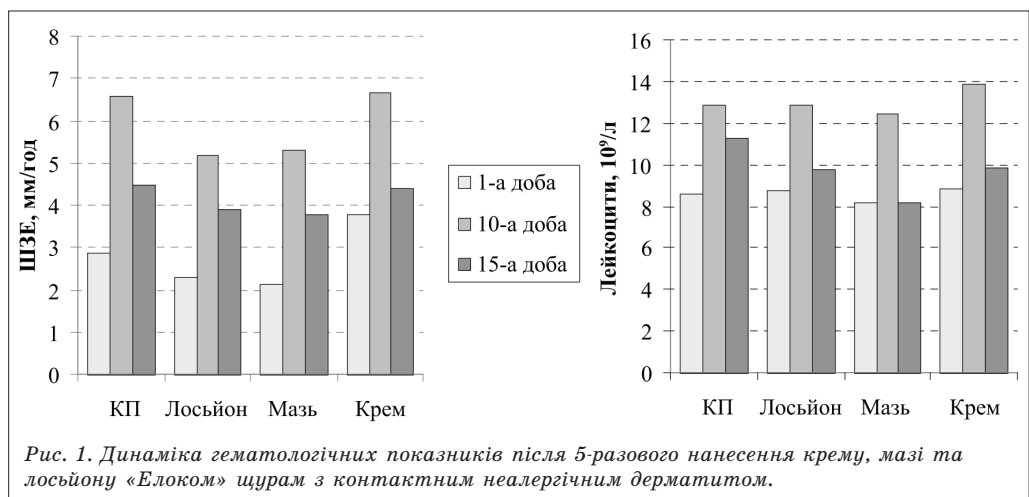
ків у групах тварин, яких лікували: рівень лейкоцитів та ШЗЕ були нижчими, ніж у групі контрольної патології в 1,1–1,3 разу.

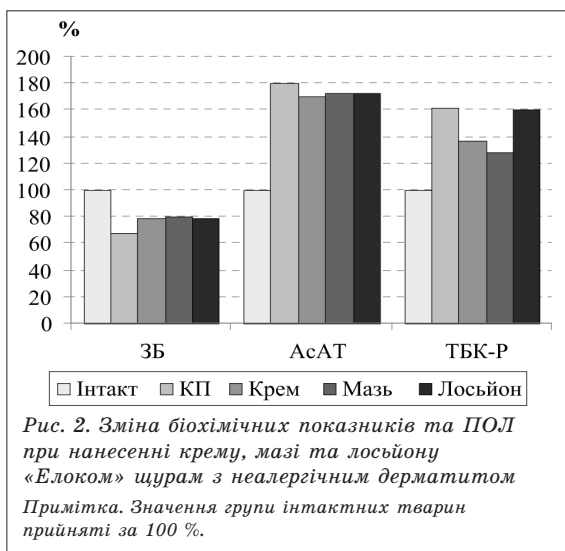
Щодо протизапальної дії досліджуваних лікарських форм свідчить динаміка біохімічних маркерів запалення та рівня перекисного окиснення ліпідів у ході експерименту.

Так, у результаті 10-добового нанесення скипидару було зафіксовано збільшення АсАТ у 2,2 разу, ТБК-реактивів у 1,4 разу, зменшення рівня ЗБ у 1,8 разу, що свідчить про достовірність відтворення патології в тварин. Після лікування рівень ТБК-реактивів та активність АсАТ у групах тварин, яких лікували, були у 1,1–1,2 разу нижчими, ніж у групі контрольної патології (рис. 2).

Отже, після застосування мазі та крему значно покращувалися гематологічні показники та деякі біохімічні маркери запалення. Зменшення інтенсивності системних проявів запалення після лікування в усіх групах було нижчим, ніж у групі контрольної патології, однак не достовірно, що підтверджує відсутність системної дії препаратів «Елоком» та безпечність використання.

Таким чином, лікарська форма препарату впливає на ефективність місцевого лікування субхронічного запалення шкіри в щурів та, як наслідок, сприяє покращанню або нормалізації системних маркерів запалення та гематологічних показників.





Висновки

1. На моделі субхронічного запалення шкіри в щурів встановлено, що всі лікарські форми препарату «Елоком» (лосьйон, мазь, крем) виявляють протизапальну дію. За умов використаної моделі найкращі результати отримано після застосування крему.

2. Препарат «Елоком» рекомендують як препарат вибору для лікування хронічних запальних захворювань шкіри. Отримані результати досліджень дозволяють рекомендувати крем як лікарську форму, що проявляє найвиразніший протизапальний ефект при лікуванні дерматитів.

- Волковой В. А. Вивчення лікувальної ефективності нової мазі з ліпофільним комплексом із кори осики «Тремунлін» за умов неалергічного контактного дерматиту в щурів / В. А. Волковой, І. В. Кучинська, Т. І. Тюпка // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2010. – Т. 19, № 6. – С. 9–12.
- Денисенко О. І. Вплив ритмічної діяльності щитоподібної залози на стан оксидантної та антиоксидантної систем крові у хворих на алергодерматози: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. мед. наук: спец. 14.01.20 «Шкірні та венеричні хвороби» / О. І. Денисенко. – К., 2007. – 47 с.
- Яковлева Л. В. Вивчення ефективності нової мазі на моделі неалергічного контактного дерматиту / Л. В. Яковлева, О. В. Ткачова // Клінічна фармація. – 2010. – Т. 14, № 4. – С. 66–70.
- Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 889 с.
- Панкратов В. Г. Элоком (мометазон фуруат) в лечении острых и хронических воспалительных и аллергических дерматозов // Рецепт. – 2009. – № 4. – С. 114–124.
- Свирицкая Е. В. Применение сильных топических стероидов в терапии псориаза и атопического дерматита / Е. В. Свирицкая, Е. В. Матушевская // Современные проблемы дерматовенерологии, иммунологии и врачебной косметологии. – 2009. – Т. 4, № 4. – С. 71–72.
- Свирицкая Е. В. Сравнительный анализ эффективности и безопасности фторированных и хлорированных топических глюкокортикостероидов / Е. В. Свирицкая, Е. В. Матушевская // Современные проблемы дерматовенерологии, иммунологии и врачебной косметологии. – 2010. – Т. 3, № 3. – С. 76–80.
- Халафян А. А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных: Учебник / А. А. Халафян. – [3-е изд.]. – М.: ООО «Бином-Пресс», 2007. – 512 с.
- Ogawa M. Dissociation of local anti-inflammatory effect and systemic effects of mometasone furoate in mice / M. Ogawa, H. Sakonjo, C. Kamei // Immunopharmacol. Immunotoxicol. – 2009. – V. 4, № 31. – P. 601–607.
- Potent corticosteroid cream (mometasone furoate) significantly reduces acute radiation dermatitis: results from a double-blind, randomized study / A. Bostrom, H. Lindman, C. Swartling [et al.] // Abstract Indian J Dermatol Venereol Leprol. – 2010. – V. 6, № 76 – P. 724–731.
- Tanei R. Clinical analyses of atopic dermatitis in the aged / Tanei R. Katsuoka K // J. Dermatol. – 2008. – № 35. – P. 562–569.
- Tanei R. Eczematous dermatitis in the elderly / Tanei R. // J. Jpn. Med. Assoc. – 2009. – № 137 – 2437–2441.

Л. А. Булыга, Я. А. Бутко, Л. Б. Иванчик

Сравнение противовоспалительной активности лосьона, крема и мази «Элоком» в условиях субхронического воспаления кожи у крыс

Актуальной является проблема распространения и лечения хронических дерматитов. Базовыми препаратами местной терапии воспалительных заболеваний кожи являются топические глюкокортикостероиды. Осуществлен сравнительный анализ противовоспалительной активности лекарственных форм (лосьон, мазь, крем) препарата «Элоком» (содержит глюкокортикостероид мометазон фуруат) на модели неаллергического контактного дерматита у крыс. Наивысшая противовоспалительная активность установлена для лекарственной формы – крем.

Лекарственные формы препарата – крем и мазь способствовали нормализации гематологических показателей и некоторых биохимических маркеров воспаления в условиях моделирования дерматита у крыс.

Ключевые слова: дерматит, глюкокортикостероиды, воспаление, крем, мазь, лосьон

L. A. Buliga, Y. A. Butko, L. B. Ivantsyk

Comparison of anti-inflammatory activity lotion, cream and ointment «Elocom» in conditions of subchronic dermatitis in rats

Problem of treatment of chronic dermatitis stays actual. Basic medicine for therapy of inflammatory diseases of the skin are topical steroids. Comparative analysis of anti-inflammatory activity of the drug dosage forms (lotion, ointment, cream) «Elocom» (mometasone furoate) was carried on the model of non-allergic contact dermatitis in rats. Cream showed highest anti-inflammatory activity. High impact on the normalization of hematologic and biochemical markers of inflammation in the body discovered for dosage forms – cream and ointment.

Key words: dermatitis, glucocorticosteroids, inflammation, cream, ointment, lotion

Надійшла: 28.03.2012 р.

Контактна особа: Іванчик Леся Богданівна, аспірант, кафедра фармакології, Національний фармацевтичний університет, вул. Мельникова, буд. 12, м. Харків, 61002.
Тел.: +38 (057) 706-30-69. Електронна адреса: alecinka@ mail.ru

А. П. Ворожбит

Моноамінергічні механізми розвитку толерантності до дії антидепресантів

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

Ключові слова: антидепресанти, толерантність, моноамінергічні системи

Резистентність до дії лікарських засобів є одним із бар'єрів на шляху раціональної фармакотерапії різноманітних патологічних станів. Клінічні дані свідчать, що в 45–60 % хворих на депресію виявляють резистентність до специфічної фармакологічної дії антидепресантів. Експериментальні дослідження підтверджують, що при довготривалому введенні антидепресантів формується толерантність до їхньої дії. Тому визначення закономірностей розвитку толерантності та на цьому підґрунті розробка методів подолання терапевтичної резистентності до дії антидепресантів є актуальною проблемою психофармакології [7].

Аналіз даних літератури свідчить про різноманітність причин формування терапевтичної резистентності до лікарських засобів й, зокрема, до антидепресантів [1, 10]. Беручи до уваги, що механізм дії антидепресантів пов'язаний з їхнім впливом на різні ланки синаптичної передачі, можна припустити, що зміни у функціонуванні моноамінергічних систем мозку можуть бути однією із причин формування толерантності [5, 6, 9]. *Мета дослідження* – визначення змін функціонування моноамінергічних систем мозку на тлі толерантності до антидепресантної дії пірліндолу, амітриптиліну і флуоксетину. Указані препарати є представниками основних груп антидепресантів – інгібіторів МАО, трициклічних та селективних інгібіторів зворотного захоплення серотоніну відповідно [3].

Матеріали та методи. Дослідження проведено на білих мишах та щурах із використанням оцінки антидепресантної активності досліджуваних препара-

тів за методом Порсолта та на резерпіновій моделі депресії [8].

Стан функціонування моноамінергічних систем мозку визначали за допомогою агоністів та антагоністів, а саме сиднокарбу – норадренергічного психостимулятора; резерпіну, препарату, який спустошує пресинаптичне депо серотоніну; галоперидолу – антагоніста дофамінергічних рецепторів та апоморфіну – агоніста дофамінергічних рецепторів.

Психостимулюючий ефект сиднокарбу оцінювали за змінами горизонтальної рухової активності у «відкритому полі». Дію апоморфіну визначали за латентним періодом та тривалістю стереотипії. Нейротропний ефект галоперидолу реєстрували за вираженістю каталепсії, яку вимірювали в балах за К. Раєвським. Резерпіновий симптомокомплекс включає оцінку каталепсії, пози «горб», блефароптозу, пілоерекції [2].

Статистичний аналіз отриманих результатів здійснювали із застосуванням t-критерію Ст'юдента програмного пакета Microsoft Excel та «Statistica 6.0».

Результати та їх обговорення. У попередніх дослідженнях були встановлені дози антидепресантів, які в методах Порсолта та резерпінової депресії забезпечують антидепресантну дію. Для пірліндолу така доза становить 40 мг/кг, амітриптиліну – 5 мг/кг, флуоксетину – 15 мг/кг при інтраперитонеальному (і/п) введенні. Під час виконання дослідів визначали тривалість уведення антидепресантів, що призводить до розвитку толерантності щодо їхнього антидепресантного впливу. При цьому ефект толерантності до дії пірліндолу та амітриптиліну спостерігали на 8 день щоденного введення, а для флуоксетину – на 15 день [4].

Для визначення змін функціонування нейромедіаторних систем мозку при розвитку толерантності до дії антидепресантів порівнювали показники активності адрен-, серотонін- та дофамінергічної передачі при застосуванні відповідних аналізаторів у тварин при одноразовому введенні досліджуваних препаратів і толерантних тварин до їхньої дії.

Роль адренергічної системи в розвитку толерантності до дії антидепресантів. Загалом, антидепресанти підвищують активність адренергічної системи, що відображається в поведінці тварин і проявляється зростанням спонтанної рухової активності. Подібний ефект проявляє психостимулятор сиднокарб. У зв'язку із цим була підібрана допорогова доза сиднокарбу, на фоні якої з'являється можливість оцінки психоактивуючого впливу антидепресантів. Ця доза сиднокарбу становила 5 мг/кг при і/п уведенні білим щурам.

Хід досліду полягав у тому, що досліджуваний антидепресант вводили за 1 год до сиднокарбу й через 1 год після цього реєстрували горизонтальну рухову активність у «відкритому полі».

Отримані результати свідчать, що при дозі сиднокарбу 5 мг/кг (контроль II) горизонтальна активність тварин не відрізнялася від такої в інтактних тварин (контроль I) і становила $35,6 \pm 4,7$ і $33,3 \pm 7,7$ квадратів відповідно. При одноразовому введенні пірліндолу та сиднокарбу рухова активність тварин не змінювалася відносно контролю I та контролю II. Тобто, пірліндол не потенціював психостимулюючу дію сиднокарбу. Рухова активність не змінювалася й при введенні сиднокарбу тваринам, толерантним до антидепресантної дії пірліндолу. Отримані резуль-

тати свідчать про те, що в розвитку толерантності до пірліндолу при його тривалому застосуванні адренергічна система ЦНС участі не бере.

Разом із цим, при одноразовому застосуванні флуоксетину та амітриптиліну із сиднокарбом вірогідно збільшувалася горизонтальна рухова активність тварин – у 2,6 і 2,2 рази відповідно порівняно з контролем II. Ці дані дають підставу для висновку щодо потенціюючої дії флуоксетину та амітриптиліну на психостимулюючий вплив сиднокарбу. У той самий час при введенні флуоксетину та сиднокарбу тваринам, толерантним до дії флуоксетину, феномена потенціювання психостимулюючої дії сиднокарбу не спостерігали (рисунк).

Аналогічну картину спостерігали при введенні амітриптиліну та сиднокарбу тваринам, толерантним до дії амітриптиліну (рисунк).

Таким чином, на підставі отриманих результатів досліджень, можна зробити висновок, що пірліндол не має сенсibilізуючого впливу на адренорецептори головного мозку, і тому адренергічна система ЦНС не бере участі в розвитку толерантності до антидепресантної активності пірліндолу.

Флуоксетин, як і амітриптилін, має суттєвий потенціюючий вплив на психостимулюючу дію сиднокарбу. У тварин, толерантних до антидепресантної дії флуоксетину та амітриптиліну, ука-

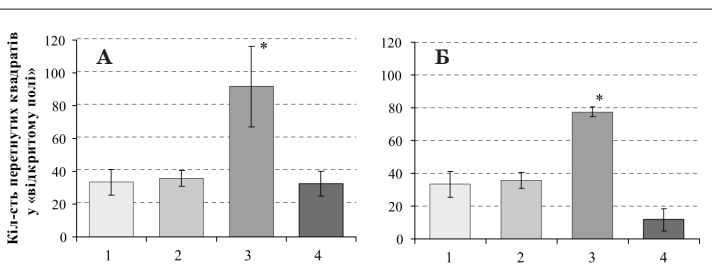


Рисунок. Потенціювання флуоксетином (А) та амітриптиліном (Б) психостимулюючої дії сиднокарбу.

- | | |
|---|--|
| <p>А</p> <p>1 – контроль I (ізотонічний розчин натрію хлориду);</p> <p>2 – контроль II (сиднокарб, 5 мг/кг);</p> <p>3 – флуоксетин + сиднокарб, 5 мг/кг (при введенні інтактним тваринам);</p> <p>4 – флуоксетин + сиднокарб, 5 мг/кг (при введенні толерантним до дії флуоксетину тваринам)</p> | <p>Б</p> <p>1 – контроль I (ізотонічний розчин натрію хлориду);</p> <p>2 – контроль II (сиднокарб, 5 мг/кг);</p> <p>3 – амітриптилін + сиднокарб, 5 мг/кг (при введенні інтактним тваринам);</p> <p>4 – амітриптилін + сиднокарб, 5 мг/кг (при введенні толерантним до дії амітриптиліну тваринам);</p> |
|---|--|

Примітка. *Різниця вірогідна відносно контролю II.

заний психостимулюючий вплив цих препаратів не реєстрували. Виходячи з цього, можна припустити, що розвиток толерантності до антидепресантної дії флуоксетину та амітриптиліну при їхньому тривалому введенні розгортається на тлі десенсибілізації (десенситизації) адренорецепторів нейронів головного мозку.

Роль дофамінергічної системи в розвитку толерантності до дії антидепресантів. Критерієм оцінки дофамінергічних механізмів розвитку толерантності до дії антидепресантів є вираженість галоперидолової катаlepsії та апоморфінової стереотипії у тварин при одноразовому та довгостроковому введенні досліджуваних препаратів.

Проведені дослідження показали, що амітриптилін і, особливо, флуоксетин достовірно підвищували тривалість апоморфінової поведінкової стереотипії тварин на 22 % і 34 % відповідно, що свідчить про сенсibiliзацію дофамінових рецепторів нейронів мозку до дії агоніста апоморфіну (табл. 1).

У тварин, толерантних до антидепресантної дії амітриптиліну та флуоксе-

тину, сенсibiliзуючий дофамінові рецептори ефект нівелюється (табл. 1), і тому можна припустити, що цей ефект є однією з ланок у механізмі розвитку толерантності при довгостроковому застосуванні амітриптиліну та флуоксетину.

Пірліндол при одноразовому введенні не впливав на тривалість апоморфінової стереотипії, але в толерантних тварин значно її підвищував (табл. 1). При цьому не виключено, що гіперсенсibiliзація дофамінових рецепторів у кінцевому результаті призводить до їхньої десенситизації.

Пірліндол і амітриптилін практично не впливали на катаlepsитогенну дію галоперидолу як при одноразовому введенні, так і при довгостроковому застосуванні. Флуоксетин проявляє виражений потенціюючий вплив на катаlepsитичну дію галоперидолу. Указаний ефект реєстрували у тварин при одноразовому введенні протягом 6 год спостереження. При цьому, за бальною шкалою, вираженість катаlepsії підвищувалася в 3–10 разів. Такий самий ефект відмічали й у толерант-

Таблиця 1

Вплив пірліндолу, амітриптиліну та флуоксетину на апоморфінову стереотипію при одноразовому їхньому введенні щурам та в толерантних до цих препаратів тварин, $M \pm m$

Препарат	Тривалість введення антидепресанту	Наявність стереотипії	Початок стереотипії, хв	Тривалість стереотипії, хв
Апоморфін, 10 мг/кг (контроль)		7/7 [®]	5,00 ± 0,22	79,43 ± 2,90
Пірліндол, 40 мг/кг, + апоморфін, 10 мг/кг	Одноразово	7/7	2,86 ± 0,26 *	73,11 ± 1,70
	8 діб	7/7	3,29 ± 0,18	130,57 ± 6,52**
Амітриптилін, 5 мг/кг, + апоморфін, 10 мг/кг	Одноразово	7/7	4,14 ± 0,34	96,57 ± 5,38*
	8 діб	7/7	2,29 ± 0,18 **	91,86 ± 2,77
Флуоксетин, 15 мг/кг, + апоморфін, 10 мг/кг	Одноразово	7/7	3,29 ± 0,29 *	106,29 ± 4,27*
	15 діб	7/7	3,29 ± 0,18	89,86 ± 4,64**

Примітка. [®]У чисельнику – кількість тварин, які мали стереотипію, у знаменнику – кількість тварин у досліді; *статистично значимі відмінності відносно контролю ($P < 0,05$) при одноразовому введенні препарату; **статистично значимі відмінності в толерантних тварин відносно даних при одноразовому введенні препарату ($P < 0,05$); кількість тварин у кожній групі $n = 7$.

них до дії флуоксетину тварин, за винятком 6-ї год спостереження, коли потенціююча дія флуоксетину нівелювалася (табл. 2).

Можна припустити, що флуоксетин сенсibiliзує дофамінові рецептори, і тому галоперидол викликає більш виразну каталептогенну дію. Але при тривалому сенсibiliзуючому ефекті дофамінові рецептори можуть переходити в стан десенситизації.

Роль серотонінергічної системи в розвитку толерантності до дії

антидепресантів. Функціональну активність серотонінергічної системи оцінювали за динамікою резерпінового симптомокомплексу поведінки тварин (каталепсія, поза «горб», блефароптоз, пілоерекція), що, як відомо, розглядається як експериментальний еквівалент депресії та асоціюється з антисеротоніною дією. Було встановлено, що резерпін у дозі 15 мг/кг і/п через 24 год у щурів викликає всі вищезгадані поведінкові симптоми депресії (табл. 3).

Таблиця 2

Вплив пірліндолу, амітриптиліну та флуоксетину на вираженість каталепсії в щурів при одноразовому їхньому введенні та в толерантних до цих препаратів тварин, $M \pm t$

Препарат	Тривалість введення антидепресанту	Вираженість каталепсії, бали					
		Час тестування, год					
		1	2	3	4	5	6
Галоперидол, 1 мг/кг (контроль)		0	0,14 ± 0,14	1,86 ± 0,86	2,43 ± 0,84	1,86 ± 0,67	1,00 ± 0,53
Пірліндол, 40 мг/кг, + галоперидол, 1 мг/кг	Одноразово	1,29 ± 0,61	2,71 ± 0,61*	2,43 ± 0,65	3,29 ± 0,68	3,29 ± 0,87	1,86 ± 0,67
	8 діб	0,14 ± 0,14	1,86 ± 0,77	2,57 ± 1,02	2,00 ± 0,98	2,71 ± 0,81	2,43 ± 0,92
Амітриптилін 5 мг/кг, + галоперидол, 1 мг/кг	Одноразово	0,14 ± 0,14	0,71 ± 0,42	1,57 ± 0,53	1,71 ± 0,61	2,29 ± 0,61	1,43 ± 0,69
	8 діб	0	1,14 ± 0,83	3,00 ± 0,85	3,14 ± 0,94	2,29 ± 0,89	1,57 ± 0,65
Флуоксетин, 15 мг/кг, + галоперидол, 1 мг/кг	Одноразово	1,86 ± 0,86*	4,00 ± 0,76*	5,43 ± 0,37*	4,71 ± 0,71*	3,43 ± 0,78	5,29 ± 0,47*
	15 діб	3,43 ± 0,78	4,43 ± 0,69	5,00 ± 0,49	5,00 ± 0,49	3,43 ± 0,57	2,86 ± 0,74**

Примітка. *Статистично значимі відмінності відносно контролю ($P < 0,05$) при одноразовому введенні препарату; **статистично значимі відмінності в толерантних тварин відносно даних при одноразовому введенні препарату ($P < 0,05$).

Таблиця 3

Вплив пірліндолу, амітриптиліну та флуоксетину на показники резерпінової депресії

Препарат	Тривалість введення антидепресанту	Ознака депресії			
		Каталепсія	Поза «горб»	Блефароптоз	Пілоерекція
Резерпін, 15 мг/кг (контроль)		+	+	+	+
Пірліндол, 40 мг/кг + резерпін, 15 мг/кг	Одноразово	-	-	-	-
	8 діб	+	+	+	+
Амітриптилін, 5 мг/кг + резерпін, 15 мг/кг	Одноразово	-	-	-	-
	8 діб	+	+	+	+
Флуоксетин, 15 мг/кг + резерпін, 15 мг/кг	Одноразово	-	-	-	-
	15 діб	+	+	+	+

Примітка. + – наявність ознак депресії, - – відсутність ознак депресії

Роль нейромедіаторних систем головного мозку в механізмах розвитку толерантності до дії антидепресантів

Нейромедіаторні системи мозку	Антидепресант		
	Пірліндол	Амітриптилін	Флуоксетин
Адренергічна	-	++	++
Дофамінергічна	+	+	++
Серотонінергічна	++	++	++

Примітка. – – відсутність відповідних ефектів, + – ефекти присутні, ++ – виражені ефекти.

Пірліндол (40 мг/кг), амітриптилін (5 мг/кг) і флуоксетин (15 мг/кг) при одноразовому введенні попереджували розвиток резерпінової депресії у тварин (табл. 3).

У той самий час, на тлі сформованої толерантності, указані антидепресанти не запобігали антисеротоніновій дії резерпіну, що свідчить про участь серотонінової системи в механізмах розвитку толерантності до антидепресантного впливу пірліндолу, амітриптиліну та флуоксетину.

Узагальнені дані щодо участі нейромедіаторних механізмів у розвитку толерантності до дії антидепресантів наведено в таблиці 4.

Висновки

1. Найбільш виражені зміни функціонування адренергічної, дофамінергічної та серотонергічної систем спостерігаються в розвитку толерантності до флуоксетину. Цей факт може пояснити більш повільне в часі формування толерантності до флуоксетину (15 діб) порівняно з пірліндом та амітриптиліном (8 діб).
2. Серотонінергічна система бере участь у формуванні толерантності до дії всіх досліджуваних антидепресантів.
3. Отримані дані свідчать, що адренергічна система не задіяна в розвитку толерантності до пірліндолу.

1. Фармакогенетика в психіатрії: антидепрессанты / Иванов А. М., Камилова Т. А., Довгополок А. Б., Абриталин Е. Ю. // Весник российской военно-медицинской академии.– 2010.– Т. 2 (30).– С. 201–210.
2. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ: под ред. Р. У. Хабриева.– М., 2005.– С.244–253.
3. Современные антидепрессанты, их роль и место в психиатрической и общемедицинской практике / Давыдов А. Т., Петрова Н. Н., Литвинцев С. В. [и др.] // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.– 2007.– Т. 5, № 2.– С. 49–62.
4. Феномен толерантності до дії антидепресантних препаратів при їх тривалому введенні / К. О. Черноштан, А. П. Ворожбит, О. Д. Мовчан, Л. О. Громов // Фармакологія та лікарська токсикологія.– 2011.– № 3 (22).– С. 35–39.
5. Depression and antidepressants: molecular and cellular aspects / C. Lanni, S. Govoni, A. Lucchelli, C. Boselli // Cell Mol Life Sci.– 2009.– V. 66 (18).– P. 2985–3008.
6. Pharmacogenetics of antidepressant response / S. Porcelli, A. Drago, C. Fabbri [et al.] // J. Psychiatry Neurosci.– 2011.– V. 36 (2).– P. 87–113.
7. Pharmacologic approaches to treatment resistant depression: a re-examination for the modern era / N. S. Philip, L. L. Carpenter, A. R. Tyrka, L. H. Price // Expert Opin Pharmacother.– 2010.– V. 11 (5).– P. 709–22.
8. Porsolt R. D. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatment / R. D. Porsolt, M. Le Pichon, M. Jalfre // Nature.– 1977.– V. 226, № 5604.– P. 730–732.
9. Sghendo L. Understanding the molecular pharmacology of the serotonergic system: using fluoxetine as a model / L. Sghendo, J. Mifsud // J. Pharm Pharmacol.– 2012.– V. 64 (3).– P. 317–25.
10. Vieta E. Therapeutic options in treatment-resistant depression / E. Vieta, F. Colom // Annals of Medicine.– 2011.– V. 43 (7).– P. 512–30.

А. П. Ворожбит

Моноаминергические механизмы развития толерантности к действию антидепрессантов

В предварительных опытах было установлено, что длительное введение пирлиндолу, амитриптилину и флуоксетину приводит к развитию толерантности к их антидепрессантному действию.

Развитие толерантности может быть связано с функциональными изменениями моноаминергических систем мозга, которые играют важную роль в проявлении антидепрессантного действия исследуемых препаратов.

Полученные результаты свидетельствуют, что наиболее выраженные изменения функционирования адренергической, дофаминергической и серотонинергической систем прослеживаются при развитии толерантности к флуоксетину. Серотонинергическая система причастна к развитию толерантности к исследуемым антидепрессантам, адренергическая система не вовлечена в механизмы развития толерантности к пирлиндолу.

Ключевые слова: антидепрессанты, толерантность, моноаминергические системы

A. Vorozhbyt

Monoaminergic mechanisms of tolerance to the action of antidepressants

In previous experiments it was found that long-term injections of the pirlindole, amitriptyline and fluoxetine leads to the tolerance to their anti-depressant action. The tolerance may be associated with functional changes monoaminergic systems of the brain that play a major role in the antidepressant effect of the drugs.

The results indicate that certain changes of functioning adrenergic, dopaminergic and serotonergic systems traces the development of tolerance to fluoxetine. Serotonergic system takes part in the formation of tolerance of all tested antidepressants, and adrenergic system is not involved in the mechanism development of tolerance to pirlindole.

Key words: antidepressants, tolerance, monoaminergic systems

Надійшла: 07.11.2012 р.

Контактна особа: Ворожбит Анастасія Петрівна, молодший науковий співробітник, відділ нейрофармакології, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», вул. Ежена Потье, 14, м. Київ, 03057. Тел.: +38 (044) 456 92 27.

Визначення вмісту технологічних домішок у субстанції 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-тріазолію броміду

ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», м. Харків

Ключові слова: критичні показники якості, ВЕРХ, ГХ, ТШХ, технологічні домішки, 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-тріазолію бромід

Створення нових лікарських препаратів передбачає розробку аналітичного забезпечення на всіх стадіях синтезу, контролю якості субстанції та лікарських форм відповідно до вимог ДФУ та Настанов з якості [1, 2].

Однією з вимог до забезпечення якості субстанцій є встановлення критичних показників якості на вміст технологічних домішок: вихідних продуктів синтезу та залишкових кількостей органічних розчинників.

Колективом авторів під керівництвом професора І. А. Мазура синтезована нова сполука 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-тріазолію бромід, що за силою антигіпертензивної дії перевищує ефективність карведіолу та кардіотрилу і може бути застосована за умов гострого періоду інфаркту міокарда [3, 4]. Розробці методик, що дозволяють визначити критичні показники якості нової субстанції, присвячено цю роботу. **Мета дослідження** – визначення вмісту технологічних домішок у субстанції 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-тріазолію броміду.

Матеріали та методи. Синтез субстанції проходить за взаємодії 4-аміно-1,2,4-тріазолу в β -брометилбензолі у середовищі ізопропанолу або ацетону. Вищевказані речовини стали об'єктами дослідження.

Хроматографічне визначення досліджуваної субстанції та її технологічних домішок проводили на газовому хроматографі GC-2014 Shimadzu та ВЕРХ-хроматографі LC-20 Shimadzu, спектрофотометричні дослідження на спектро-

фотометрі UV-1700 Shimadzu. Умови проведення досліджень наведено далі.

Результати та їх обговорення. Дослідження УФ-спектрів вихідних продуктів синтезу (рис. 1, 2) довели, що 4-аміно-1,2,4-тріазол має максимум поглинання за межами 200 нм, тоді як β -брометилбензол та досліджувана субстанція (рис. 3) мають максимуми 209 нм і 211 нм відповідно. У зв'язку із цим спектрофотометричне визначення субстанції в присутності вихідних продуктів синтезу неможливо, як неможливо й кількісне визначення 4-аміно-1,2,4-тріазолу методом ВЕРХ із УФ-спектрофотометричним детектором.

У той самий час оптичні характеристики досліджуваних сполук вказують на можливість проведення аналізу β -брометилбензолу методом ВЕРХ.

Добра розчинність технологічних домішок у воді, ацетоні, ізопропанолі та погана й повільна у хлороформі, бензолі дозволила прогнозувати можливість розробки методик їхнього контролю за допомогою ТШХ із засто-

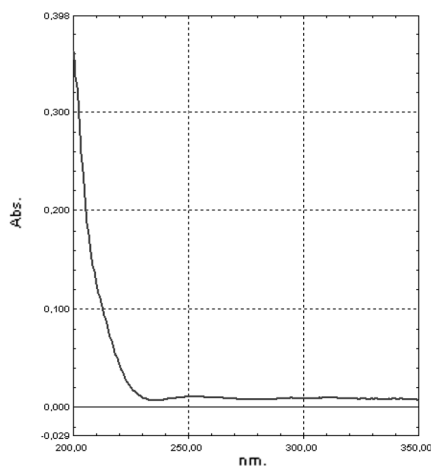


Рис. 1. УФ-спектр 0,2 % розчину 4-аміно-1,2,4-тріазолу в метиловому спирті.

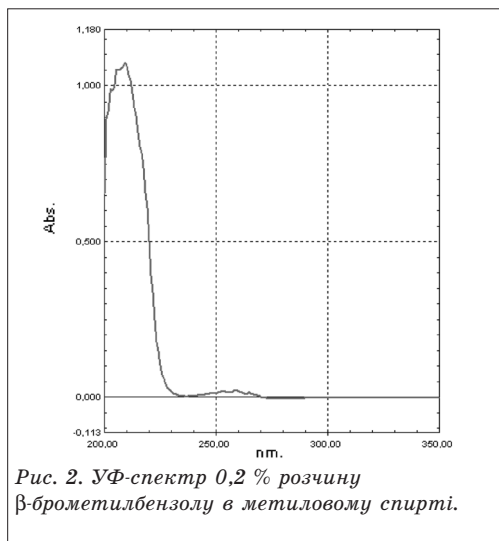


Рис. 2. УФ-спектр 0,2 % розчину β-брометилбензолу в метиловому спирті.

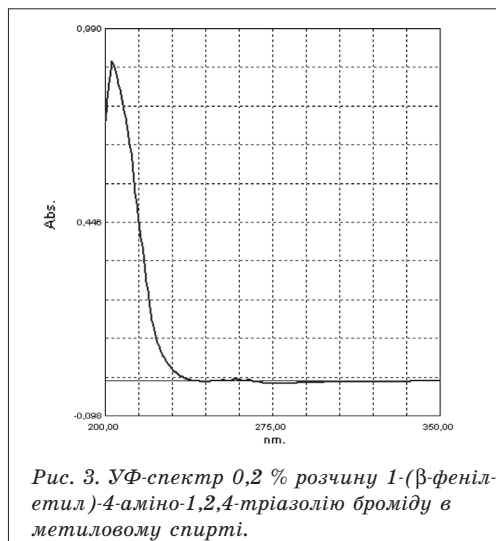


Рис. 3. УФ-спектр 0,2 % розчину 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-тріазолію броміду в метиловому спирті.

суванням хроматографічних систем, що містять зазначені розчинники [4].

Визначення домішки β-брометилбензолу в субстанції 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-тріазолію броміду. Визначення проведено методом ВЕРХ відповідно до вимог ДФУ 2.2.29 та 2.2.44N.

Приготування випробовуваного розчину. 50 мг (точну наважку) субстанції додають до мірної колби місткістю 25 мл, розчиняють у 20 мл рухомої фази «А», доводять об'єм розчину тим самим розчинником до мітки й перемішують.

Приготування розчину порівняння β-брометилбензолу. 25 мг (точну наважку) β-брометилбензолу додають до мірної колби місткістю 25 мл, розчиняють у 20 мл спирту 96 %, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до мітки й перемішують.

0,50 мл одержаного розчину додають до мірної колби місткістю 50 мл, доводять об'єм розчину рухомою фазою «А» до мітки й перемішують.

По 10 мкл розчинника (рухомої фази «А»), випробовуваного розчину та розчину порівняння β-брометилбензолу хроматографують на рідинному хроматографі із УФ-спектрофотометричним детектором за наступних умов:

- колонка, розміром 100 мм × 4,0 мм, що заповнена сорбентом «ReproSil Basic C18», розмір часток 3 мкм;
- склад рухомої фази «А»: 0,1 % розчин фосфорної кислоти – ацетонітрил (35 : 65);
- швидкість рухомої фази – 0,750 мл/хв;

- температура колонки – +35 °С;
- довжина хвилі детектування – 211 нм.

Хроматограми, наведені на рисунку 4, свідчать, що досліджувані зразки субстанції не містять домішки β-брометилбензолу, але наявна неідентифікована домішка з часом утримання 6,06–6,10 хв, кількість якої не перевищує 0,005 % у перерахунку на β-брометилбензол.

Уміст β-брометилбензолу в субстанції (X) у відсотках розраховують за формулою:

$$X = \frac{S_b \cdot m_o \cdot 25 \cdot 0,5 \cdot 100}{S_{ob} \cdot m \cdot 25 \cdot 50} = \frac{S_b \cdot m_o}{S_{ob} \cdot m},$$

де: S_b – середнє значення площ піків β-брометилбензолу, розраховане із хроматограм випробовуваного розчину;

S_{ob} – середнє значення площ піків β-брометилбензолу, розраховане із хроматограм порівняння;

m_o – маса наважки β-брометилбензолу, мг;

m – маса наважки субстанції, мг.

Уміст β-брометилбензолу в субстанції не повинен перевищувати 0,5 %.

Наведені на рисунку 5 дані свідчать про наявність неідентифікованої домішки, яка зафіксована й у досліджуваних розчинах субстанції.

Результати вважаються вірогідними, якщо виконуються наступні умови:

- час утримання піка β-брометилбензолу на хроматограмах розчину

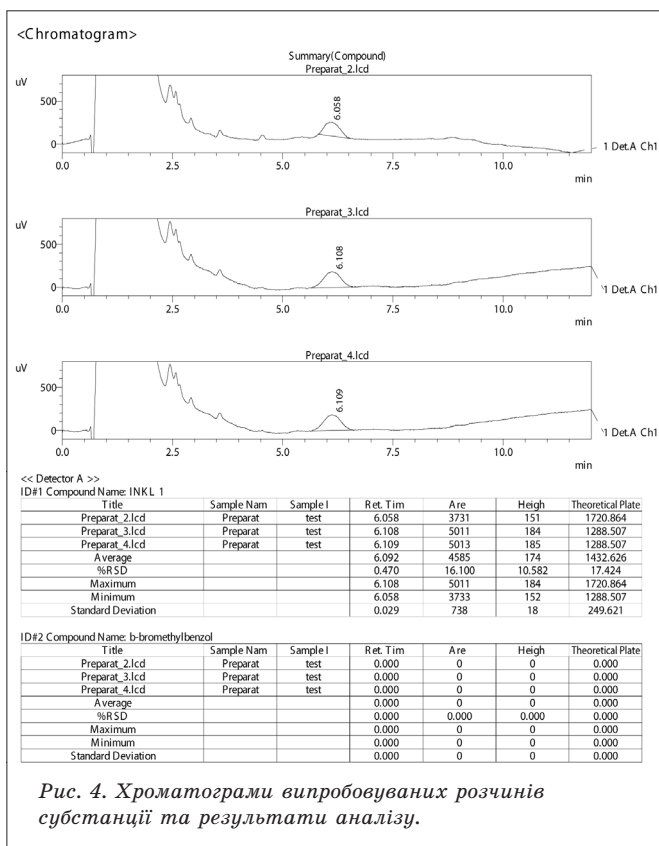


Рис. 4. Хроматограми випробовуваних розчинів субстанції та результати аналізу.

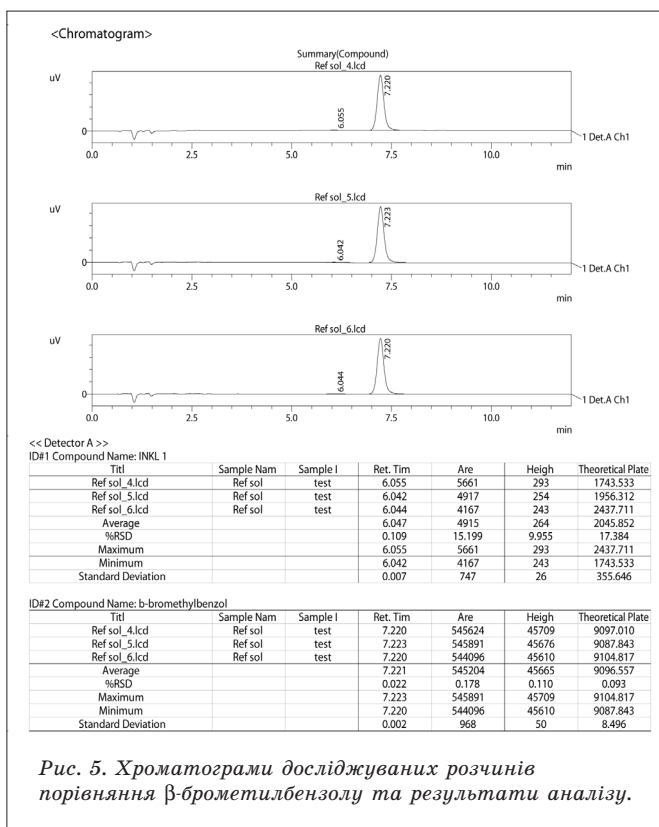


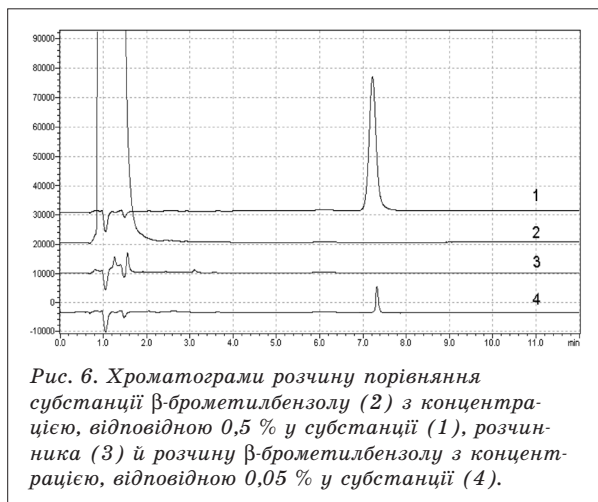
Рис. 5. Хроматограми досліджуваних розчинів порівняння β-брометилбензолу та результати аналізу.

порівняння повинен бути від 4 до 6 хв;

- на хроматограмі розчинника (РФ «А») мають бути відсутніми піки, що співпадають за часом утримання з піком β-брометилбензолу на хроматограмах розчину порівняння;
- ефективність хроматографічної системи, розрахована за піками β-брометилбензолу на хроматограмах розчину порівняння, має бути не менше за 1000 теор. тарілок;
- відносне стандартне відхилення площ піків β-брометилбензолу розраховане із хроматограм розчину порівняння, має відповідати вимогам ДФУ 2.2.46N.

Таким чином, одержані результати (рис. 4–6) дозволяють стверджувати, що запропоновані умови хроматографування є вірогідними:

- час утримання піка β-брометилбензолу складає 7,22 при збіжності (% RSD 0,022);
- на хроматограмі розчинника (РФ «А») відсутні піки, що співпадають з часом утримання піка β-брометилбензолу та неідентифікованої домішки;
- ефективність хроматографічної системи, що розрахована за піками β-брометилбензолу на хроматограмі розчину порівняння, складає 9096 теоретичних тарілок (% RSD 0,093);
- відносне стандартне відхилення площ піків β-брометилбензолу, що розраховано із хроматограми розчину порівняння, складає 0,178 при нормі не більш 2,5 %.



Методика дозволяє ідентифікувати наявність домішки β-брометилбензолу при вмісті в субстанції 0,05 % (рис. 6) та неідентифікованої домішки – 0,005 % (рис. 4).

Методика визначення домішки 4-аміно-1,2,4-тріазолу в субстанції 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-тріазолію броміду методом ТПХ. Приготування випробовуваного розчину. 40 мг (точну наважку) субстанції додають до мірної колби місткістю 5 мл, розчиняють у 4 мл метанолу, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до мітки й перемішують (8 мг/мл).

Приготування розчину порівняння. 10 мг (точну наважку) 4-аміно-1,2,4-тріазолу додають до мірної колби місткістю 5 мл, розчиняють в 4 мл метанолу, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до мітки й перемішують (2 мг/мл).

1,0 мл одержаного розчину додають до мірної колби місткістю 25 мл, розчиняють в 4 мл метанолу, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до мітки й перемішують (0,08 мг/мл).

На лінію старту хроматографічної пластинки «Сорбфіл ПТСХ-П-А», розміром 5 × 10 см наносять смугами довжиною по 8 мм 20 мкл (160 мкг) випробовуваного розчину, 20 мкл (1,6 мкг) та 10 мкл (0,8 мкг) розчину порівняння 4-аміно-1,2,4-тріазолу. Пластинку вміщують у камеру із сумішшю розчинників пропанол-2 – вода (10:1) і хроматографують висхідним способом.

Коли фронт розчинників пройде близько 7 см від лінії старту, пластинку виймають, висуюють на повітрі до відсутності запаху пропанолу-2 та витримують у камері з парами йоду до появи чіткої плями на хроматограмі розчину порівняння з нанесенням 10 мкл.

На хроматограмі випробовуваного розчину додаткова пляма, що розташована на рівні плями 4-аміно-1,2,4-тріазолу, не повинна перевищувати за інтенсивністю й розміром плями на хроматограмі розчину порівняння 4-аміно-1,2,4-тріазолу з нанесенням 20 мкл (не більш 1 %).

Таким чином, виходячи з даних хроматограми (рис. 7) межа визначення 4-аміно-1,2,4-тріазолу в субстанції складає 0,25 %.

Визначення залишкових кількостей органічних розчинників (ацетону та ізопропанолу) у субстанції 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-тріазолію броміду. Стадії синтезу 1-(β-фенілетил)-4-аміно-

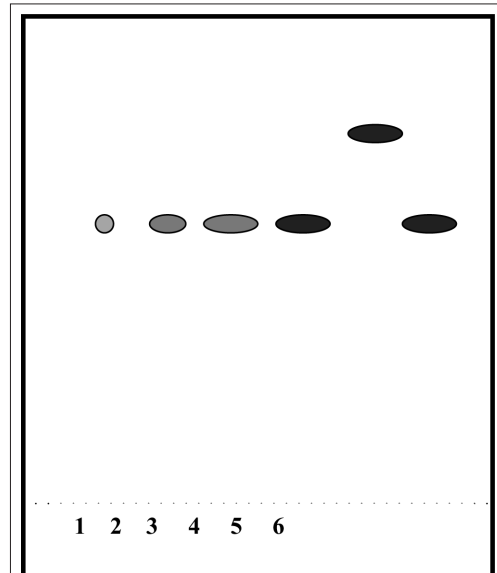


Рис. 7. ТПХ-хроматограма випробовуваного розчину субстанції (5) та розчинів порівняння 4-аміно-1,2,4-тріазолу з концентраціями, що відповідають 5 % (хроматограми 4 і 6), 1 % (хроматограма 3), 0,5 % (хроматограма 2) й 0,25 % (хроматограма 1) вмісту в субстанції.

1,2,4-тріазолію броміду, включаючи перекристалізацію, проходять в ацетоні або ізопропанолі. Згідно з Настановою з регламентації залишкових кількостей органічних розчинників (ICH/ICH/293/95 – Guidelines for residual solvents) ацетон та ізопропанол належать до розчинників класу 3 – малотоксичні розчинники. Клас 3 розчинників має значення дозволеної добової дії (PDE) 50 мг/доба та більше, тобто критична межа концентрації ацетону або ізопропанолу в субстанції $\geq 0,5\%$ та не потребує обґрунтування.

Визначення проведено методом газової хроматографії відповідно до вимог ДФУ 2.2.28 і 2.2.46(N).

Приготування випробовуваних зразків. Не менш ніж у 3 посудини місткістю 10 мл від приладу для приготування, дозування, відбору та введення рівноважної парової фази додають по (100 ± 1) мг субстанції, по 1,0 мл води Р та по 2,0 мл розчину внутрішнього стандарту. Посудини відразу герметизують гумовою мембраною із фторопластовим шаром.

Приготування зразків порівняння ацетону та пропанолу-2. У мірну колбу місткістю 50 мл додають 40 мл води Р, мікрошприцем 32 мкл (25 мг) пропанолу-2 та 7 мкл (5 мг) ацетону, доводять об'єм розчину водою Р до мітки та перемішують.

Не менш ніж у 3 посудини місткістю 10 мл від приладу для приготування, дозування, відбору та введення рівноважної парової фази поміщають по (100 ± 1) мг препарату, у кожному посудину додають по 1,0 мл одержаного розчину ацетону та пропанолу-2, та по 2,0 мл розчину внутрішнього стандарту. Посудини одразу герметизують гумовою мембраною із фторопластовим шаром.

Приготування розчину внутрішнього стандарту.

У мірну колбу місткістю 100 мл поміщають 80 мл води Р, додають мікрошприцем 32 мкл (25 мг) пропанолу-1, доводять об'єм розчину водою Р до мітки та перемішують.

Посудини з випробовуваними зразками та зразками порівняння ацетону й пропанолу-2 поміщають у прилад для приготування, дозування, відбору та вве-

дення рівноважної парової фази та проводять визначення в наступних умовах:

- температура термостатування зразків – $100\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- час термостатування – 15 хв;
- при термостатуванні зразки перемішують – 300 об/хв;
- температура шприца пробовідбірника – $110\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- об'єм проби, що вводиться – 0,25 мл.

Умови хроматографування:

- колонка, капілярна кварцева, розміром $30\text{ м} \times 0,53\text{ мм}$, з нерухомою фазою ПЕГ-20М (макрогол 20М), товщина шару 1 мкм (або аналогічна);
- температуру колонки програмують: $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ витримують протягом 5 хв, далі температуру підвищують зі швидкістю $20\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{хв}$ до температури $140\text{ }^{\circ}\text{C}$ та витримують протягом 5 хв;
- розділення потоку програмують: 1:20, витримують протягом 1 хв, далі розділення потоку 1 : 5;
- температура інжектора – $170\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- температура детектора – $220\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- швидкість газу-носія (азот, аргон, гелій) – 5 мл/хв.

Хроматограму й результати аналізу випробовуваного зразка та зразків порівняння ацетону, пропанолу-2 наведено на рисунках 8 – 9.

Уміст пропанолу-2 або ацетону (X) у препараті, у відсотках, розраховують за формулою:

$$X = \frac{B_i \cdot m_o \cdot 1}{(B_{oi} - B_i) \cdot m \cdot 50},$$

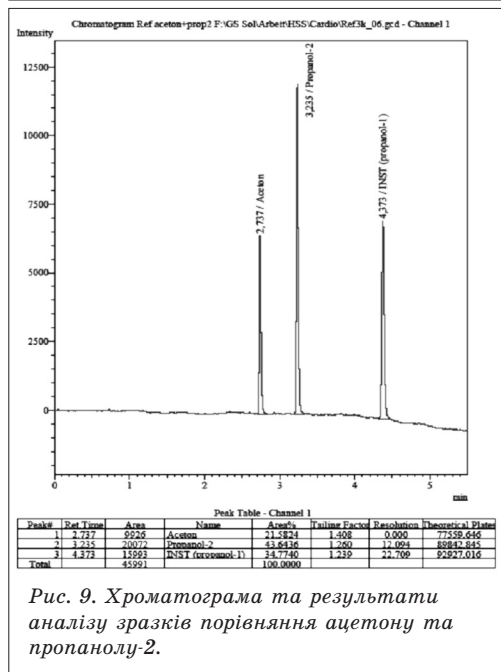
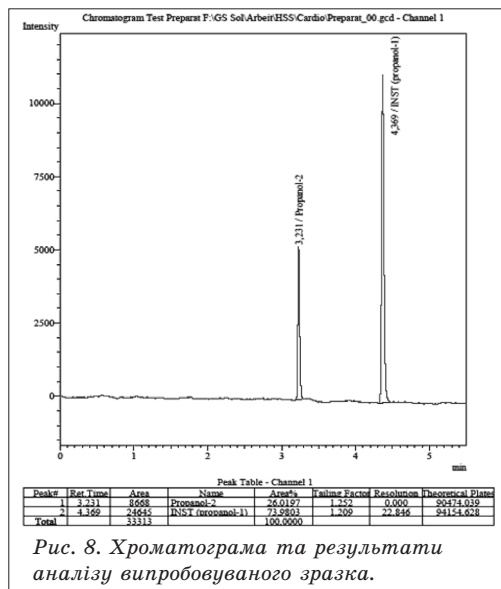
де: B_i – середнє значення відношення площ піків ацетону або пропанолу-2 до площ піків внутрішнього стандарту, розраховане із хроматограм рівноважної парової фази над випробовуваними зразками;

B_{oi} – середнє значення відношення площ піків ацетону або пропанолу-2 до площ піків внутрішнього стандарту, розраховане із хроматограм рівноважної парової фази над зразками порівняння метанолу;

m_o – маса ацетону або пропанолу-2, мг.

Уміст $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ (ацетону) у препараті повинен бути не більше 0,1 %.

Уміст $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$ (пропанолу-2) у препараті повинен бути не більше 0,2 %.



Результати аналізу вважають вірогідними, якщо виконуються такі умови:

- коефіцієнт розділення піків внутрішнього стандарту та пропанолу-2, розрахований із хроматограм рівноважної парової фази над зразками порівняння ацетону і пропанолу-2, повинен бути не менше 2,5;
- ефективність хроматографічної системи, розрахована за піком ацетону на хроматограмах рівноважної парової фази над зразками порівняння ацетону і пропанолу-2,

повинна бути не менше 50 000 теоретичних тарілок;

- відносне стандартне відхилення величин відношення площ піків пропанолу-2 до площ піків внутрішнього стандарту має відповідати вимогам ДФУ 2.2.46N

Отже, результати аналізу показують відсутність ацетону в досліджуваних зразках та наявність 0,18 % ізопропанолу (пропанолу-2).

Розроблена методика вірогідна та дозволяє контролювати домішки ацетону та ізопропанолу в кількості критичної межі в субстанції $\geq 0,5$ %:

- час утримання ацетону – 2,734, ізопропанолу (пропанолу-2) – 3,232-3,235, внутрішнього стандарту (пропанолу-1) – 4,369-4,393;
- коефіцієнти розділення внутрішнього стандарту та пропанолу-2, розраховані із хроматограми рівноважної парової фази над зразками порівняння пропанолу-2 та ацетону, становлять 22,7;
- ефективність хроматографічної системи 77559-94145 теоретичних тарілок.

Відносне стандартне відхилення площі піків пропанолу-2 до площ піків внутрішнього стандарту – 1,15.

У досліджених зразках субстанції не було знайдено ацетону (рис. 8, таблиця), але хроматограма (рис. 9) свідчить про можливість визначення кількісного вмісту ацетону, якщо він буде використовуватися в синтезі.

Висновки

1. Проведено дослідження із застосуванням методів ВЕРХ, ГХ та ТПХ для розробки методик визначення технологічних домішок – 4-аміно-1,2,4-тріазолу й β -брометилбензолу та залишкових кількостей органічних розчинників – ацетону й ізопропанолу.
2. Вивчено чутливість відкриття 4-аміно-1,2,4-тріазолу на пластинах «Сорбфіл ПТСХ-П-А» у системі розчинників ізопропанол (пропанол-2) – вода (10:1), що використано в методиці кількісного визначення цієї домішки в кількості критичного показника якості – від 0,25 % у субстанції.

Розрахунок результатів аналізу залишкових кількостей ацетону та ізопропанолу (пропанолу-2) в аналізованих серіях 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-тріазолію броміду

Зразок	Площа піків ацетону S_{acetone}	Площа піків пропанолу-2 $S_{\text{prop-2}}$	Площа піків внутрішнього стандарту S_{inst}	Співвідношення площ $B = S_{\text{acetone}}/S_{\text{inst}}$	Співвідношення площ $B_{\text{prop-2}} = S_{\text{prop-2}}/S_{\text{inst}}$	
Ref	9926	20072	15003	0,661601	1,337866	
	12871	24521	17947	0,717167	1,366301	
	11222	23042	16903	0,663906	1,36319	
					4,067357	1,355786
				BCB=4,6	BCB=1,15	
test Pr	0	8167	22454	0	0,363721	
	0	8668	24645	0	0,351714	
	0	8247	21890	0	0,376747	
					1,092183	0,364061
Маса препарату	100,9					
Маса ацетону	5					0
Маса пропанолу-2	25			Вміст пропанолу-2 (%)		0,18

3. Розроблено методику оцінки критичного показника якості субстанції за наявністю β-брометилбензолу із застосуванням рідинного хроматографа з УФ-спектрофотометричним детектором на колонці (сорбент Reprosil Basic C-18, склад рухомої фази: 0,1 % розчин кислоти фосфорної-ацетонитрил (35:65). Методика дозволяє визначати мінімальну кількість β-брометилбензолу в субстанції – 0,05 %, неідентифікованої домішки – 0,005 %, що гарантує можливість встановлення критичних показників якості з визначення домішок, розпочинаючи з цих відсотків.

4. Методика кількісного визначення ацетону та пропанолу-2, що базується на застосуванні ГХ на капілярній кварцевій колонці з рухомою фазою ПЕГ-20М (макрогол 20М), дозволяє визначити наявність домішок вищевказаних органічних розчинників у кількості від 0,25 % у субстанції.

5. Розроблені методики, що відповідають вимогам ДФУ, передано на завод «Хімреактив» НТК «Монокристал» для введення в методи контролю якості (МКЯ) та нормативну технологічну документацію.

1. Настанова 42-3.2:2004. Настанови з якості. Лікарські засоби. Специфікації: контрольні випробування та критерії прийнятності / В. Георгієвський, М. Ляпунов, О. Безугла [та ін.]. – К. : МОЗ України, 2004. – 38 с.
2. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.2:2011. Лікарські засоби. Управління ризиками для якості (ICH Q9) / М. Ляпунов, О. Безугла, О. Соловійов [та ін.]. – К. : МОЗ України, 2011. – 30 с.
3. Патент на изобретение № 2404974 RU МПК C07D249/08, A61P9/04, A61P9/10, A61P9/12. Бромид 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-тріазолію (МТ), обладающий кардиопротективным, противоишемическим, антигипертензивным, антиоксидантным, протеинсинтетическим и энерготропным действием / Мазур И. А., Беленичев И. Ф., Колесник Ю. М., Кучеренко Л. И., Волошин Н. А., Абрамов А. В., Чекман И. С., Горчакова Н. А., Загородний М. И., Георгиевский Г. В., Мамчур В. И., Довгань Р. С. ООО «НПО «Фарматрон». – № 2008148765; заяв. 10.12.08; опубл. 27.11.10. Бюл. № 33.

-
4. Патент на винахід № 92692 UA МПК А61К31/41, С07D249/00, А61Р9/00, А61К9/20, А61К9/08. Лікарський засіб для лікування ішемічної хвороби серця та гіпертонічної хвороби / Мазур І. А., Беленічев І. Ф., Колеснік Ю. М., Кучеренко Л. І., Волошин М. О., Абрамов А. В., Чекман І. С., Горчакова Н. О., Завгородній В. І., Мамчур В. І., Довгань Р. С., Георгієвський Г. В. ТОВ «НВО «Фарматрон». – № а 200906983; заяв. 03.07.09; опубл. 25.11.10. Бюл. № 22.

.Г. В. Георгиевский, А. А. Зинченко

**Определение содержания технологических примесей в субстанции
1-(β-фенилэтил)-4-амино-1,2,4-триазолия бромида**

Доказана возможность применения ВЭЖХ, ГХ и ТСХ для разработки методики определения технологических примесей в субстанции 1-(β-фенилэтил)-4-амино-1,2,4-триазолия бромида, обладающей антигипертензивным действием. Методика позволяет провести оценку критических показателей качества субстанции.

Ключевые слова: критические показатели качества, ВЭЖХ, ГХ, ТСХ технологические примеси, 1-(β-фенилэтил)-4-амино-1,2,4-триазолия бромид

G. V. Georgiyevsky, A. A. Zinchenko

**Determination of the process-related impurities in a substance
of 1-(β-phenylethyl)-4-amino-1,2,4-thiazolyl bromide**

It has been proved that such methods as HPLC, GC, as well as TLC are useful for the development of the procedure for determining the process-related impurities in a substance of 1-(β-phenylethyl)-4-amino-1,2,4-thiazolyl bromide that has antihypertensive property. The procedure permits to estimate the critical quality values of the substance.

Key words: critical quality values, HPLC, GC, TLC, process-related impurities, 1-(β-phenylethyl)-4-amino-1,2,4-thiazolyl bromide

Надійшла: 02.10.2012 р.

Контактна особа: Георгієвський Г. В., старший науковий співробітник, відділ ДФУ, ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», вул. Астрономічна, 33, м. Харків, 61085. Тел.: +38 (050) 862-222. Електронна адреса: krakogen@mail.ru

І. В. Геращенко

Токолітична активність похідних імідазо [1,2- α]азепінію

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

Ключові слова: похідні імідазо [1,2- α]азепінію, ізольовані препарати гладеньком'язових органів, спазмолітична (токолітична) активність

Проблема передчасних пологів (ПП) актуальна не лише для економічно занепалих країн, зростання кількості передчасно новонароджених характерно і для економічно розвинених регіонів [8]. В Україні станом на 2010 р. кількість ПП становить 6–7 випадків на 100 пологів. Етіологія ПП є не вивченою, хоча відмічений її взаємозв'язок з анатомічними, генетичними, ендокринними, інфекційними та імунними факторами впливу [5].

Клініцистами для вирішення даної проблеми використовується токолітична терапія. На маточні скорочення можуть діяти препарати декількох груп, що мають різні місця впливу на міометрій: блокатори окситоцинових рецепторів, β -адреноміметики, інгібітори циклооксигенази, препарати магнію та блокатори кальцієвих каналів [3].

Кожна група препаратів відрізняється не лише за ефективністю та частотою використання, але й за кількістю протипоказань та виражених побічних ефектів [10].

Зокрема, при використанні блокаторів окситоцинових рецепторів, а саме препарату атозібан, відмічена тенденція до зменшення маси тіла новонароджених, збільшення випадків перинатальних захворювань та смертності серед немовлят. При застосуванні для токолітичної терапії нестероїдних протизапальних препаратів були відмічені побічні реакції не лише в плода чи новонародженого, але й у матері. Серед побічних реакцій у матері зареєстровані нудота, езофагальний рефлюкс, гастрит, блювота, порушення системи

згортання крові, у новонародженого – відкритий артеріальний протік [6]. Не менший перелік побічних ефектів характерний і для препаратів із групи β -адреноміметиків. Зокрема, у плода розвивається тахікардія, а в матері окрім тахікардії – тремор, гіпотензія, задуха, дискомфорт у грудній клітині, гіпокаліємія, гіперглікемія. Клінічні дослідження доводять здатність β_2 -адреноміметиків зменшувати ризик передчасних пологів, але значного зниження перинатальних захворювань та смертності не спостерігалось. У клінічній практиці досліджується використання препаратів магнію. Ефективність магнію сульфату, з його вірогідною небезпекою для життя плода, так і не була доведена протягом десятиліть, зараз у клініці використовують препарат Магне-В₆ [7]. Ефективність препарату доведена клінічними дослідженнями, хоча перелік побічних дій препарату суттєво не зменшився [9]. Представник групи блокаторів кальцієвих каналів – ніфедипін – має доведену клінічно токолітичну активність та здатен пролонгувати вагітність на 4–6 діб [11]. Побічна дія препарату на плід та матір достовірно не вивчена [13].

У світі та на теренах України здійснюється пошук перспективних речовин з іншими механізмами дії, наприклад, нейротропні та міотропні спазмолітики, антагоністи серотонінових рецепторів, гормональні препарати. Але найперспективнішим напрямом у створенні нових лікарських засобів з утеролітичною активністю, на наш погляд, є синтез сполук, що належать до групи міотропних спазмолітиків – блокаторів Ca^{2+} -каналів чи активаторів АТФ-залежних K^{+} -каналів. Такі властивості за попереднім PASS прогнозом можливо притаманні похідним імідазо [1,2- α]азепінію. З віртуально створеної

бази сполук ми відібрали для скринінгових досліджень на ізольованих смужках рогів матки щурів можливі блокатори Ca^{2+} -каналів та активатори K^{+} -каналів.

Мета дослідження – вивчення впливу похідних імідазо [1,2-а]азепінію на скоротливу активність матки.

Матеріали та методи. Дослідження було проведено на ізольованих смужках рогів матки білих безпорідних щурів жіночої статі масою 195 ± 10 г розведення віварію ПП «Біомодельсервіс». Тварин утримували за температури $22-24^\circ\text{C}$ з 14-годинним світловим періодом доби на стандартному харчовому раціоні віварію за умови вільного доступу до води.

Усі самиці щурів були взяті в експеримент під час стадії естрального циклу – дієструс. Визначення стадії естрального циклу здійснювали шляхом аналізу вагінальних мазків. Вагінальні мазки брали щоденно з 8 до 10 год ранку, фіксований час доби пов'язаний з циркадними ритмами регуляції та функціонування репродуктивної системи самиць та змінами інтенсивності обмінних процесів.

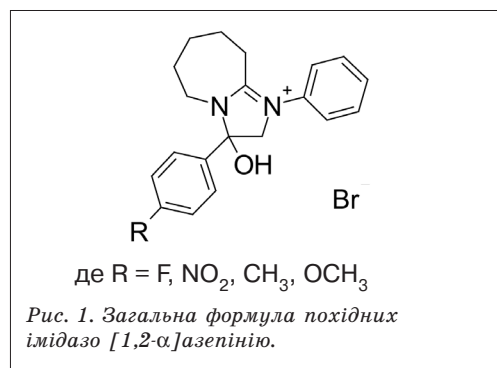
Перед початком експерименту тварину зважували та відсаджували, залишаючи її без доступу до їжі та води протягом 1 год. Після евтаназії шляхом цервікальної дислокації проводили виділення лівого та правого рогу матки. Після виділення біологічний матеріал розміщували в аерованому розчині Кребса наступного складу (у ммоль/л): NaCl -132; KCl -4,7; NaH_2PO_4 -1,4; NaHCO_3 -16,3; CaCl_2 -2,5; MgCl_2 -1,05; глюкоза-6,5. Аерацію розчину здійснювали карбогеном (газова суміш 5 % CO_2 / 95 % O_2) [1].

Після очищення рогу матки від жирової та сполучної тканини краніально біля маточної труби відрізали кільце завширшки в 5 мм. Відрізане кільце розрізали на поперечні смужки та фіксували їх у проточній камері на двох сталевих гачках із попереднім навантаженням 2 mN. Камеру об'ємом 0,5 мл перфузували розчином Кребса зі швидкістю 0,7 мл/хв, температуру підтримували на постійному рівні $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

Після попереднього навантаження здійснювали адаптацію ізольованих

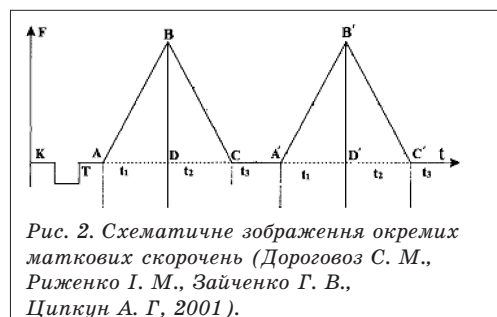
препаратів до стабілізації фазних скорочень не менше 40 хв, після чого протягом 20 хв реєстрували вихідні спонтанні скорочення ізольованих смужок. Вихідне тонічне скорочення викликали окситоцином у концентрації 0,1 МО/мл упродовж 20 хв. Потім на фоні констриктора додавали до буферного розчину досліджувану речовину в концентраціях 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} моль/л.

У дослідженнях було визначено токолітичну активність похідних імідазо [1,2-а]азепінію, синтезованих у відділі синтезу фізіологічно активних речовин ДУ «ІФТ НАМНУ». Сполуки IFT_000176 (-OCH₃); IFT_000177 (-NO₂); IFT_000178 (-CH₃); IFT_000233 (-F) загальної формули:



У ході експерименту реєстрували скоротливу активність міометрію та вимірювали наступні параметри скорочення-розслаблення: серед горизонтальних («часових») параметрів – тривалість фази скорочення (AD) та розслаблення (DC), інтервал між циклами скорочень (CA'), тонус (Т), а також вимірювали один вертикальний («енергетичний») параметр – амплітуду скорочення (DB) (рис. 2) [4].

Максимальну амплітуду скорочення виражали у відсотках відносно скоро-



чення окситоцином (0,1 МО/мл), яку приймали за 100 %. Потім відносно рівня максимального скорочення розраховували ефективність розслаблення (за параметром максимальна амплітуда) та процент збільшення часу фази скорочення, часу фази розслаблення, інтервалу між скороченнями ізольованих смужок при різних концентраціях досліджуваних речовин (10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} моль/л). Ефективність розслаблення порівнювали з дією ніфедипіну (10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} моль/л), який був використаний як препарат порівняння. Треба відзначити, що максимальний ефект за різними параметрами механограми був відмічений при різних концентраціях досліджуваних сполук.

Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою комп'ютерної програми Origin 7.5 та Microsoft Office Excel 2007. Для виявлення достовірної різниці в середині групи між концентраціями використовували t-критерій Стьюдента, порівняння між різними дослідними групами здійснювали за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу, використовуючи метод Tukey.

Результати та їх обговорення. Згідно з отриманими результатами, сполуки IFT_000177 та IFT_000176 розслаблювали тонічно скорочені смужки рогу матки, знижуючи максимальну амплітуду скорочення за найменшої з досліджених концентрацій 10^{-7} моль/л. На рисунку 3 представлено величини розслаблення за дії цих двох сполук порівняно з ніфедипіном.

Сполука IFT_000177 значною мірою зменшувала амплітуду скорочення ізольованих смужок міометрію. Можливим механізмом дії цієї сполуки може бути її вплив на концентрацію внутрішньоклітинного кальцію, за

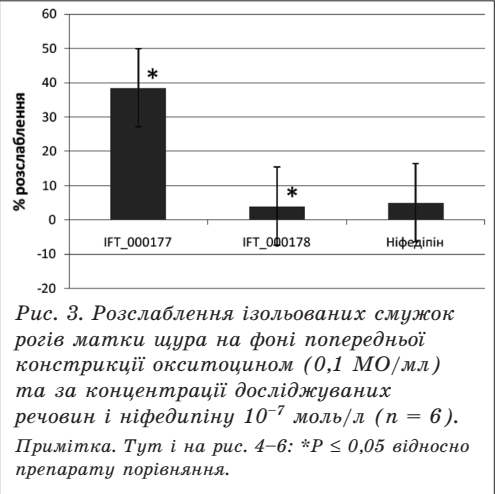


Рис. 3. Розслаблення ізольованих смужок рогів матки щура на фоні попередньої констрикції окситоцином (0,1 МО/мл) та за концентрації досліджуваних речовин і ніфедипіну 10^{-7} моль/л ($n = 6$). Примітка. Тут і на рис. 4–6: * $P \leq 0,05$ відносно препарату порівняння.

рахунок безпосередньої блокади кальцієвих каналів чи опосередкованого зменшення кальцієвої провідності внаслідок активації АТФ-залежних калієвих каналів.

Максимальне збільшення параметра «час фази скорочення» відмічено для сполуки IFT_000177, яке сягало значення 101 % (концентрація 10^{-5} моль/л). Сполуки IFT_000176 та IFT_000233 значно не впливали на даний «часовий» параметр (таблиця). У структурі сполуки IFT_000177 є катіон електрофільної будови, а структура IFT_000176, для якої за вищезгаданими параметрами характерна менш виражена активність, виступає нуклеофільним реагентом. Вірогідно, що подовження часу скорочення значною мірою пов'язане з наявністю в органічній структурі електрофільних радикалів (рис. 1), що можуть впливати на гормональну регуляцію скорочення міометрію.

Тиск, що створюється в порожнині матки, повинен змінюватися поступово, не мати різких коливань. Таких умов

Таблиця

Вплив похідних імідазо[1,2- α]азепінію на тривалість фази скорочення ізольованих смужок рогів матки ($n=6$)

Речовина та її концентрація		Час фази скорочення, с	Подовження часу фази скорочення, %
IFT_000177	10^{-6} моль/л	$17,10 \pm 3,92^*$	101,00
IFT_000176	10^{-6} моль/л	$18,20 \pm 1,06^*$	15,50
IFT_000233	10^{-6} моль/л	$10,80 \pm 1,02^*$	1,40
Ніфедипін	10^{-6} моль/л	$25,80 \pm 1,59$	36,88

Примітка. * $P \leq 0,05$ відносно препарату порівняння.



можна досягти лише за збільшення «часових» параметрів. Окрім фази скорочення, досліджені речовини суттєво впливали і на час фази розслаблення. Зокрема, сполука IFT_000178 збільшувала період фази розслаблення майже на 31 %, у той час, як препарат порівняння ніфедипін – на 16 % (концентрації досліджуваних речовин 10^{-6} моль/л) (рис. 4).

Інтервал між циклами скорочень визначає частоту маткових скорочень. На 140 % подовжувала цей інтервал сполука IFT_000233, що має у своїй структурі галогеновий радикал – флуор (рис. 1). Структура IFT_000177, що також виступає електрофільним реагентом, збільшувала цей інтервал, перевершуючи препарат порівняння. Можливо припустити, що вплив на інтервал між циклами скорочень спричинений наявністю в досліджуваних структурах електрофільних радикалів (рис. 5).

Параметром скоротливої активності, що також впливає на тиск у порожнині матки та маткового рогу, є тонус. Спонтанні та неконтрольовані скорочення м'язового шару (гіпертонус) матки є однією із причин викиднів та передчасних пологів.

Зниження тонуусу свідчить про виражений спазмолітичний ефект досліджуваних сполук (рис. 6). Найефективнішою виявилася структура IFT_000176. Враховуючи той факт, що на скорочення м'язового шару міометрію (тонус) впливає простагландин F2 α (ПГ F2 α) [2], можна припустити, що механізм дії сполуки IFT_000176 полягає в блоkadі синтезу цього простагландину (або його рецептора) та простагландинів F2, які активують синтез ПГ F2 α [2].

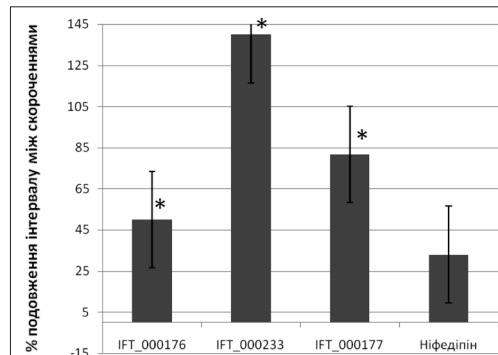


Рис. 5. Інтервал між циклами скорочень ізолюваних смужок рогів матки щура на фоні попередньої констрикції окситоцином (0,1 МО/мл) та за концентрації досліджуваних речовин і ніфедипіну 10^{-7} моль/л ($n = 6$).

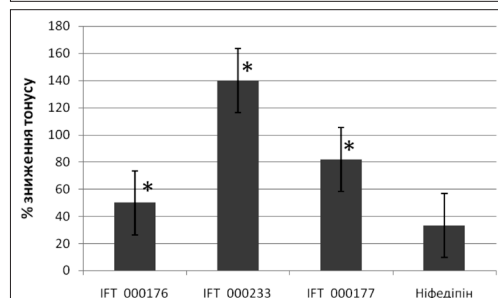


Рис. 6. Тонус ізолюваних смужок рогів матки щура на фоні попередньої констрикції окситоцином (0,1 МО/мл) та за концентрації досліджуваних речовин і ніфедипіну 10^{-7} моль/л ($n = 6$).

За PASS прогнозом досліджувані нами речовини були визначені як спазмолітичні сполуки, що активують K⁺- та блокують Ca²⁺-канали. У результаті наших досліджень встановлено, що похідні імідазо [1,2- α]азепінію зменшують скорочення, викликані окситоцином. Також розслаблення міометрію можливо компенсувалося іншими шляхами, наприклад, впливом на синтез ПГ F2 α чи здатність ПГ F2 α активувати потенціалкеровані Ca²⁺-канали L-типу. Однак не можна виключити вплив даних сполук на окситоцинові рецептори.

Висновки

1. Похідні імідазо [1,2- α]азепінію викликають зменшення амплітуди скорочення, подовження часу фаз скорочення та розслаблення, збільшення інтервалу між циклами ско-

рочення ізольованих смужок матки на фоні окситоцинової констрикції (0,1 МО/мл).

2. Сполуки IFT_000176, IFT_000177, IFT_000178 та IFT_000233 за зменшенням амплітуди скорочення, подо-

вженням тривалості фаз скорочення та розслаблення, збільшенням інтервалу між циклами скорочення ізольованих смужок матки проявляють більш виражений ефект, ніж препарат порівняння ніфедипін.

1. Блаттнер Р. Эксперименты на изолированных препаратах гладких мышц / Блаттнер Р., Классен Х., Денерт Х., Деринг Х.: Пер. с англ. – М.: Мир, 1983. – 208 с.
2. Гаспарян Н. Д. Современные представления о механизме регуляции сократительной деятельности матки / Гаспарян Н. Д., Карева Е. Н. // Рос. вестник акушера-гинеколога. – 2003. – V. 3, № 2. – С. 21–27.
3. Доброхотова Ю. Э. Угроза преждевременных родов. Новые аспекты и возможности комплексной терапии / Доброхотова Ю. Э., Джабава Э. М., Моисеева Н. Б. // Рос. вестник акушера-гинеколога. – 2005. – V. 5, № 3. – С. 60–61.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) За редакцією: чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.
5. Радзинский В. Е. Преждевременные роды / Радзинский В. Е., Костин И. Н. // Акушерство и гинекология. – 2009. – № 4. – С. 16–19.
6. Amin S. B. Meta-analysis of the effect of antenatal indomethacin on neonatal outcomes / Amin S. B., Sinkin R. A., Glantz J. C. // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2007. – V. 197. – P. 486.E1-486.E10
7. Reducing maternal mortality from eclampsia, using magnesium sulphate / Begum R., Begum A., Bullough C. H., Johanson R. B. // Eur. J. Obstet. Gynec. Reprod. Biol. – 2000. – V. 92, № 2. – P. 223–224.
8. Berman N. D. Tocolytic treatment for the management of preterm labor: A review of the evidence / Berman N. D., Thorp J. M., Lohr K. N. // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2003. – V. 188, № 6. – P. 1548–1659.
9. Comparison of magnesium sulfate, terbutaline and a placebo for inhibition of preterm labor / Cotton D. B., Strassner H. T., Hill L. M. [et al.] // J. Reprod. Med. – 1984. – V. 29. – P. 92–97.
10. Di Renzo G. C. Safety and efficacy of new drugs in preterm labour / Di Renzo G. C. // Expert Review of Obstetrics and Gynecology. – 2007. – V. 2, № 1. – P. 19–24.
11. Glock J. L. Efficacy and safety of nifedipine versus magnesium sulfate in the management of preterm labor: A randomized study / Glock J. L., Morales W. J. // Am. J. Obstet. Gynecol. – 1993. – № 169. – P. 960–964.
12. Goldenberg R. L. The management of preterm labor / Goldenberg R. L. // Obstet. Gynecol. – 2002. – V. 100. – P. 1020–1037.
13. Calcium channel blockers for inhibiting preterm labour / King J. F., Flenady V. J., Papatsonis D. N. [et al.] // Cochrane Database Syst. Rev. – 2003. – № 1. – CD002255.

И. В. Геращенко

Токолитическая активность производных имидазо [1,2-α]азепиния

Исследованы токолитические свойства производных имидазо [1,2-α]азепиния на изолированных полосках миометрия крыс. Показано, что на фоне окситоциновой констрикции вещества проявляют активность в концентрации 10^{-7} моль/л. По влиянию на некоторые параметры, а именно – амплитуду сокращений, время сокращения, время расслабления, интервал между сокращениями, тонус, исследуемые соединения превосходят препарат сравнения – нифедипин. Среди производных имидазо [1,2-α]азепиния можно выделить перспективные соединения для дальнейших исследований, а именно, IFT_000176, IFT_000177, IFT_000178 и IFT_000233.

Ключевые слова: производные имидазо [1,2-α]азепиния, изолированные препараты гладкомышечных органов, спазмолитическая (токолитическая) активность

I. V. Herashchenko

The tocolytic activity of imidazo [1,2-α]azepine derivatives

In this study, were investigated the effects of derivatives imidazo [1,2-α]azepine on of isolated uterine strips. Pre contraction of isolated rats strips was induced using oxytocin (0,1 IU/ml). By some parameters, namely – the amplitude of contractions, time reduction, relaxation time, the time between the contraction cycle, the tone, the studied compounds exhibit more pronounced effects than the reference substance nifedipine.

Key words: derivatives of imidazo [1,2-α]azepine, isolated preparations of smoothly muscular organs, spasmolytic (tocolytic) activity

Надійшла: 02.10.2012 р.

Контактна особа: Геращенко Інна Василівна, аспірант, відділ фармакології серцево-судинних засобів, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», вул. Єжена Потье, 14, м. Київ, 03680. Тел.: + 38 (044) 456-82-90. Електронна адреса: InnaGer@bk.ru

О. В. Геруш¹, Л. В. Яковлєва², О. Б. Леницька², Є. М. Горбань³

Вплив нового комбінованого рослинного препарату капсул «Гепафісан» на розвиток запальної реакції

¹Буковинський державний медичний університет²Національний фармацевтичний університет, м. Харків³ДУ «Інститут геронтології НАМН України», м. Київ

Ключові слова: захворювання печінки, запальна реакція, капсули «Гепафісан»

Дія різноманітних пошкоджуючих факторів на організм людини викликає включення захисних механізмів, одним з яких при захворюваннях печінки є розвиток запальної реакції [1]. Запалення в печінці супроводжується порушенням мембранної проникності, що є результатом ініціації патологічними агентами процесів вільнорадикального окиснення [2]. Рослинні поліфенольні сполуки, стабілізуючи мембрани й бар'єри за рахунок антиоксидантних властивостей, здатні послаблювати й навіть усувати ексудативний компонент запальної реакції [3]. Крім того, рослинні флавоноїди мають здатність впливати на ферментні системи, зокрема циклооксигеназну (ЦО) і ліпоксигеназну (ЛО) [4, 5], і на активність медіаторів запалення – простагландинів (ПГ) та лейкотрієнів (ЛТ) [6]. Ці медіатори утворюються внаслідок циклооксигеназного та ліпоксигеназного метаболізму арахідонової кислоти, і в нормі виконують різні фізіологічні функції в організмі, однією з яких є регуляція мікроциркуляції та проникності судинних стінок і клітинних мембран [7].

Наявність у складі капсул «Гепафісан» рослинних поліфенолів, для яких відома протизапальна активність, гепатозахисні властивості [8], стало обґрунтуванням для проведення дослідження протизапальних властивостей досліджуваного препарату. *Мета дослідження* – визначення протизапальної активності нового комбінованого рослинного препарату капсул «Гепафісан».

Матеріали та методи. Ураховуючи, що гуморальними біорегуляторами функцій гепатобіліарної системи як у нормі, так і за впливу на організм різних пошкоджуючих факторів, є ПГ та ЛТ, у дослідженнях використовували моделі запалення, викликані цими флогогенними агентами, – карагеніновий та зимозановий набряки згідно з методичними рекомендаціями [9].

Гострий карагеніновий набряк викликали в 38 щурів масою 185–200 г субплантарним введенням у праву задню лапу 0,1 мл 1 % розчину карагеніну [9].

Зимозановий набряк викликали в 36 щурів масою 200–220 г субплантарним введенням 0,1 мл зимозану у вигляді 2 % суспензії [9].

Капсули «Гепафісан» вивчали в умовнотерапевтичних дозах 54 і 108 мг/кг, встановлених за гепатопротекторною активністю [8]. Як референтні препарати використовували – «золотий стандарт» за протизапальною активністю, інгібітор ЦО/ЛО – таблетки «Ортофен» (виробництва ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я») у дозі 8 мг/кг, інгібітор ЛО – таблетки «Кверцетин» (виробництва ЗАТ НВЦ «Борщівський ХФЗ») у дозі 50 мг/кг, інгібітор ЦО – таблетки «Індометацин» (виробництва Харківське державне фармацевтичне підприємство «Здоров'я народу») у дозі 10 мг/кг і аналог за фармакологічною дією – гепатопротектор капсули «Гепабене» (виробництва Merkle, Німеччина) у дозі 88 мг/кг. Дози референтних препаратів при проведенні досліджень розраховували за допомогою коефіцієнтів видової стійкості Ю. Р. Рибоволєва, виходячи з добової дози для людини [9].

Досліджувані та референтні препарати вводили щурам внутрішньошлунково за 1 год до ін'єкції флогогенного агента. Тваринам групи позитивного контролю вводили воду. За розвитком набряку спостерігали в динаміці через 1, 2, 3, 4 і 5 год (карагеніновий набряк) та через 0,5, 1, 2, 3 та 4 год (зимозановий набряк), для чого вимірювали об'єм лап за допомогою механічного онкометра за А. С. Захаревським [9].

Протизапальну активність (ПЗА) визначали за ступенем зменшення набряку в дослідних тварин порівняно з контрольними й виражали в %. Результати розраховували за формулою:

$$\text{ПЗА} = \frac{P_k - P_d}{P_k} \cdot 100 \%,$$

де:

P_k – середня різниця в об'ємі набряклої лапи й вихідних даних у контролі;

P_d – середня різниця в об'ємі набряклої лапи й вихідних даних у дослідній групі.

Результати та їх обговорення. Результати дослідження показали, що таблетки «Ортофен» та «Індометацин» значно перевершують комплексні рослинні препарати капсули «Гепафісан» і «Гепабене» за виразністю антиексудативної дії. Через 1 год після введення карагеніну індометацин та через 2 год – ортофен достовірно знижували запалення відносно позитивного контролю (табл. 1). Максимум дії спостерігали на 3 год експерименту в період виділення ПГ [10], що підтверджує антициклооксигеназну активність референтних препаратів.

Протизапальну активність капсул «Гепафісан» у дозі 108 мг/кг при виразній тенденції до зменшення набряку спостерігали впродовж 1 та 2 год від початку запалення (39 % та 25 % відповідно) у період виділення медіаторів запалення – гістаміну та кінінів. З 3 год досліді і до кінця експерименту активність досліджуваного препарату в дозі 108 мг/кг була низькою (11 %) та статистично недостовірною (фаза дії ПГ). На даній моделі на 1 год капсули «Гепафісан» у дозі

54 мг/кг виявили дуже помірну недостовірну ПЗА, яка дорівнювала 19 %. Співставлення ПЗА двох доз гепафісану вказує на його дозозалежний ефект.

Референтний препарат – капсули «Гепабене» не виявив протизапальної дії на даній моделі.

На моделі зимозанового набряку в тварин групи позитивного контролю спостерігали виразний набряк лапи впродовж усього експерименту: через 30 хв – наростання набряку, максимум – на 1 год експерименту, та потім незначне його зниження впродовж наступних 3 год до кінця досліді (табл. 2). Капсули «Гепафісан» у дозі 54 мг/кг достовірно відносно позитивного контролю пригнічували набряк на 1 та 2 год експерименту від його початку і мали помірну активність 20 % та 26 % відповідно (табл. 2). Досліджуваний препарат у дозі 108 мг/кг упродовж усього експерименту достовірно відносно позитивного контролю стримував розвиток набряку та виявляв виразну ПЗА, але найбільшу ПЗА спостерігали на 1 год досліді (50 %) (табл. 2). Ураховуючи, що ЛТГ на ранній стадії зимозанового набряку відводять провідну роль [12], отримані результати є підтвердженням наявності в капсул «Гепафісан» в обох досліджених дозах антиліпооксигеназної активності, більш виразної в дозі 108 мг/кг.

Референтні препарати – капсули «Гепабене» і таблетки «Кверцетин», також упродовж експерименту достовірно відносно позитивного контролю пригнічували набряк і виявили виразну протизапальну активність на даній моделі, максимум якої спостерігали на 2 год досліді (табл. 2).

Таблетки «Ортофен» достовірно порівняно з позитивним контролем знижували набряк упродовж 4 год експерименту. Протизапальна активність референтного препарату зростала з 1 год упродовж експерименту та становила 57,8 % через 4 год (табл. 2) на тлі достовірного зниження ПЗА капсул «Гепафісан» у дозі 54 мг/кг. Аналіз ПЗА таблеток «Ортофен» на двох експериментальних моделях свідчить про те, що даний препарат має подвійний механізм протизапальної дії – є інгібітором ЦО та ЛО.

Таблиця 1

Вплив капсул «Гепафісан» на розвиток запалення на моделі карогенінового набряку в щурів, (n = 6-8)

Експериментальна група	Динаміка набряку лапи, мм							
	Через 1 год		Через 2 год		Через 3 год		Через 4 год	
	$\Delta V, x \pm Sx$	ПЗА, %	$\Delta V, x \pm Sx$	ПЗА, %	$\Delta V, x \pm Sx$	ПЗА, %	$\Delta V, x \pm Sx$	ПЗА, %
Позитивний контроль	10,67 $\pm$ 1,28	-	12,33 $\pm$ 2,20	-	18,17 $\pm$ 2,33	-	19,00 $\pm$ 3,15	-
Ортофен, 8 мг/кг	7,50 $\pm$ 0,53	30	7,25 $\pm$ 0,59*	41	8,75 $\pm$ 1,11*	52	12,12 $\pm$ 1,60	36
Гепафісан, 54 мг/кг	8,63 $\pm$ 0,84	19	12,50 $\pm$ 1,48**/+	-	18,37 $\pm$ 2,21***/+	-	19,00 $\pm$ 1,75	0
Гепафісан, 108 мг/кг	6,50 $\pm$ 1,21*	39	9,29 $\pm$ 1,38**/+	25	16,25 $\pm$ 1,88***/+	11	17,75 $\pm$ 1,88	7
Гепабене, 88 мг/кг	9,71 $\pm$ 1,04	9	17,37 $\pm$ 1,94***	-	22,14 $\pm$ 3,04***	-	23,50 $\pm$ 3,56***	-
Індометацин, 10 мг/кг	6,63 $\pm$ 0,53*	38	4,25 $\pm$ 0,49*	66	7,25 $\pm$ 0,70*	60	10,75 $\pm$ 0,65	43
							12,25 $\pm$ 0,59	10

Примітка. *Відхилення показника достовірно відносно позитивного контролю, $P < 0,05$; **відхилення показника достовірно відносно референтного препарату капсул «Гепабене», $P < 0,05$; ***відхилення показника достовірно відносно референтного препарату таблеток «Ортофен», $P < 0,05$; +відхилення показника достовірно відносно референтного препарату таблеток «Індометацин», $P < 0,05$; n – кількість тварин у групі.

Таблиця 2

Вплив капсул «Гепафісан» на розвиток запалення на моделі зимозанового набряку лапи в щурів, (n = 6)

Експериментальна група	Динаміка набряку лапи, мм							
	Через 30 хв		Через 1 год		Через 2 год		Через 3 год	
	$\Delta V, x \pm Sx$	ПЗА, %	$\Delta V, x \pm Sx$	ПЗА, %	$\Delta V, x \pm Sx$	ПЗА, %	$\Delta V, x \pm Sx$	ПЗА, %
Позитивний контроль	24,83 $\pm$ 0,91	-	27,00 $\pm$ 0,97	-	26,50 $\pm$ 0,81	-	25,50 $\pm$ 1,26	-
Гепафісан, 54 мг/кг	22,33 $\pm$ 0,80	10	21,67 $\pm$ 1,86	20	19,67 $\pm$ 2,20	26	22,33 $\pm$ 2,64	12
	/*/*/*/*/*		*/**		*/****		**/*/*/*/*/*/+	
Гепафісан, 108 мг/кг	15,00 $\pm$ 1,18*	40	13,50 $\pm$ 0,62*	50	16,67 $\pm$ 1,93*	37	16,83 $\pm$ 1,74*	34
Гепабене, 88 мг/кг	14,50 $\pm$ 0,81*	42	17,00 $\pm$ 2,16*	37	14,83 $\pm$ 1,92*	44	14,33 $\pm$ 1,73*	44
Ортофен, 8 мг/кг	14,67 $\pm$ 1,67*	41	12,50 $\pm$ 2,53*	54	12,17 $\pm$ 1,74*	54	12,33 $\pm$ 1,38*	52
Кверцетин, 50 мг/кг	16,50 $\pm$ 1,28*	34	15,83 $\pm$ 1,72*	41	13,50 $\pm$ 0,99*	49	14,50 $\pm$ 1,73*	43
Індометацин, 10 мг/кг	19,33 $\pm$ 1,28*	22	16,67 $\pm$ 1,41*	38	16,17 $\pm$ 1,47*	39	15,33 $\pm$ 1,56*	40
							15,83 $\pm$ 1,40*	38

Примітка. *Відхилення показника достовірно відносно позитивного контролю, $P < 0,05$; **відхилення показника достовірно відносно референтного препарату капсул «Гепабене», $P < 0,05$; ***відхилення показника достовірно відносно референтного препарату таблеток «Ортофен», $P < 0,05$; +відхилення показника достовірно відносно референтного препарату таблеток «Кверцетин», $P < 0,05$; +відхилення показника достовірно відносно референтного препарату таблеток «Індометацин», $P < 0,05$; n – кількість тварин у групі.

Індометацин виявив ПЗА на рівні 22 % через 30 хв після введення флогогену, через 3 год вона дорівнювала 40 %. Одержані дані корелюють із відомостями про те, що індометацин є сильним інгібітором ЦО та незначно пригнічує ЛО [10, 11].

Аналіз протизапальної дії капсул «Гепатісан» у дозі 54 та 108 мг/кг показав, що як і капсули «Гепабене» у дозі 88 мг/кг на моделі карагенінового набряку поступалися за активністю інгібітору ЦО/ЛО – ортофену в дозі 8 мг/кг та інгібітору ЦО – індометацину в дозі 10 мг/кг, але на відміну від референтного препарату «Гепабене» капсули «Гепатісан» у дозі 108 мг/кг виявили значущу протизапальну дію на ранній стадії набряку. Таким чином, можна припустити, що досліджуваний препарат має ПЗА, пов'язану з впливом на гістамін та кініні [11].

На моделі зимозанового набряку, в основі якої лежить ліпооксигеназний механізм дії, капсули «Гепатісан» у дозі 108 мг/кг виявили виразну протизапальну активність на рівні референтних препаратів (капсул «Гепабене» та таблеток «Кверцетин»). У дозі 54 мг/кг досліджуваний препарат значно поступався за виразністю протизапальної дії.

Відсутність впливу капсул «Гепатісан» на простагландинову фазу запалення (модель карагенінового набряку) забезпечує відсутність ульцерогенного ефекту, який притаманний інгібіторам ЦО, що характеризує важливу позитивну властивість досліджуваного препарату. Крім того, за даними літератури [11], ПГ чинять позитивний вплив на функцію печінки. Вони підвищують функціональну напругу гепатоцитів через стимуляцію мікроциркуляції та біохімічних процесів, що забезпечує певну метаболічну стабільність клітин.

Тому відсутність впливу на активність ПГ у капсул «Гепатісан» у дозах 54 та 108 мг/кг дає можливість передбачити відсутність токсичної дії досліджуваного препарату на функціональний стан печінки та здатність підтримувати її фізіологічні функції.

Необхідно враховувати, що ЛТ є пошкоджуючими факторами при захворюваннях печінки, оскільки здатні стимулювати та підтримувати розвиток запального процесу, а гальмування метаболізму й ефектів ЛТ може бути одним із механізмів зменшення запального процесу. Тому переважний вплив на ліпооксигеназний метаболізм арахідонової кислоти в механізмі протизапальної дії капсул «Гепатісан» є важливою позитивною особливістю фармакологічної дії препарату.

Висновки

Капсули «Гепатісан» на 2-х експериментальних моделях – карагеніновому та зимозановому набряках, виявили протизапальний ефект, виразність якого залежить від дози препарату та використаної моделі патології.

На моделі зимозанового набряку встановлено виразну протизапальну активність капсул «Гепатісан» у дозі 108 мг/кг, що свідчить про його спроможність впливати на виділення лейкотрієнів. У дозі 54 мг/кг досліджуваний препарат має значно меншу протизапальну активність.

На моделі карагенінового набряку капсули «Гепатісан» мали незначну протизапальну активність, імовірно пов'язану з впливом на гістамін і кініні, а не на активність простагландинів.

Таким чином, можна передбачити, що одним із механізмів протизапальної дії капсул «Гепатісан» є антиліпооксигеназний.

1. Дрогозов С. М. Механізм гепатозахисної дії тіотриазоліну / Дрогозов С. М., Сальникова С. І. // Вісник фармації. – 1995. – № 1–2. – С. 73–76.
2. Фармакологическая регуляция воспаления / Ф. П. Тринус, Б. М. Клебанов, И. М. Ганджа, Р. Д. Сейфулла. – К.: Здоров'я, 1987. – 144 с.
3. Барабой В. А. Биологическое действие растительных фенольных соединений / В. А. Барабой. – К.: Наук. думка, 1976. – 260 с.
4. Ковалев В. Б. Механизмы лечебного действия биофлавоноида кверцетина (обзор литературы) / Ковалев В. Б., Ковган В. В., Колчина Е. Ю. // Укр. мед. альманах. – 1999. – Т. 2, № 4. – С. 176–184.
5. Robak Jadwiga. Bioactivity of flavonoids / Robak Jadwiga, Gryglewski Ryszard J. // Pol. J. Pharmacol. – 1996. – V. 48, № 6. – P. 555–564.

-
6. Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance / Bravo L. // Nutr. Rev. – 1998. – № 56. – P. 317–333.
 7. Павловский М. П. Роль производных метаболического каскада арахидоновой кислоты в регуляции функций гепатобилиарной системы в норме и патологии / Павловский М. П., Оборин А. Н., Зубачик Р. М. // Лікарська справа. – 1994. – № 3–4. – С. 28–33.
 8. Яковлева Л. В. Скринінгове дослідження гепатозахисної активності капсул «Гепатісан» в умовах гострого гепатиту у щурів, викликаного тетрахлоретаном / Л. В. Яковлева, О. В. Геруш, О. Б. Леницька // Клінічна фармація. – 2011. – Т. 15, № 1. – С. 61–64.
 9. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації): за редакцією О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.
 10. Di Rosa M. Studies on the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine / Di Rosa M., Giroud J. P., Willoughby D. A. // J. Pathol. – 1971. – V. 104, № 15. – P. 29.
 11. Яковлева Л. В. Изыскание и изучение новых нестероидных противовоспалительных средств – производных дикарбоновых кислот: дисс. докт. фарм. наук. – Купавна, 1992. – 442 с.
 12. Gado K. Zymosan inflammation: A new method suitable for evaluating new anti-inflammatory drugs / K. Gado, G. Gigler // Agents and Actions. – 1991. – V. 32, № 1–2. – P. 119–121.

О. В. Геруш, Л. В. Яковлева, Е. Б. Леницкая, Е. Н. Горбань
Влияние нового комбинированного растительного препарата капсул «Гепатісан» на развитие воспалительной реакции

Одним из защитных механизмов при заболеваниях печени является развитие воспалительной реакции. Воспаление в печени сопровождается нарушением мембранной проницаемости. Растительные полифенольные соединения способны ослаблять и даже устранять экссудативный компонент воспалительной реакции. Наличие в составе капсул «Гепатісан» растительных полифенолов стало обоснованием для изучения противовоспалительных свойств препарата на моделях каррагенинового и зимозанового отека. Результаты исследования позволяют предположить, что в основе противовоспалительного действия капсул «Гепатісан» лежит антилипоксигеназный механизм.

Ключевые слова: заболевания печени, воспалительная реакция, капсулы «Гепатісан»

O. V. Gerush, L. V. Yakovleva, E. B. Lenitskaya, E. N. Gorban
The influence of «Hepafisan» capsules, a new combined phytoegenous drug, on the development of an inflammatory reaction

One of the protective mechanisms in liver diseases is the development of an inflammatory reaction. Inflammation in the liver is accompanied by the disturbance of membranous permeability. Phytoegenous polyphenol compounds are able to reduce or even to eliminate the exudative component of an inflammatory reaction. The presence of phytoegenous polyphenol compounds in «Hepafisan» capsules has become a reason to study antiinflammatory properties of the drug on the model of carrageenan-induced and zimozane-induced edema. The results shown that the antiinflammatory effect of «Hepafisan» capsules is based presumably on the antilipoxygenase mechanism of action.

Key words: liver diseases, an inflammatory reaction, «Hepafisan» capsules

Надійшла: 19.06.2012 р.

Контактна особа: Леницька Олена Борисівна, канд. фармац. наук, молодший науковий співробітник, Центральна науково-дослідна лабораторія, Національний фармацевтичний університет, вул. Мельникова, 12, м. Харків, 61002. Тел.: +38 (096) 385-15-05.
Електронна адреса: Lenitskaya_Elena@mail.ru

С. А. Демченко¹, О. С. Смольський², Л. С. Бобкова¹

Оцінка антиоксидантної та антирадикальної активності нових похідних 5-[2-(3,5-дитретбутил-4-гідроксифеніл)-2-оксоетил]-7-*R*-2-метил-[1,3]-тіазоло-[4,5-*d*]піридазин-4(5*H*)-ону в дослідках *in vitro*

¹ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ²Чернігівський національний педагогічний університет імені Т. Г. Шевченка

Ключові слова: антиоксидантна, антирадикальна активність, похідні [1,3-тіазоло-4,5-*d*]піридазин-4(5*H*)-ону

Сьогодні значну увагу дослідники приділяють пошуку нових хімічних речовин з антиоксидантною (АОА) та антирадикальною активністю (АРА), які призначені для корекції патологічних станів, зумовлених оксидативним стресом [1]. Останнім часом у комплексну терапію все частіше включають препарати, здатні інгібувати нітрозуючу дію пероксинітрит-радикала (NO). Зокрема, це препарати – аналоги L-аргініну: N-(ω)-нітро-L-аргінін метиловий ефір та N-(δ)-монометил-1-аргінін та глюкокортикоїди: преднізолон, дексаметазон [2].

На початкових етапах біологічного скринінгу потенційних лікарських засобів важливим є використання методів первинної оцінки антиоксидантної та антирадикальної активності сполук у дослідках *in vitro* [1, 2]. При цьому дослідження нових речовин доцільно проводити на кількох моделях ініціювання вільно-радикальних реакцій, що відтворюють різні етапи складного ланцюгового процесу активації вільно-радикального окиснення (ВРО) [3]. Зокрема, це вивчення антирадикальної активності на моделях із генерацією певного радикала та оцінка антиоксидантної активності речовин у різних тканинах за індукції вільно-радикальної патології [4].

Мета дослідження – пошук інгібіторів вільно-радикальних процесів у ряду

похідних 2-метил-7-*R*-[1,3]тіазоло [4,5-*d*]піридазин-4(5*H*)-ону.

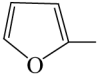
Матеріали та методи. Як об'єкт дослідження використовували синтезовані нові похідні 2-метил-7-*R*-[1,3]тіазоло [4,5-*d*]піридазин-4(5*H*)-ону, що представлені на схемі далі. Особливістю структур синтезованих похідних є наявність фрагмента молекули іонолу (2,6-ди-*трет*-бутилфенолу). Склад та структуру синтезованих сполук доведено даними ЯМР ¹H спектроскопії та елементного аналізу (табл. 1, 2).

Антиоксидантну (АОА) та антирадикальну активність (АРА) синтезованих сполук *in vitro* вивчали на моделях: ініціації утворення вільних радикалів кисню за умов неферментативного ПОЛ та накопичення активних форм оксиду азоту відповідно [5–7].

Для оцінки впливу досліджуваних речовин на інтенсивність протікання процесів ПОЛ у біологічному матеріалі як субстрат використовували емульсію ліпопротеїдів яєчного жовтка. Як систему генерування ПОЛ використовували суміш феруму (II) сульфату та аскорбінової кислоти. До емульсії ліпопротеїдів яєчного жовтка додавали 0,1 М калій-фосфатний буферний розчин (рН = 7) у співвідношенні 1:1 та розводили 1 мл отриманого розчину тим самим буфером у 25 разів. Окиснювальний стрес відтворювали на моделі аскорбат-залежного неферментативного ПОЛ. Для цього до 2 мл біологічного матеріалу додавали 0,5 мл системи «Fe²⁺ + аскорбат». Остання містила розчин 0,2 мМ FeSO₄ та розчин 0,5 мМ аскорбінової кислоти. Потім в отриманий розчин

Таблиця 1

Фізико-хімічні властивості похідних 5-[2-(3,5-дитретбутил-4-гідроксифеніл)-2-оксоетил]-7-R-2-метил-[1,3]-тіазоло- [4,5-d]піридазин-4(5H)-ону

Сполука	R	Т.пл., °C	Вихід, %	Емпірична формула	Знайдено, %		Вирахувано, %	
					N	S	N	S
3a	4-CH ₃ OC ₆ H ₄	151-3	74	C ₂₉ H ₃₃ N ₃ O ₄ S	8,17	6,24	8,09	6,17
3b	3-CH ₃ OC ₆ H ₄	103-5	69	C ₂₉ H ₃₃ N ₃ O ₄ S	8,21	6,27	8,09	6,17
3c	3,4-(CH ₃ O) ₂ C ₆ H ₃	119-21	61	C ₃₀ H ₃₅ N ₃ O ₅ S	7,59	5,74	7,64	5,83
3d	4-FC ₆ H ₄	138-40	79	C ₂₈ H ₃₀ FN ₃ O ₃ S	8,19	6,23	8,28	6,32
3e	4-CH ₃ C ₆ H ₄	119-22	71	C ₂₉ H ₃₃ N ₃ O ₃ S	8,26	6,29	8,34	6,37
3f		143-46	58	C ₂₆ H ₂₉ N ₃ O ₄ S	8,83	6,77	8,76	6,69

Таблиця 2

Спектри ЯМР ¹H похідних 5-[2-(3,5-дитретбутил-4-гідроксифеніл)-2-оксоетил]-7-R-2-метил-[1,3]-тіазоло- [4,5-d]піридазин-4(5H)-ону

Сполука	Хімічні зсуви, δ, м.д. (ДМСО-d ₆)
3a	1,45 (с, 18H, 2C(CH ₃) ₃), 2,91 (с, 3H, CH ₃), 3,85 (с, 3H, OCH ₃), 5,77 (с, 2H, CH ₂), 7,09 та 7,23 (д-д, 4H, C ₆ H ₄), 7,83 (с, 2H, C ₆ H ₂), 7,86 (с, 1H, OH),
3b	1,44 (с, 18H, 2C(CH ₃) ₃), 2,91 (с, 3H, CH ₃), 3,84 (с, 3H, OCH ₃), 5,79 (с, 2H, CH ₂), 7,07 - 7,48 (м, 4H, C ₆ H ₄), 7,82 (с, 2H, C ₆ H ₂), 7,87 (с, 1H, OH),
3c	1,45 (с, 18H, 2C(CH ₃) ₃), 2,91 (с, 3H, CH ₃), 3,85 (с, 6H, 2OCH ₃), 5,78 (с, 2H, CH ₂), 7,07 - 7,37 (м, 3H, C ₆ H ₃), 7,83 (с, 2H, C ₆ H ₂), 7,86 (с, 1H, OH),
3d	1,45 (с, 18H, 2C(CH ₃) ₃), 2,92 (с, 3H, CH ₃), 5,79 (с, 2H, CH ₂), 7,36 - 7,85 (м, 4H, C ₆ H ₄), 7,83 (с, 2H, C ₆ H ₂), 7,87 (с, 1H, OH),
3e	1,45 (с, 18H, 2C(CH ₃) ₃), 2,41 (с, 3H, CH ₃), 2,91 (с, 3H, CH ₃), 5,78 (с, 2H, CH ₂), 7,36 та 7,70 (д-д, 4H, C ₆ H ₄), 7,83 (с, 2H, C ₆ H ₂), 7,87 (с, 1H, OH),
3f	1,45 (с, 18H, 2C(CH ₃) ₃), 2,92 (с, 3H, CH ₃), 5,76 (с, 2H, CH ₂), 6,71 - 7,88 (м, 3H, C ₄ H ₃ -фурил-2)), 7,83 (с, 2H, C ₆ H ₂), 7,91 (с, 1H, OH),

Примітка. Спектри ЯМР ¹H синтезованих сполук записано на приладі Bruker-300, робоча частота 300 МГц, розчинник ДМСО-d₆, внутрішній стандарт – ТМС.

вносили 20 мкл ДМСО-розчинів досліджуваних речовин та інкубували утворену суміш протягом 60 хв при 37 °C у водяному термостаті. Вибір моделі окиснювального стресу ґрунтувався на тому, що дана суміш при 37 °C генерує супероксид аніон – O₂•⁻, який є ініціатором процесів при інтоксикаціях, патологіях, дії радіації тощо [6, 7].

Інтенсивність протікання процесів оцінювали за накопиченням продукту ПОЛ – малонового діальдегіду. Для цього до 1 мл отриманого після інкубації розчину додали 2 мл охолодженої 20 % трихлороцтової кислоти (ТХО). Утворений розчин помістили на 12 год у холодильник, після чого проби центрифугували при 4000 об/хв. До 1 мл суперна-

танту додали 2 мл 0,8 % розчину тіобарбітурової кислоти та помістили на 10 хв у киплячу водяну баню. Відомо, що при високій температурі в кислому середовищі малоновий діальдегід реагує з 2-тіобарбітуровою кислотою, утворюючи забарвлений азометиновий комплекс, з максимумом поглинання при 532 нм. Для підвищення ефективності визначення саме МДА у пробу додали 4 мл н-бутанолу та виміряли оптичну густину бутанольних екстрактів [8]. Молярний коефіцієнт екстинкції цього комплексу — $\epsilon = 1,56 \cdot 10^5 \text{ см}^{-1} \text{ М}^{-1}$.

Експеримент проводили за умов моделі, при якій варіанти дослідів включали контроль, розчини іонулу, мексидолу та досліджуваних речовин

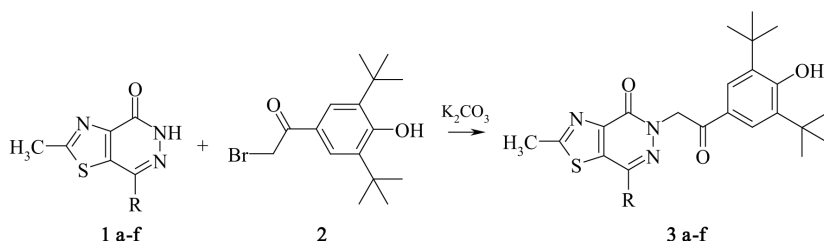
(розчинник ДМСО) з кінцевим титром $3 \cdot 10^{-2}$ мг/мл. Усі досліджувані речовини порівнювали з відомими антиоксидантами – іонолом та мексидолом.

Антирадикальну активність (АРА) синтезованих сполук оцінювали за ступенем інгібування активних форм $\text{NO}^\cdot$ *in vitro* за методом, який заснований на здатності натрію нітропрусида до автоокиснення під дією світла з утворенням радикала $\text{NO}^\cdot$ [5].

Індукцію радикала $\text{NO}^\cdot$ викликали дією на проби, що містить натрію нітропрурид, світла з люмінесцентного джерела потужністю 40 Вт. Опромінення проводили протягом 60 хв при температурі 20 °С. Інкубаційна суміш містила 4 мл

АРА виражали у відсотках інгібування окиснення аскорбінової кислоти. Оптичну густину розчинів вимірювали до та після інкубації. Математичну обробку отриманих даних проводили методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Ст'юдента [9].

Результати та їх обговорення. Синтез сполук здійснювали за загальною схемою: 2,7-заміщені-[1,3]тіазоло [4,5-d] піридазин-4(5H)-они 1 а-f розчиняли в сухому ДМФА і додавали як алкілюючий агент α -бром-2,6-ди-*трет*-бутил-4-гідроксі-ацетофенон 2. Реакцію проводили при нагріванні еквімолярних кількостей реагентів у присутності калій карбонату, за схемою:



0,001 % розчину натрію нітропрусида, 0,5 мл 0,01 % розчину аскорбінової кислоти та досліджувані речовини (0,5 мл) з кінцевим значенням титру в загальній інкубаційній суміші $3 \cdot 10^{-3}$ мг/мл.

Ефективність гальмування утворення активних форм $\text{NO}^\cdot$ визначали за ступенем інгібування окиснення аскорбінової кислоти шляхом реєстрації зміни оптичної густини досліджуваного розчину при 265 нм на спектрофотометрі СФ-46.

Виходи сполук 3 а-f складають 58–79 %.

На моделі генерації супероксид аніон-радикала досліджувані сполуки проявляють антиоксидантну активність на 15,6–48,4 % та на 37,2–61,6 % вищу порівняно з іонолом та мексидолом відповідно. Проте сполука 3е, структура якої в положенні 7 містить 4-метилфенільний радикал, проявляє АОА на 45,3 % та 8,1 % нижчу порівняно з іонолом та мексидолом відповідно (табл. 3).

Таблиця 3

Антиоксидантна активність похідних 5-[2-(3,5-дитрет.бутил-4-гідроксифеніл)-2-оксоетил]-7-R-2-метил-[1,3]-тіазоло-[4,5-d]піридазин-4(5H)-ону

Шифр сполуки	R	Уміст МДА, нмоль/мл	Δ АОА, % (до іонолу)	Δ АОА, % (до мексидолу)
3а	4- $\text{CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$	4,1 $\pm$ 0,16*	35,9	52,3
3b	3- $\text{CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$	4,8 $\pm$ 0,19*	25,0	44,2
3с	3,4-(CH_3O) $_2\text{C}_6\text{H}_3$	3,7 $\pm$ 0,15*	42,2	57,0
3d	4- FC_6H_4	3,3 $\pm$ 0,13*	48,4	61,6
3е	4- $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$	5,4 $\pm$ 0,22*	-45,3	-8,1
3f		9,3 $\pm$ 0,37*	15,6	37,2
іонол		6,4 $\pm$ 0,26*	0	25,6
мексидол		8,6 $\pm$ 0,34*	-34,4	0

Примітка. Δ АОА – відсоток АОА, на який досліджувана сполука перевищує АОА сполуки порівняння (іонолу або мексидолу), знак «мінус» вказує на меншу АОА відносно АОА сполуки порівняння; * $P \leq 0,05$ порівняно з контролем.

Антирадикальна активність похідних 5-[2-(3,5-дитретбутил-4-гідроксифеніл)-2-оксоетил]-7-*R*-2-метил-[1,3]-тіазоло-[4,5-*d*]піридазин-4(5*H*)-ону на моделі автоокиснення натрію нітропрусиду

Шифр сполуки	R	Зміна оптичної густини ($\lambda=265$ нм) $M \pm m$ ($n=5$)	АРА, %
3a	4-CH ₃ OC ₆ H ₄	0,043* $\pm$ 0,0022	61,00
3b	3-CH ₃ OC ₆ H ₄	0,022* $\pm$ 0,0011	31,20
3c	3,4-(CH ₃ O) ₂ C ₆ H ₃	0,017* $\pm$ 0,0009	24,20
3d	4-FC ₆ H ₄	0,025* $\pm$ 0,0013	35,70
3e	4-CH ₃ C ₆ H ₄	0,037* $\pm$ 0,0019	52,40
3f		0,020* $\pm$ 0,0010	28,40
іонол		0,022* $\pm$ 0,001	32,00
контроль		0,032 $\pm$ 0,038	0,0

Примітка. * $P \leq 0,05$ порівняно з контролем.

На моделі генерації активних форм оксиду азоту досліджувані сполуки гальмують утворення радикала NO $\cdot$ на 24,2–61 %. Найбільшу антирадикальну дію проявляють сполуки 3a та 3e, до структури яких у положення 7 уведено 4-метоксифенільний та 4-метилфенільний радикали відповідно (табл. 4).

Залежність АРА досліджуваних сполук від Δ АОА (до іонолу) та Δ АОА (до мексидолу) описується лінійною залежністю на рівні коефіцієнта кореляції (-0,37582) та (-0,37593) відповідно (рисунок):

$$\text{АРА} = -0,16033 \Delta \text{АОА (до іонолу)} + 42,07129, \%$$

$$\text{АРА} = 0,21558 \Delta \text{АОА (до мексидолу)} + 47,59082, \%$$

Залежність Δ АОА (до мексидолу) від Δ АОА (до іонолу) описується лінійною залежністю на рівні коефіцієнта кореляції 0,99(9) (рисунок):

$$\Delta \text{АОА (до мексидолу)} = 0,74391 \Delta \text{АОА (до іонолу)} + 25,59863, \%$$

Висновки

1. На моделі генерації супероксид аніон-радикала досліджувані спо-

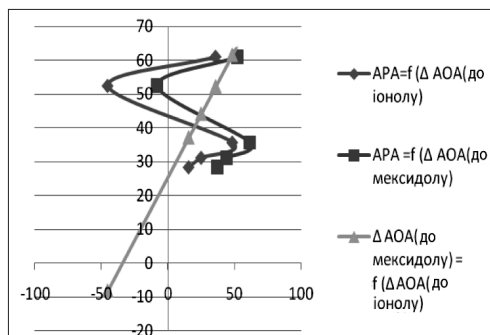


Рисунок. Залежність АРА від АОА похідних 5-[2-(3,5-дитретбутил-4-гідроксифеніл)-2-оксоетил]-7-*R*-2-метил-[1,3]-тіазоло-[4,5-*d*]піридазин-4(5*H*)-ону в концентрації $6 \cdot 10^{-4}$ ммоль/мл.

луки проявляють антиоксидантну активність на 15,6–48,4 % та на 37,2–61,6 % вищу порівняно з іонолом та мексидолом відповідно.

2. На моделі генерації активних форм оксиду азоту досліджувані сполуки гальмують утворення радикала NO $\cdot$ на 24,2–61,0 %.
3. Показано, що залежність Δ АОА (до мексидолу) від Δ АОА (до іонолу) описується лінійною залежністю на рівні коефіцієнта кореляції 0,99 [9].

1. Гаділія О. П., Андрійчук Т. Р., Меркулов С. П. [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2002. – № 1, 74. – С. 97–100.
2. Коваленко С. І., Беленічев І. Ф., Карпенко О. В. [та ін.] // Ліки. – 2003. – № 1–2. – С. 68–72.
3. Альберт Э. Избирательная токсичность / Э. Альберт. – М. : Мир, 1971. – 431 с.

4. Біохімічні механізми геномозахисної дії нових похідних піридинкарбонових кислот за умов ураження клітин тетрахлоретаном / Губський Ю. І., Левицький Є. Л., Горюшко Г. Г. [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2001. – Т. 73, № 5. – С. 100–107.
5. Губський Ю. І. Методи оцінки антиоксидантних властивостей фізіологічно активних сполук при ініціюванні вільнорадикальних процесів у дослідях *in vitro*: методичні рекомендації / Ю. І. Губський, В. В. Дунаєв, І. Ф. Беленічев [та ін.]. – К. : МОЗ України, 2002. – 26 с.
6. Шевцова О. І. Влияние хитозана на пероксидное окисление липидов при токсическом поражении печени / Шевцова О. И. // Укр. біохім. журн. – 2000. – Т. 72, № 2. – С. 88–90.
7. Корекція нікотинамідом та нікотиніол-ГАМК оксидативного стресу за діабетичної нейропатії / Шиманський І. О., Кучмеровська Т. М., Донченко Г. В. [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2002. – Т. 74, № 5. – С. 89–95.
8. Стальная И. Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот / Стальная И. Д. // Современные методы в биохимии: под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 112–114.
9. Лакин Г. В. Биометрия / Г. В. Лакин. – М. : Высш. шк., 1990. – 351 с.

С. А. Демченко, О. С. Смольский, Л. С. Бобкова

Оценка антиоксидантной и антирадикальной активности новых производных 5-[2-(3,5-дитретбутил-4-гидроксифенил)-2-оксоэтил]-7-*R*-2-метил-[1,3]-тиазоло-[4,5-*d*]пиридазин-4(5*H*)-она в опытах *in vitro*

В работе представлен синтез производных 5-[2-(3,5-дитрет-бутил-4-гидроксифенил)-2-оксоэтил]-7-*R*-2-метил-[1,3-тиазоло-4,5-*d*]пиридазин-4(5*H*)-она с целью поиска антиоксидантов нового поколения. Антиоксидантную (АОА) и антирадикальную активность (АРА) синтезированных соединений изучали в опытах *in vitro* на моделях: инициации образования свободных радикалов кислорода в условиях неферментативного ПОЛ и радикалов активных форм окиси азота соответственно. Исследования показали, что эти соединения обладают значительной антиоксидантной активностью по сравнению с 4-метил-2,6-ди-*трет*-бутилфенолом-ионол.

Ключевые слова: антиоксидантная, антирадикальная активность, производные [1,3-тиазоло-4,5-*d*]пиридазин-4(5*H*)-она

S. A. Demchenko, O. S. Smolsky, L. S. Bobkova

Evaluation of antioxidant and antiradical *in vitro* activities of new derivatives of 5-[2-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-2-oxoethyl]-7-*R*-2-methyl-[1,3]-thiazolo-[4,5-*d*]pyridazine-4(5*H*)-one

The synthesis of new derivatives of 5-[2-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)-2-oxoethyl]-7-*R*-2-methyl-[1,3]-thiazolo-[4,5-*d*]pyridazine-4(5*H*)-one as a new generation of antioxidants is presented in this article. Antioxidant (AOA) and antiradical (ARA) activities of synthesized compounds were studied in experiments *in vitro* on the models of initiation of the formation of oxygen free radicals in a non-enzymatic lipid peroxidation and accumulation of reactive nitrogen oxide, respectively. Studies have shown that these compounds have significant antioxidant activity compared to the 4-methyl-2,6-di-*tert*-butyl phenol-ionol.

Keywords: antioxidant, antiradical activity, derivatives of [1,3]-thiazolo-[4,5-*d*]pyridazine-4(5*H*)-one

Надійшла: 19.11.2012 р.

Контактна особа: Демченко С. А., ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», вул. Ежена Потье, 14, м. Київ, 03680. Тел.: + 38 (044) 456-42-56.

Т. В. Джан^{1,3}, А. М. Джан¹, О. Ю. Коновалова¹, С. В. Клименко²

Вивчення цукрознижувальної активності екстрактів з листя айви (*Cydonia oblonga* L.) та хеномелесу (*Chaenomeles* L.)

¹Київський медичний університет Української асоціації народної медицини²Національний ботанічний сад імені М. М. Гришка НАН України, м. Київ³ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

Ключові слова: айва, хеномелес, цукрознижувальна активність, діабет, глюкоза, інсуліноцити

Із глибокої давнини (IV ст. до н. е.) плоди, листя, насіння, пагони й кору айви використовували як лікарські засоби. З насіння готували чай, що призначали при кашлі, бронхітах, а айвовий сік – для припарок при тріщинах прямої кишки. Лікувальні властивості плодів айви були добре відомі ще Авіценні, який уважав їх придатним засобом для покращання травлення. Він рекомендував використовувати сік айви з медом і оцтом для «зміцнення шлунку» і «при слабкій печінці». На думку Авіценни, айву повинні вживати жінки, оскільки від цього поліпшується колір обличчя. Листя, кору гілок, молоді пагони айви використовують для лікування цукрового діабету, гіпертонічної хвороби, астми, коклюшу [1].

Протягом багатьох років досліджуються фармакологічні властивості айви в Португалії. Визначено, що листя айви має потужний антиоксидантний ефект [8].

Плоди хеномелесу з давніх часів використовують у східній медицині (Китай, Корея, Японія, В'єтнам) при артриті, дизентерії, диспепсії, лихоманці, холері. У Китаї вони входять до складу багатьох лікарських засобів, які використовуються також для лікування невралгії, мігрені та депресії. При кашлі, бронхіті, трахеїті корисні квітки хеномелесу. Насіння хеномелесу з успіхом застосовують для загоєння опіків, при трахеїтах, бронхітах, гастроентеритах, спастичному коліті, метеориз-

мі. Слиз також використовують як обволікаючий засіб при виразковій хворобі шлунка та дванадцятипалої кишки [6]. Багаторічні дослідження в Китаї, Японії, Кореї, спрямовані на детальне вивчення механізму дії біологічно активних речовин хеномелесу, показали, що сумарний екстракт плодів хеномелесу прекрасного і його різні фракції виявили ефективну пригнічувальну дію на активність α - і β -глюкозидази (82–99 % і 5–85 % відповідно). Менший пригнічувальний вплив був встановлений щодо активності α - і β -галактозидази (18–35 % і 10–34 % відповідно). Ці дослідження показують можливість ефективного використання плодів хеномелесу в лікувальному харчуванні хворих на діабет II типу [7]. *Мета дослідження* – вивчення цукрознижувальної активності екстрактів з листя айви (*Cydonia oblonga* L.) та хеномелесу (*Chaenomeles* L.).

Матеріали та методи. Об'єктом вивчення було листя хеномелесу прекрасного *Ch. speciosa* (Sweet) Nakai сорту «Симоні», інтродукованого в Національному ботанічному саду імені М. М. Гришка НАН України; листя айви *C. oblonga* L. сортів «Марія» та «Оранжева» та сортів хеномелесу, виведених у відділі акліматизації рослин Національного ботанічного саду: хеномелесу японського *Ch. japonica* (Thunb.) Lindl. ex Spach. сорту «Ян», гібриду хеномелесу японського та прекрасного *Ch. japonica* (Thunb.) Lindl. ex Spach і *Ch. speciosa* (Sweet) Nakai сорту «Святовий» та хеномелесу пречудового *Ch. superba* (Frahm) Rehd. сорту «Амфора». Листя хеномелесу заготовляли в червні 2011 року. Екстракти листя айви та хеномелесу одержували екстракцією

сировини водою в співвідношенні сировина-екстрагент 1:10 на киплячій водяній бані протягом 1 год.

Експериментальні дослідження виконані на білих статевозрілих нелінійних щурах, масою 160–180 г, отриманих з ПП «Біомодельсервіс». Тварини знаходилися на стандартному харчовому раціоні згідно із санітарно-гігієнічними нормами. Усі дослідження проводили відповідно до вимог ЕЦ МОЗ України та правил «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та іншою метою» (м. Страсбург, 1986 р.) [4].

Дослідження проводили на моделі стрептозототинового діабету в щурів [4]. Експериментальні тварини були розподілені на групи по 10 тварин у кожній. Були проведені дві серії дослідів: перша – дослідження цукрознижувальної активності листя айви сорту «Марія» та «Оранжева» і листя хеномелесу сорту «Ян»; друга – дослідження цукрознижувальної активності листя хеномелесу сортів «Амфора», «Святокий», «Симоні» і «Ніваліс».

Для відтворення моделі діабету тваринам внутрішньочеревинно одноразово вводили стрептозототин у дозі 60 мг/кг, розведений на 10 мМ цитратному буфері (рН4,5). Потім тварин витримували до розвитку діабету, при цьому в них періодично контролювали рівень глюкози в крові за допомогою системи для вимірювання глюкози On Call Plus виробництва ACON Laboratories, Inc, USA.

На наступному етапі досліджень відібрали тварин, у яких розвинувся діабет (рівень глюкози в крові перевищував 20 ммоль/л), і розподілили на групи по 8 тварин у кожній. Перша група – контроль – щури, у яких розвинувся діабет, інші групи – щури зі стрептозототиновим діабетом, яким щоденно протягом 3-х тижнів вводили в шлунок досліджувані екстракти. Усі екстракти вводили в дозі 100 мг/кг маси тіла. Протягом періоду введення екстрактів у тварин вимірювали рівень глюкози.

Дані піддавали статистичній обробці з використанням t-критерію Ст'юдента. Різницю між досліджуваними показниками вважали статистично вірогідною при $p < 0,05$. Розрахунки проводили на персональному комп'ютері за допомогою програми Excel [6].

Для гістологічного дослідження шматочки тіла підшлункової залози фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну, далі за стандартною методикою шматочки залози зневоднювали в етанолі зростаючої концентрації та вміщували в парафін. Гістологічні зрізи товщиною 5–6 мкм фарбували гематоксином і еозином. Альдегід-фуксиновим методом виявляли β -клітини острівців Соболева-Лангерганса [5]. Препарати вивчали й мікрофотографували за допомогою мікроскопа OLYMPUS BX 51.

Результати та їх обговорення. Дані щодо впливу досліджених екстрактів на рівень глюкози в крові піддослідних тварин наведено в таблицях 1 та 2. Слід

Таблиця 1

Рівень глюкози (ммоль/л) в крові щурів-самців за умов стрептозототинового діабету та введення екстрактів листя айви та хеномелесу (М $\pm$ m та % зміни до контролю, n = 6)

Термін дослідження, доба	Експериментальна група			
	Контроль (діабет)	Екстракт листя айви сорту		Екстракт листя хеномелесу сорту
		Марія	Оранжева	Ян
1	22,25 $\pm$ 1,31	25,12 $\pm$ 2,02	22,28 $\pm$ 1,44	23,32 $\pm$ 1,27
	-	+12,89 %	+0,13 %	+4,80 %
2	18,38 $\pm$ 2,33	11,96 $\pm$ 0,88	14,08 $\pm$ 1,40	13,14 $\pm$ 1,86
	-	-34,9 %*	-23,39 %	-28,5 %
3	18,35 $\pm$ 1,41	11,26 $\pm$ 0,46	15,18 $\pm$ 0,67	14,84 $\pm$ 1,32
	-	-38,63 %*	-17,27 %	-19,12 %
4	15,00 $\pm$ 1,29	12,98 $\pm$ 0,82	14,15 $\pm$ 0,73	13,68 $\pm$ 0,83
	-	-13,4 %	-5,66 %	-8,80 %

Примітка. Тут і в табл. 2: * $P < 0,05$ порівняно з показником контрольної групи у відповідний термін дослідження.

Рівень глюкози (ммоль/л) в крові щурів-самців на моделі стрептозотоцинового діабету за умов введення екстрактів листя хеномелесу (M ± m та % зміни до контролю, n = 6)

Термін дослідження, доба	Експериментальна група				
	Контроль (діабет)	Екстракт листя хеномелесу сортів			
		Амфора	Святковий	Симоні	Ніваліс
1	21,00 ± 2,48	23,38 ± 4,51	23,74 ± 3,73	20,82 ± 2,42	21,55 ± 2,91
	-	+11,33	+13,04	-0,85%	+2,61%
7	19,18 ± 1,55	20,88 ± 4,57	11,96 ± 0,74	16,43 ± 4,08	19,60 ± 3,10
	-	+8,86 %	-37,64 %*	-14,33 %	+2,18 %
14	16,48 ± 1,39	23,28 ± 6,12	12,34 ± 0,80	23,37 ± 4,39	18,03 ± 4,23
	-	+41,26 %	-25,12 %*	+41,8 %	+9,4 %
21	15,44 ± 1,59	22,58 ± 6,02	7,86 ± 0,76	15,83 ± 4,98	16,05 ± 4,29
	-	+46,24 %	-49,03%*	+2,52%	+3,95%

зазначити, що серед досліджуваних екстрактів листя айви, найбільшу активність проявляє екстракт листя айви сорту «Марія», достовірно знижуючи рівень глюкози на 34,9 % та 38,63 % через 1 тиждень та 2 тижня терапії відповідно. Однак наприкінці 3 тижня введення екстракту його ефективність суттєво знижувалася. Екстракт листя айви сорту «Оранжева» та екстракт листя хеномелесу сорту «Ян» виявляють незначну цукрознижувальну активність (показник рівня глюкози недостовірно відрізняється від контрольної групи (табл. 1).

У наступній серії дослідів вивчали екстракти листя хеномелесу сортів «Амфора», «Святковий», «Симоні», «Ніваліс». Два з досліджуваних екстрактів (листя сортів «Симоні» та «Ніваліс») не виявили цукрознижувальної активності, а екстракт листя сорту «Амфора» викликав недостовірне порівняно з діабетом зростання рівня глюкози в крові тварин. У щурів групи, що отримували екстракт листя хеномелесу сорту «Святковий», було зафіксовано вірогідне зниження рівня глюкози порівняно з контрольними тваринами вже через 1 тиждень терапії 37,64 %. Достовірне зниження рівня глюкози спостерігали протягом усього дослідження, а при закінченні терапії рівень глюкози знизився на 49,03 %, практично до фізіологічної норми (табл. 2).

Підшлункову залозу тварин, що отримували екстракт листя хеномелесу сорту «Святковий», тварин контрольної та інтактної групи досліджували морфологічно.

При зовнішньому огляді тварини, незалежно від умов експерименту, мали задовільний стан. Шкіра без ознак запалення та розчухувань, видимі слизові оболонки черевної, плевральної та навколосерцевої порожнин без проявів ушкодження та запалення, кількість серозної рідини в порожнинах не збільшена. Підшлункова залоза, головний мозок та органи грудної, черевної порожнини й малого тазу розташовані анатомічно правильно, рухливі, колір і консистенція не змінені та не відрізнялися від таких у інтактних тварин.

Гістологічне дослідження гематоксилін-еозинових препаратів підшлункової залози інтактних тварин виявило незмінену структуру екзокринної та ендокринної її частини. Залоза мала звичайну часткову будову. Екзокринну частину утворювали кінцеві ацинуси, які були представлені одним шаром незмінених панкреоцитів (рис. 1).

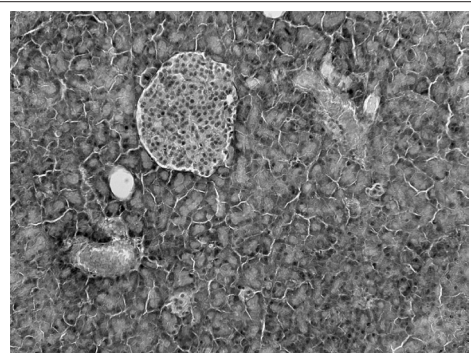


Рис. 1. Структура підшлункової залози інтактного щура. Фарбування гематоксиліном і еозином. × 200.

Ендокринна частина залози утворена острівцями Соболева-Лангерганса, округлої, рідше овальної форми, останні заповнені невеликими клітинами зі світлою цитоплазмою та круглими ядрами, з незначною кількістю хроматинових зерен, рівномірно розташованих по каріоплазмі. При фарбуванні альдегід-фуксином у інтактних тварин β-клітини, що продукують інсулін, у панкреатичних острівцях розміщувалися в центральній частині й були інтенсивно забарвлені в темно-фіолетовий колір (рис. 2).

З літератури відомо, що основну масу острівців складають β-клітини. Топографічне розташування та їхня кількість є показником функціонального стану ендокринної частини органа. Застійних явищ і запальної реакції в органі не відмічали.

Екзокринна паренхіма залози в тварин з експериментальним цукровим діабетом значною мірою відрізнялася від такої в інтактних щурів. У трьох тварин із п'яти в підшлунковій залозі відмічався розлад мікроциркуляції різного ступеня. Підшлункова залоза була нерівномірного кровонаповнення, частина артеріол, капілярів і венул була ішемічною. Просвіт їх був звужений, ендотелій набряклий. Ядра ендотеліоцитів розміщалися перпендикулярно до стінки судин, це вказувало на вазоконстрикцію цього відділу мікроциркуляторного русла. В інших сегментах залози артеріоли, капіляри й венули були розширені, просвіт запо-

внений форменими елементами крові. В ацинарній паренхімі залози осередковано в невеликій кількості виявлялися дистрофічно змінені клітини у вигляді каламутного набряку цитоплазми (рис. 3).

β-клітини острівців у тварин з цукровим діабетом дещо відрізнялися від таких в інтактних щурів. По-перше, у острівцях зменшувалася кількість β-клітин; по-друге, вони були невеликих розмірів; виявилася невелика кількість секреторних гранул, що були забарвлені в блідо-фіолетовий колір і розміщувалися переважно на периферії цитоплазми (рис. 4).

Морфологічні ознаки свідчать про ослаблення ендокринної функції підшлункової залози при цукровому діабеті. Водночас в окремих місцях залози виявлялися острівці, щільно заповнені β-клітинами, цитоплазма яких була інтенсивно зафарбована альдегід-фук-

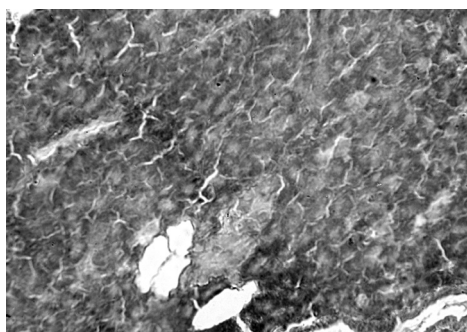


Рис. 3. Осередок дистрофічно змінених панкреатитів у тварин з експериментальним цукровим діабетом. Фарбування гематоксиліном і еозином. $\times 200$.

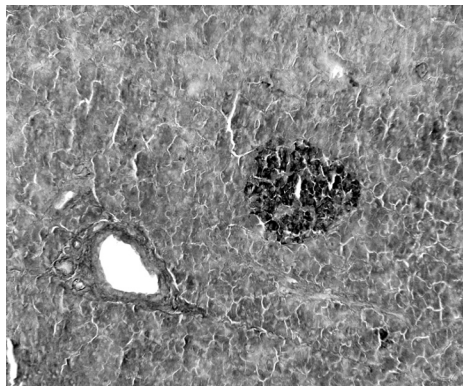


Рис. 2. Незмінені β-клітини в острівцях підшлункової залози інтактної тварини. Фарбування альдегід-фуксином. $\times 200$.

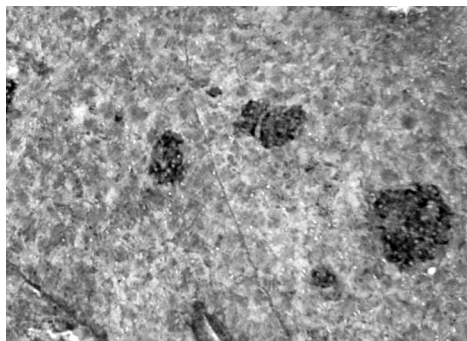


Рис. 4. Осередкове зменшення β-клітин у панкреатичних острівцях щура з цукровим діабетом. Фарбування альдегід-фуксином. $\times 200$.

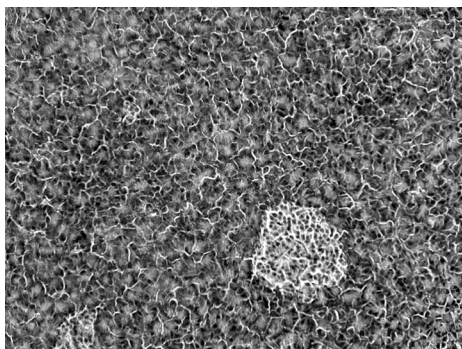


Рис. 5. Паренхіма підшлункової залози патологічно не змінена. Тваринам з цукровим діабетом вводили екстракт листя хеномелесу сорту «Святковий». $\times 200$.

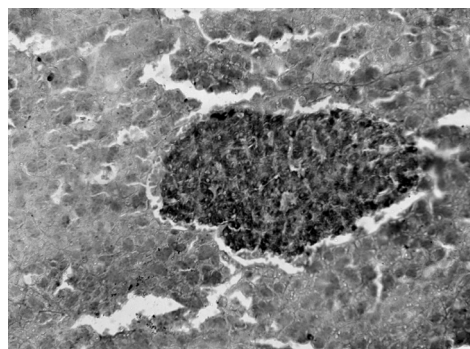


Рис. 6. Інсулоцити підшлункової залози щура з цукровим діабетом, що отримували екстракт листя хеномелесу сорту «Святковий». Фарбування альдегід-фуксином. $\times 200$.

сином у насичений фіолетовий колір, що може вказувати на їхню компенсаторну функцію.

У тварин, яким на тлі експериментального цукрового діабету вводили екстракт листя хеномелесу сорту «Святковий», у підшлунковій залозі спостерігали тенденцію до зменшення проявів гемодинамічних порушень у мікроциркуляторному руслі, а також дистрофічних змін у панкреатитах порівняно з групою тварин з експериментальним цукровим діабетом, також частіше зустрічали острівці Соболева-Лангерганса (рис. 5).

В острівцях збільшувалася кількість інсулоцитів, цитоплазма яких багата на секреторні гранулоцити, останні були інтенсивно забарвлені в насичений фіолетовий колір (рис. 6).

Ці факти свідчать про посилення функціональної потенції інсулінпродукуючих клітин підшлункової залози у тварин, яким вводили екстракт.

Проте в двох тварин з восьми даної групи ще зустрічали острівці з осеред-

ками дистрофічно змінених інсулоцитів. При фарбуванні препаратів альдегід-фуксином в ендокриноцитах виявляли невелику кількість секреторних гранул, останні були зафарбовані в блідо-фіолетовий колір.

Висновок

1. Одержано достовірний цукрознижувальний ефект (до -49,03 %) після введення протягом 3 тижнів екстракту листя хеномелесу сорту «Святковий» щурам зі стрептозотоциновим діабетом.
2. При застосуванні екстракту листя хеномелесу сорту «Святковий» на фоні стрептозотоцинового діабету в підшлунковій залозі тварин збільшувалась кількість острівців, заселених β -клітинами, що свідчить про посилення функції інсулінпродукуючих клітин. Ознаки гемодинамічних і дистрофічних порушень були виражені у меншому ступені, ніж у тварин з діабетом.

1. Клименко С. В. Айва обыкновенная / С. В. Клименко. – К.: Наукова думка. – 1993. – 288 с.
2. Клименко С. В. Хеномелес: генофонд и новые сорта в НБС НАН Украины. Интродукция растений, збереження та збагачення біорізноманіття в ботанічних садах і дендропарках / С. В. Клименко, Я. Брындза, О. В. Григорьева // Матер. міжн. наук. конф., присвяченої 75-річчю заснування Національного ботанічного саду ім. М. М. Гришка НАН України, 15-17 вересня 2010 р. – К.: Укрфітосоціоцентр, 2010. – С. 202–204.
3. Лапач С. Н. Статистика в науке и бизнесе / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К.: Морион, 2002. – 640 с.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації: за ред. О. В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – 568 с.
5. Фингерланд А. Оптическая и электронномикроскопическая дифференциальная диагностика эндокринных клеток поджелудочной железы / А. Фингерланд, В. Вортел // Арх. патол. – 1972. – № 12. – С. 44–51.

-
6. Чхве Тхэсон. Лекарственные растения; пер. с корейского. – М. : Медицина, 1987. – 243 с.
7. Sancheti S. Chaenomeles sinensis: a potent A- and B-glucosidase inhibitor / S. Sancheti, SY. Seo // American Journal of Pharmacology and Toxicology. – 2009. – V. 4, № 1. – P. 8–11.
8. Yildirim A. The antioxidant activity of the leaves of Cydonia vulgaris / A. Yildirim, M. Oktay, V. Bilaloglu // Turk. J. Med. Sci. – 2001. – V. 31. – P. 23–27.

Т. В. Джан, А. М. Джан, Е. Ю. Коновалова, С. В. Клименко

**Изучение сахароснижающей активности экстрактов
из листьев айвы (*Cydonia oblonga* L.) и хеномелеса (*Chaenomeles* L.)**

В статье приведены результаты определения сахароснижающей активности экстрактов листьев разных видов и сортов айвы и хеномелеса на модели стрептозотоцинового диабета. Установлен сахароснижающий эффект на модели экспериментального диабета после введения экстракта листьев хеномелеса сорта «Праздничный». В условиях применения этого экстракта на фоне сахарного диабета в поджелудочной железе животных увеличивалось количество островков, заселенных β -клетками, что свидетельствует об усилении функции инсулинпродуцирующих клеток, гемодинамические и дистрофические изменения были менее выраженными, чем у животных без лечения. Полученные результаты свидетельствуют о том, что экстракт листьев хеномелеса сорта «Праздничный» проявляет лечебный эффект при данных условиях эксперимента.

Ключевые слова: айва, хеномелес, сахароснижающая активность, диабет, глюкоза, инсулиноциты

T. V. Dzhan, A. M. Dzhan, E. Yu. Konovalova, S. V. Klimenko

**The study of glucose lowering activity of the extracts from
quince leaves (*Cydonia oblonga* L.) and Japan quince leaves (*Chaenomeles* L.)**

The results of glucose lowering activity determination of different species and sorts of quince and Japan quince leaves extracts under streptozotocin induced diabetes in rats are presented in this article. It was received a positive effect on the model of experimental diabetes after treatment by Japan quince sort «Holiday» leaves extract. In the pancreas of diabetes animals treated by this extract there were not hemodynamic and degenerative changes, but increased the number of islands occupied by β -cells, indicating increase function of the cells that produce insulin. The results indicate that Japan quince sort «Holiday» leaves extract shows a therapeutic effect in these experimental conditions.

Key words: quince, Japan quince, glucose lowering activity, diabetes, glucose, insulinocytes

Надійшла: 10.09.2012 р.

Контактна особа: Джан Т. В., Державна лабораторія контролю якості лікарських засобів,
ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», вул. Е. Потье, 14, м. Київ, 03057.
Тел.: + 38 (044) 277-41-18. Електронна адреса: Zakucilo@gmail.ru

А. В. Кононенко, С. М. Дрогозов

Вивчення гепатозахисної активності екстракту горобини звичайної

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: гепатопротекторна активність, екстракт горобини звичайної

Актуальною проблемою фармакології є створення ефективних та малотоксичних лікарських засобів із широким спектром дії. У зв'язку із цим останніми роками зростає інтерес до фітотерапії [1]. Це, насамперед, обумовлене тим, що фітопрепарати, на відміну від синтетичних засобів, спричинюють менші ускладнення, практично не викликають алергічні реакції, також їх можна призначати тривало (що традиційно для гепатопротекторів) для реабілітації хворих. Завдяки наявності в рослинах багатьох біологічно активних речовин із різноманітною фармакологічною дією фітопрепарати можна застосовувати для лікування багатьох захворювань [2–4]. Під час розробки нових лікарських засобів науковці віддають перевагу пошуку сировини з асортименту офіційних рослин, які вже зарекомендували себе нетоксичними, з великою сировинною базою [1, 5, 6]. Однією з таких рослин є горобина звичайна, що здавна використовується в народній медицині [7]. Так, настій, відвар і сік плодів горобини звичайної призначають при розладах травлення (гепатиті, гепатохолециститі, порушенні жовчовиділення, при наявності каменів у жовчних протоках, холангіті) [7, 8]. *Мета дослідження* – вивчення гепатозахисної активності екстракту горобини звичайної.

Матеріали та методи. Об'єкт дослідження – густий водний екстракт горобини звичайної, отриманий на кафедрі фармакогнозії НФаУ під керівництвом доцента О. В. Криворучко. Вивчення гепатопротекторної активності густого водного екстракту горобини звичайної проводили на 52 щурах у 4 серіях дослідів. Експериментальне пошкодження

печінки викликали підшкірним введенням олійного розчину тетрахлорметану в дозі 0,4 мл/100 г у сполученні з етанолом у дозі 1,3 мл/100 г тварини протягом 4 діб [9]. Як препарат порівняння обрано силімарин («Карсил» АТ, «Sopharma», Болгарія) у дозі 22,5 мг/кг. Екстракт горобини звичайної та референтний препарат вводили в профілактичному режимі внутрішньощлунково один раз на добу за тиждень до початку формування патології. Протягом наступних 7 днів досліду (4 дні моделювання патології та 3 дні після її формування) введення продовжили в лікувальному режимі внутрішньощлунково один раз на добу. Тварин було розподілено на 4 групи: перша – інтактний контроль; 2 група – контрольна патологія (тварини, яким вводили тетрахлорметан у сполученні з етанолом); 3 група, крім тетрахлорметану та етанолу, також отримувала густий екстракт листя горобини звичайної в дозі 100 мг/кг; а 4 група – щури, яким вводили тетрахлорметан у сполученні з етанолом та препарат порівняння силімарин в умовно-терапевтичній дозі – 22,5 мг/кг [9].

Тварин виводили з експерименту відповідно до вимог, вилучали печінку та збирали кров для біохімічного дослідження. Стан печінки оцінювали за наступними показниками: виживаність тварин, масовий коефіцієнт печінки (МКП); у сироватці крові: процеси руйнування гепатоцитів – за активністю маркерного ферменту цитолізу аланінамінотрансферази (АлАТ); наявність холестази – за вмістом лужної фосфатази (ЛФ); стан білоксинтетичної функції печінки – за вмістом загального білка та альбумінів; антиоксидантну функцію печінки – за рівнем сечової кислоти; стан обміну ліпідів – за рівнем холестеролу. Інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) визнача-

ли за рівнем ТБК-АП у гомогенаті печінки; стан антиоксидантної системи (АОС) організму тварин – за вмістом відновленого глутатіону (ВГ); жовчоутворювальну функцію печінки – за швидкістю секреції жовчі, кількістю жовчних кислот та холестеролу в жовчі [9]. МКП розраховували за формулою:

$$\text{МКП} = \text{МП} / \text{МТ} \cdot 100,$$

де:

МП – маса печінки, МТ – маса тіла.

Активність лужної фосфатази та АЛАТ у сироватці крові тварин визначали за допомогою біохімічних наборів вітчизняного виробництва [10]; рівень загального білка – за біуретовою реакцією, холестеролу – за методом Ілька (за допомогою стандартних наборів) [11]; вміст сечової кислоти – за методом В. В. Меньшикова [12]; швидкість виділення жовчі – за методом С. М. Дрогозов, вміст жовчних кислот і холестеролу в жовчі – за методом В. П. Мірошніченка та співавторів [10, 13, 14].

Результати та їх обговорення. Як видно з таблиці, ураження печінки тетрахлоретаном та етанолом супроводжувалося значним порушенням її функціонального стану. У щурів у групі контрольної патології спостерігали збільшення МКП у 1,5 разу порівняно з групою інтактного контролю. Це свідчить про тяжку інтоксикацію й наявність запального процесу в тканині печінки, а також розвиток жирової дистрофії печінки під впливом тетрахлорметану та етанолу [11].

Достовірне підвищення активності АЛАТ у сироватці крові в 3,4 разу вказувало на розвиток цитолізу гепатоцитів. Поряд із цим відзначали підвищення активності ЛФ у сироватці крові в 2,1 разу, що зумовлено вивільненням ЛФ з ушкоджених гепатоцитів, а також з індуктивним її синтезом у жовчних каналцях. У сироватці крові щурів групи контрольної патології спостерігали також підвищення вмісту сечової кислоти в 1,6 разу порівняно з групою інтактного контролю.

Дослідження в гомогенаті печінки вмісту продуктів ПОЛ показало збільшення рівня ТБК-АП у 1,7 разу. При цьому суттєво постраждала антиокси-

дантна система – вміст ВГ зменшився в 1,2 разу.

Тетрахлорметан-етанолове пошкодження печінки також супроводжувалося пригніченням білоксинтетичної функції печінки. Вміст альбуміну в сироватці крові знизився в 1,4 разу, тоді як, вміст загального білка лише в 1,1 разу.

За умов патології відбувалося пригнічення жовчоутворювальної функції печінки: показники швидкості секреції жовчі й вміст жовчних кислот зменшувалися відповідно в 1,8 і 1,2 разу. Спостерігали також порушення обміну холестеролу – його рівень у жовчі знизився в 5,2 разу, а в сироватці крові – у 1,5 разу порівняно з інтактними тваринами. До кінця експерименту із групи контрольної патології загинула 1 тварина (8 %), що сягає рівня статистично значущої відмінності з контролем ($P \leq 0,05$). Тоді як усі щури в групі, що отримували густий екстракт листя горобини звичайної та силімарин, вижили.

Як видно з отриманих результатів (таблиця), застосування густого екстракту листя горобини звичайної та референтного препарату на тлі експериментального гепатиту позитивно впливало на стан печінки та на загальний стан тварин.

МКП тварин під впливом густого екстракту листя горобини звичайної та силімарину зменшився в 1,3 разу порівняно з аналогічним показником у тварин з групи контрольної патології, але перевищував аналогічний показник інтактних щурів у 1,2 разу.

Під дією досліджуваних препаратів спостерігали зменшення запальних процесів у печінці дослідних тварин, про що свідчить зниження активності маркера цитолізу АЛАТ під впливом густого екстракту листя горобини звичайної в 1,6 разу, під впливом силімарину – у 2 рази.

Вміст холестеролу в сироватці крові при введенні густого екстракту листя горобини звичайної наближався до показників інтактного контролю, а під дією силімарину дорівнював показнику контрольної патології.

Досліджувані препарати вірогідно нормалізували білоксинтетичну функ-

Вплив координаційних сполук германію з біолігандами на рівень МСМ у сироватці крові, ТБК-реактантів у крові та гомогенаті кори головного мозку щурів із ЗЧМТ, $M \pm m$ ($n = 6$)

Показник	n	Умови досліджу			
		інтактний контроль	контрольна патологія	патологія + екстракт листя горобини	патологія + силімарин
Вживаність, %	13	100	92*	100	100
МКП	7	3,30	4,96*	3,92*/**	3,92*/**
Сироватка крові					
АлАТ, мкмоль · ч ⁻¹ · мл ⁻¹	7	1,68 ± 0,20	5,66 ± 0,50*	3,58 ± 0,40*/**	2,78 ± 0,30*/**
ХС, ммоль/л	7	1,54 ± 0,09	1,02 ± 0,10*	1,44 ± 0,20**	1,04 ± 0,20*
Загальний білок, г/л	7	131,22 ± 5,70	124,69 ± 3,7	145,99 ± 6,40**	132,92 ± 3,80
Альбумін, г/л	7	45,98 ± 4,20	33,64 ± 0,70*	32,25 ± 1,60*	32,97 ± 0,80*
ЛФ, мкмоль · с ⁻¹ · л ⁻¹	7	5,24 ± 0,60	11,11 ± 0,80*	6,60 ± 1,30**	6,75 ± 1,30**
Сечова кислота, мкмоль/л	7	69,48 ± 8,70	112,34 ± 7,50*	81,82 ± 5,70**	107,14 ± 5,9*
Жовч					
Жовчовиділення, мл / хв ⁻¹ · 100 г	6	5,315	2,966*	5,997*/**	5,248*/**
ЖК, мг%	6	129,2 ± 3,0	109,1 ± 5,1*	130,7 ± 2,7**	129,6 ± 3,9**
ХС, мг%	6	13,4 ± 2,1	2,6 ± 0,7*	7,5 ± 1,5*/**	19,9 ± 2,4*/**
Гомогенат печінки					
ВГ, ммоль/л	7	3,02 ± 0,10	2,59 ± 0,10*	2,96 ± 0,20**	2,60 ± 0,20*
ТБК-АП, ммоль/г	7	60,25 ± 6,40	103,29 ± 8,60*	91,02 ± 0,20	88,09 ± 0,09

Примітка. *Відхилення достовірно відносно інтактного контролю, $P < 0,05$; **відхилення достовірно відносно контрольної патології, $P < 0,05$; n – кількість тварин.

ції печінки, про що свідчить достовірне підвищення рівня загального білка в сироватці крові в 1,2 разу при застосуванні густого екстракту листя горобини звичайної, а при застосуванні силімарину – у 1,1 разу. При цьому вони не чинили вірогідного впливу на рівень альбуміну, який залишався на рівні показника групи контрольної патології. Під дією густого екстракту листя горобини звичайної активність ЛФ порівняно із групою контрольної патології зменшилася в 1,9 разу, що достовірно переважає дію силімарину (рівень ЛФ зменшився в 1,6 разу). Під впливом силімарину рівень сечової кислоти в крові достовірно не знизився відносно

нелікованих тварин (4,6 %). Уведення щурам густого екстракту листя горобини звичайної сприяло зниженню цього показника на 27 % порівняно з групою контрольної патології, але перевищував інтактний контроль на 18 %.

На фоні застосування густого екстракту листя горобини звичайної та силімарину спостерігали однакове зниження інтенсивності процесів ВРО, про що свідчить зменшення рівня ТБК-АП під впливом густого екстракту листя горобини звичайної в 1,1 разу, а силімарину – у 1,2 разу. Також спостерігали тенденцію до поліпшення стану антиоксидантної системи гепатоцитів, під впливом густого екстракту листя горо-

бини звичайної: рівень ВГ у гепатоци-тах порівняно з нелікованим контролем збільшився на 14,3 %, а під дією силімарину він був на рівні контрольної патології.

При введенні досліджуваних засобів відзначали позитивну тенденцію щодо функції жовчоутворення, а саме, відновлення процесів холато- і холестеро-логенезу, швидкості секреції жовчі. Так, при застосуванні густого екстракту листя горобини звичайної порівняно з групою інтактного контролю швидкість секреції жовчі збільшилася в 1,2 разу, а порівняно з групою контрольної патології – зросла в 2 рази, що достовірно переважає аналогічний показник групи тварин, які отримували силімарин (у 1,3 разу). Під впливом густого екстракту листя горобини звичайної та силімарину рівень жовчних кислот відповідав нормі, тобто мав такі самі показники, як і в групі інтактного контролю, а порівняно з показниками нелікованих тварин цей показник збільшився в 1,2 разу.

У групах тварин, яких лікували досліджуваними препаратами, спостерігали підвищення вмісту холестеролу в жовчі порівняно з групою контрольної патології. Проте повної нормаліза-

ції даного показника так і не відбулося: уміст холестеролу у тварин, лікованих густим екстрактом листя горобини звичайної, був на 30 % нижчим, а під дією силімарину – на 47 % вищим, ніж у групі інтактних тварин.

Висновки

Згідно з отриманими результатами, густий екстракт листя горобини звичайної переважав силімарин за впливом на показники вмісту сечової кислоти, загального білка, холестеролу в сироватці крові, швидкості секреції жовчі в щурів, але поступався референтному препарату за впливом на активність АлАТ, уміст холестеролу в жовчі, ТБК-АП у гомогенаті печінки. Екстракт листя горобини звичайної та референтний препарат відновлювали показники ВГ, ЖК, ЛФ, МПК, жовчовиділення. Це дозволяє зробити висновок, що густий екстракт листя горобини звичайної за гепатозахисною дією не поступається препарату порівняння, а навіть переважає його. Отримані дані створюють перспективу для розробки на основі густого екстракту з листя горобини звичайної нового гепатопотектора.

1. Кононенко А. В. Обґрунтування використання листя горобини звичайної як альтернативи її плодам / А. В. Кононенко, С. М. Дроговоз, О. В. Криворучко // Вісник фармації. – 2012. – № 3 (71). – С. 72–74.
2. Зузук Б. М. Горобина птахоприваблива або звичайна (*Sorbus aucuparia* L.) Частина IV / Б. М. Зузук, Р. В. Куцик // Провізор. – 2008. – № 17. – С. 44–46.
3. Криворучко О. В. Елементний склад листя деяких видів роду *Sorbus* / О. В. Криворучко, А. В. Кононенко, В. І. Шатровська // Фітотерапія. Часопис. – 2010. – № 1. – С. 104–106.
4. Савченкова Л. В. Фармакологія и перспективы клинического применения биофлавоноидов / Л. В. Савченкова, И. П. Белоусова, Т. В. Афонина // Український медичний альманах. – 2006. – Т. 9, № 1. – С. 227–232.
5. Фітохімічне обґрунтування протизапальної активності біологічно активних речовин листя горобини звичайної / А. В. Кононенко, С. М. Дроговоз, О. В. Криворучко, Д. Б. Лобанова // Клінічна фармація. – 2012. – Т. 16, № 2. – С. 51–54.
6. Лобанова Д. Б. Дослідження гострої токсичності екстракту листя горобини звичайної (*Sorbus aucuparia*) / Д. Б. Лобанова, А. В. Кононенко, С. М. Дроговоз // Тези доп. всеукр. науково-практичної конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (19–20 квітня 2012 р., м. Харків). – С. 386.
7. Зузук Б. М. Горобина птахоприваблива або звичайна (*Sorbus aucuparia* L.) Частина III / Б. М. Зузук, Р. В. Куцик // Провізор. – 2008. – № 16. – С. 51–53.
8. Sukran Kultir Medicinal plants used in Kirklareli Province (Turkey) / Sukran Kultir // Journal of Ethnopharmacology. – 2007. – V. 111. – P. 341–364.
9. Доклинические исследования лекарственных средств: Методические рекомендации / Под ред. А. В. Стефанова. – К.: Авиценна, 2002. – 528 с.
10. Камышников В. С. Справочник по клиническо-биохимической лабораторной диагностике: в 2 томах / В. С. Камышников. – Минск: Беларусь, 2003. – Т. 2. – 463 с.
11. Біохімічні методи дослідження крові хворих: Методичні рекомендації для лікарів хіміко-токсикологічних відділів державних лабораторій ветеринарної медицини України / В. І. Левченко, Ю. М. Новожитская, В. В. Сахнюк [та ін.]. – К., 2004. – 104 с.

-
12. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / В. В. Меньшиков, Л. Н. Делекторская, Р. П. Золотницкая [и др.] / Под ред. В. В. Меньшикова. – М. : Медицина, 1997. – 368 с.
 13. Камышников В. С. Справочник по клиническо-биохимической лабораторной диагностике: в 2 томах / В. С. Камышников. – Минск : Беларусь, 2002. – Т. 1. – 495 с.
 14. Лапач С. М. Статистичні методи в медико-біологічних дослідженнях із застосуванням Excel / С. М. Лапач, А. В. Чубенко, П. М. Бабіч. – К. : Моріон, 2001. – 408 с.

А. В. Кононенко, С. М. Дрогвоз

Изучение гепатопротекторной активности экстракта рябины обыкновенной

Изучена гепатопротекторная активность водного экстракта рябины обыкновенной на модели субхронического гепатита, вызванного тетрахлорметаном и этанолом. По результатам исследования экстракт листьев рябины обыкновенной не уступал препарату сравнения (силлимарину), превосходя его по противовоспалительной и антиоксидантной активностям.

Ключевые слова: гепатопротекторная активность, экстракт рябины обыкновенной

A. V. Kononenko, S. M. Drogozov

Study of hepatoprotective activity of Sorbus aucuparia extract

Study of hepatoprotective activity of the water extract of *Sorbus aucuparia* was carried out on a model sub-chronic hepatitis induced by carbon tetrachloride and ethane. The study of *Sorbus aucuparia* leaves extract was not inferior to comparator drug (silymarin), and even exceeded it in anti-inflammatory and antioxidant activity.

Kew words: hepatoprotective activity, extract of *Sorbus aucuparia*

Надійшла: 14.11.2012 р.

Контактна особа: Кононенко Анна Володимирівна, аспірант, кафедра фармакології, Національний фармацевтичний університет, вул. Мельникова, 12, м. Харків.
Тел.: + 38 (057) 706-30-69. Електронна адреса: Emilia41618@yandex.ua

В. Д. Лук'янчук¹, О. І. Ніженковський¹, В. С. Федорова¹,
Д. С. Кравець¹, І. Й. Сейфулліна²,
О. Е. Марцинко², О. Г. Песарогло²

Скринінгове дослідження церебропротекторної активності координаційних сполук германію на моделі закритої черепно-мозкової травми

¹ДЗ «Луганський державний медичний університет»

²Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

Ключові слова: закрыта черепно-мозкова травма, координаційні сполуки германію, молекули середньої маси, ТБК-реактанти

Натепер, унаслідок інтенсивного розвитку промислового виробництва, зростання числа транспортних засобів та урбанізації, закрыта черепно-мозкова травма (ЗЧМТ) є однією із найактуальніших медичних та соціальних проблем. Постраждали із травмою голови становлять переважну більшість (62–65 %) серед усіх госпіталізованих у нейрохірургічні відділення України. Смертність від черепно-мозкового травматизму в Україні становить до 2,4 випадку на 10 тис. населення (у США – 1,8), тобто щорічно помирає 11–12 тис. осіб [1, 2]. Важливо, що основну групу постраждалих від травматичного пошкодження головного мозку складають люди віком від 20 до 50 років, тобто найбільш працездатний контингент населення [3].

Провідними патофізіологічними чинниками пошкодження головного мозку є гіпоксія, що призводить до порушення енергетичного гомеостазу, прооксидантно-антиоксидантної рівноваги, вуглеводного обміну, а також, як наслідок, пошкоджується гематоенцефалічний бар'єр, розвивається метаболічний ацидоз, набряк-набухання тканини головного мозку та синдром ендогенної інтоксикації [4].

У зв'язку із цим пріоритетним напрямом сучасної фармакології є пошук та розробка оригінальних засобів інтенсивної фармакотерапії ЗЧМТ із високою ефективністю та безпечністю серед представників нових хімічних сполук, яким можуть бути притаманні

церебропротекторні властивості. Упродовж останніх десятиліть у лабораторії кафедри фармакології ДЗ «Луганський державний медичний університет» (ДЗ «ЛугДМУ») проводяться дослідження нового класу елементоорганічних сполук – координаційних комплексів германію з різними біолігандами як потенційних засобів фармакотерапії екстремальних кисеньдефіцитних станів різного генезу, у тому числі ЗЧМТ [5–7].

Мета дослідження – провести скринінг високоефективного церебропротекторного засобу серед уперше синтезованих координаційних сполук германію з різними біолігандами на експериментальній моделі ЗЧМТ.

Матеріали та методи. Досліди проведені на 90 статевозрілих білих безпородних щурах масою 190–230 г відповідно до методичних рекомендацій ДП «Державний експертний центр МОЗ України» (ДП «ДЕЦ МОЗ України») [8] у лабораторії кафедри фармакології ДЗ «ЛугДМУ», що сертифікована ДП «ДЕЦ МОЗ України» (посвідчення № 03 від 25 грудня 2008 р.).

Первинний фармакологічний скринінг проводили на моделі ЗЧМТ, яку відтворювали за допомогою спеціального пристрою, розробленого на кафедрі фармакології ДЗ «ЛугДМУ» [9], дозованого за силою та орієнтованого за локалізацією удару вантажем (масою 45 г) вільного падіння (з висоти 80 см) на тим'яну ділянку черепа щура, зафіксованого в модифікованій камері Когана.

У скринінговому дослідженні використано 12 координаційних сполук германію з різними біолігандами: комплексні координаційні сполуки на осно-

ві германію й діетилентріамінпентаоцтової кислоти – ВІТАГЕРМ-1 (з літієм), ВІТАГЕРМ-2 (з натрієм), ВІТАГЕРМ-3 (з калієм), ВІТАГЕРМ-4 (з магнієм), ВІТАГЕРМ-5 (з амонієм); на основі германію – ОК-3 (з винною та нікотиною кислотами); а також на основі германію та 2-гідроксипропан-1,2,3-трикарбонової кислоти – ОК-7 (з калієм), ОК-8 (з натрієм), на основі германію та оксіетилідендифосфонової кислоти з пірацетамом – ВІТІН-1; комплекс тетраклориду германію – МІГУ-1 (з нікотиною кислотою), МІГУ-2 (з нікотинамідом), МІГУ-5 (з нікотинамідом та оксіетилідендифосфоновою кислотою). Усі вище перераховані сполуки синтезовані на кафедрі загальної хімії та полімерів Одеського національного університету імені І. І. Мечникова.

Досліджувані сполуки щурам вводили одноразово внутрішньочеревинно у вигляді 1 % водного розчину в різних дозах через 30 хв з моменту нанесення ЗЧМТ. Препаратом порівняння був 20 % розчин ноотропілу («UCB S.A. Pharma Sector Braine – L'alleud», Бельгія), який щурам вводили внутрішньочеревинно в дозі 200 мг/кг через 30 хв після нанесення механічного удару [10]. Контрольна група щурів (ЗЧМТ без лікування) отримувала аналогічний об'єм фізіологічного розчину натрію хлориду.

Кількісними критеріями фармакотерапевтичної ефективності досліджуваних сполук були: рівень молекул середньої маси (МСМ) у сироватці крові [11], як один із найінформативніших показників синдрому ендогенної інтоксикації – ключової ланки патогенезу ЗЧМТ, та концентрація ТБК-реактантів у крові та гомогенаті кори головного мозку тварин, що відображує активність процесів перекисного окиснення ліпідів, у тому числі посттравматичного генезу [12, 13]. Визначення МСМ та ТБК-реактантів проводили через 7 год після початку моделювання ЗЧМТ.

Водночас, з метою більш детальної порівняльної оцінки церебропротекторної активності координаційних сполук, упродовж перших 7 год з моменту моделювання ЗЧМТ вивчали перебіг клінічної картини посттравматичного періоду за модифікованим методом

S. Irvin [14]. При цьому за 4-бальною шкалою визначали вплив сполук, що досліджуються, на поведінкові реакції та неврологічний стан щурів із ЗЧМТ. Отримані в експерименті дані обробляють статистично за допомогою t-критерію Ст'юдента [15].

Результати та їх обговорення. У ході проведення первинного фармакологічного скринінгу встановлено, що практично всі досліджувані координаційні сполуки германію з біолігандами за умов ЗЧМТ проявляють захисну дію різного ступеня на травмований мозок (табл. 1). Статистично вірогідне порівняно з інтактною, контрольною та референтною групами зниження показників МСМ і ТБК-реактантів у щурів із травматичним пошкодженням головного мозку відмічено під дією сполук із лабораторними шифрами ВІТАГЕРМ-1, ВІТАГЕРМ-2, МІГУ-5, ОК-3 та ОК-8. Разом із тим, найефективнішою сполукою за церебропротекторною активністю в посттравматичному періоді ЗЧМТ є комплексна координаційна сполука на основі германію та діетилентріамінпентаоцтової кислоти з натрієм (ВІТАГЕРМ-2), про що свідчить суттєве в 1,75 разу ($P < 0,001$) порівняно з контрольною групою зниження значення показника МСМ при застосуванні з лікувальною метою цієї сполуки (200 мг/кг). Необхідно відмітити, що застосування сполуки ВІТАГЕРМ-2 призводить також до вірогідного ($P < 0,001 - 0,01$) зниження концентрації ТБК-реактантів як у крові, так і в корі головного мозку травмованих тварин відповідно у 2,6 та 2,2 разу відносно контролю.

Порівняльний аналіз даних скринінгових досліджень показує, що досить високу фармакотерапевтичну активність реалізують сполуки МІГУ-5 (120 мг/кг) та ОК-3 (118 мг/кг), при введенні яких зареєстровано зниження концентрації МСМ на 39,0 % і 35,2 % відповідно порівняно з контролем (ЗЧМТ без лікування), а також вірогідне ($P < 0,01 - 0,05$) зниження показників ТБК-реактантів майже до рівня, що реєструється в інтактних тварин. Однак лікувальна ефективність цих сполук поступається ВІТАГЕРМ-2, про що свідчать дані, наведені в таблиці 1.

Вплив координаційних сполук германію з біолігандами на рівень молекул середньої маси у сироватці крові, ТБК-реактивів у крові та гомогенаті кори головного мозку щурів із ЗЧМТ, $M \pm m$ ($n = 6$)

Група тварин	Доза, мг/кг	МСМ у сироватці крові, у.о.	ТБК-реактанти у крові, нмоль/л	ТБК-реактанти у головному мозку, нмоль/г
Інтактна		$0,117 \pm 0,009$	$29,91 \pm 1,35$	$58,76 \pm 3,85$
Контрольна		$0,364 \pm 0,013^*$	$50,21 \pm 6,49^*$	$111,11 \pm 9,01^*$
Референтна (ноотропіл)	200	$0,178 \pm 0,015^{**}$	$34,19 \pm 2,14^*$	$58,76 \pm 4,51^*$
ВІТАГЕРМ-1	200	$0,306 \pm 0,011^{**\Delta}$	$33,12 \pm 1,97^*$	$77,99 \pm 3,85^{**\Delta}$
ВІТАГЕРМ-2	200	$0,207 \pm 0,020^{**}$	$19,23 \pm 3,31^{**\Delta}$	$50,21 \pm 5,34^*$
ВІТАГЕРМ-3	200	$0,363 \pm 0,021^{*\Delta}$	$30,98 \pm 1,97^*$	$72,65 \pm 3,57^{**}$
ВІТАГЕРМ-4	200	$0,375 \pm 0,012^{*\Delta}$	$42,73 \pm 3,17^*$	$76,92 \pm 4,68^{**\Delta}$
ВІТАГЕРМ-5	200	$0,399 \pm 0,008^{*\Delta}$	$32,05 \pm 2,34^*$	$85,47 \pm 3,94^{**\Delta}$
ОК-3	118	$0,236 \pm 0,013^{**\Delta}$	$44,87 \pm 5,96^*$	$58,76 \pm 1,97^*$
ОК-7	65	$0,284 \pm 0,038^{*\Delta}$	$43,16 \pm 5,33$	$91,88 \pm 7,88^{*\Delta}$
ОК-8	190	$0,280 \pm 0,017^{**\Delta}$	$39,53 \pm 1,97^*$	$76,92 \pm 5,97^{**\Delta}$
МІГУ-1	130	$0,288 \pm 0,020^{**\Delta}$	$48,08 \pm 2,74^{*\Delta}$	$74,78 \pm 4,87^{**}$
МІГУ-2	100	$0,312 \pm 0,016^{**\Delta}$	$50,21 \pm 5,83^{*\Delta}$	$63,03 \pm 5,59^*$
МІГУ-5	120	$0,222 \pm 0,018^{**}$	$30,98 \pm 3,85^*$	$54,49 \pm 4,30^*$
ВІТІН-1	115	$0,377 \pm 0,023^{*\Delta}$	$40,60 \pm 4,27^*$	$72,65 \pm 3,94^{**}$

Примітка. $P < 0,001-0,05$ достовірність різниці порівняно з: *інтактною групою;

* контрольною групою; Δ референтною групою.

Разом із тим, не було отримано бажаних результатів при застосуванні таких координаційних сполук германію, як ВІТІН-1, ВІТАГЕРМ-3, ВІТАГЕРМ-4 та ВІТАГЕРМ-5. Більш того, концентрація МСМ у крові щурів зі ЗЧМТ при застосуванні ВІТІН-1, ВІТАГЕРМ-4 і ВІТАГЕРМ-5 навіть дещо перевищувала значення, що ідентифікуються в контролі, проте їхня різниця не є вірогідною ($P > 0,05$).

Отже, за результатами аналізу впливу сполук, які досліджуються, на стан показників, що характеризують процеси ендотоксемії та ліпоперекиснення, можна констатувати, що за умов ЗЧМТ найбільшу лікувальну дію має ВІТАГЕРМ-2, про це переконливо свідчить нормалізація вищезгаданих біохімічних показників, які максимально наближуються до значень, зареєстрованих у «здорових» тварин. Цілком імовірно, що ВІТАГЕРМ-2 здатен запобігати розвитку окиснювального стресу та синдрому ендогенної інтоксикації, важливих ланок патогенезу ЗЧМТ.

Для більш детальної оцінки результатів, отриманих при первинному скринінгу, вважали за доцільне вивчити пове-

дінкові та вегетативні реакції, рухову активність, стан центральної нервової системи, а також нервово-м'язової збудливості у тварин із ЗЧМТ на фоні застосування в лікувальному режимі оригінальних германійорганічних сполук. Отримані дані представлено в таблиці 2.

Порівняльна оцінка неврологічного статусу щурів за умов експерименту показала, що при ЗЧМТ (контроль) різко зменшується настороженість, яка складає 0,33 бала з можливих 4 та проявляється виражена пасивність, що складає 2,8 бала порівняно з інтактними тваринами. У травмованих щурів з'являється агресія, яка значно (у 3,67 бала) перевищує аналогічний показник, що ідентифікується у «здорових» тварин, а також суттєво знижується ґрумінг. Вивчення нервово-м'язової збудливості в щурів контрольної групи показало, що знижується тактильна та больова реакції, а також реакція на звуковий подразник на 2,7; 1,8 і 2,8 бала відповідно порівняно з інтактною групою. Водночас у контролі спостерігали тремор, виражену атаксію, що супроводжувалася підвищенням тонуусу кінцівок до 2,67 бала, але без проявів судом.

Таблиця 2

Неврологічний статус тварин із ЗЧМТ на фоні застосування германійорганічних сполук (за тестом Грвіна у балах) (n = 6)

Група тварин	Настороженість	Пасивність	Знепокоєння	Агресія	Грумінг	Тактильна реакція	Реакція на стук	Больова реакція	Тремор	Судоми	Атаксія	Тонус кінцівок	Птоз	Салівація	Сечовиділення	Дефекація	Копір шкіри
Інтактна	4,00	0,00	0,00	0,00	4,00	4,00	4,00	4,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00
Контрольна	0,33	2,80	0,00	3,67	0,00	1,33	1,17	2,17	3,33	0,00	4,00	2,67	2,00	0,00	1,00	0,83	1,33
Референтна (ноотропіл)	1,67	2,17	0,00	1,83	1,33	2,00	2,00	2,83	0,00	0,00	1,67	1,33	0,67	0,67	0,20	1,00	2,00
ВІТАГЕРМ-1	2,50	1,83	0,00	2,00	1,50	2,67	1,67	2,33	1,17	0,00	2,33	1,50	1,00	0,33	1,17	0,83	2,17
ВІТАГЕРМ-2	3,33	0,50	0,00	0,83	2,67	3,50	3,17	3,50	0,00	0,00	1,00	0,50	0,50	0,00	0,00	0,17	3,33
ВІТАГЕРМ-3	0,67	2,83	0,00	3,17	1,17	1,67	1,50	2,17	2,33	0,17	3,17	1,67	1,33	0,00	0,30	1,00	2,17
ВІТАГЕРМ-4	0,50	3,00	0,50	2,83	0,83	1,17	1,17	1,83	2,67	0,17	2,83	2,33	1,67	0,67	1,30	1,33	1,5
ВІТАГЕРМ-5	0,17	3,33	0,67	3,50	0,67	1,33	0,83	2,00	2,67	0,33	3,00	2,50	1,50	1,00	1,00	1,67	1,33
ОК-3	2,17	1,33	0,00	1,67	1,33	1,83	1,67	3,33	0,00	0,00	1,33	0,67	0,67	0,00	0,50	0,67	2,00
ОК-7	1,83	1,33	0,00	2,67	1,33	1,50	1,50	2,50	1,17	0,00	2,67	1,33	0,33	0,33	0,70	0,50	2,00
ОК-8	2,00	1,33	0,00	2,33	1,17	1,33	1,17	3,00	0,00	0,00	2,33	0,67	1,50	0,17	0,50	0,67	2,00
МІГУ-1	1,83	2,67	0,00	2,50	1,67	1,67	1,33	2,67	0,83	0,00	3,17	1,67	0,67	0,33	0,20	0,33	2,50
МІГУ-2	0,50	2,50	0,33	3,00	1,33	1,50	1,17	2,33	2,33	0,00	2,67	1,33	1,33	0,67	0,70	0,33	2,00
МІГУ-5	3,17	0,50	0,00	1,50	2,50	3,83	3,33	3,50	0,00	0,00	1,33	0,67	0,33	0,00	0,20	0,00	3,50
ВІПН-1	0,50	2,50	0,50	3,17	1,17	1,33	1,33	2,00	2,33	0,00	3,17	0,83	1,00	0,67	0,70	0,67	2,50

Дослідження проявів вегетативних реакцій при ЗЧМТ (контроль) показало, що в цих тварин розвивається птоз, збільшується кількість сечовипускання та актів дефекації порівняно з інтактними тваринами, водночас реєструється блідість шкіряних покривів.

Щодо перебігу клінічної картини в тварин із травмою головного мозку на фоні застосування координаційних германійорганічних сполук, то найсприятливіший плин симптомів ЗЧМТ спостерігали за введення сполуки ВІТАГЕРМ-2. Це твердження базується на експериментально-встановленому факті, згідно з яким ця сполука нормалізує поведінкові реакції тварин, сприяючи підвищенню в 10 разів рівня настороженості та зниженню рівня пасивності на 82 % порівняно з контрольною групою тварин. Ступінь агресії при введенні ВІТАГЕРМ-2 складав 0,83 бала, а це у 4 рази менше, ніж у контрольній групі тварин. Поведінка тварин, яка спрямована на очищення поверхні тіла (грумінг) при застосуванні ВІТАГЕРМ-2 у 2 рази перевищує значення, що реєстрували в щурів референтної групи. Тактильна та больова реакції у тварин з ЗЧМТ, лікованих ВІТАГЕРМ-2, підвищується на 62 % і 38 % відповідно, а також збільшується реакція на звуковий подразник у 2,7 разу порівняно із контрольною групою. Крім того, уведення ВІТАГЕРМ-2 щурам із травмою голови призводить до зменшення атаксії та тонуусу кінцівок майже до рівня, що ідентифікували в інтактній групі, а тремору і судом у дослідній групі не спостерігали взагалі. Стан вегетативних функцій нервової системи в щурів, яких лікували ВІТАГЕРМ-2, не порушений: відсутнє спонтанне сечовиділення, саливація та дефекація в нормі. При цьому птоз під впливом ВІТАГЕРМ-2 знижується на 1,5 бала порівняно із контролем

та наближається до рівня показника інтактних тварин. Водночас колір шкіри та слизових оболонок тварин із ЗЧМТ, яким вводили ВІТАГЕРМ-2, наближається до таких у щурів інтактної групи.

Таким чином, отримані в скринінгових дослідженнях дані дозволяють стверджувати про наявність у координаційної сполуки ВІТАГЕРМ-2 церебропротекторної активності, що виявлялося за зменшенням показників ендогенної інтоксикації та ліпоперекиснення, а також за неврологічним статусом тварин за умов ЗЧМТ.

Щодо інших досліджуваних у скринінгу сполук германію з різними біолігандами, то згідно із тестом Ірвіна, при їхньому застосуванні не було виявлено бажаної ефективності на моделі ЗЧМТ.

Висновок

Отримані в експерименті на моделі ЗЧМТ результати скринінгового дослідження нових координаційних комплексів германію з біолігандами, дозволяють дійти висновку, що найбільша церебропротекторна активність притаманна координаційній сполуці на основі германію та діетилентріамінпентаоцтової кислоти з натрієм (ВІТАГЕРМ-2). Цю сполуку можна розглядати як потенційний фармакотерапевтичний засіб, що може застосовуватися для захисту головного мозку саме в ранньому посттравматичному періоді. Ефективність сполуки ВІТАГЕРМ-2 підтверджується зменшенням показників синдрому ендогенної інтоксикації та окиснювального стресу, пришвидшенням відновлення неврологічного статусу та поведінки тварин з ЗЧМТ.

Вищезазначене може бути підґрунтям для подальших поглиблених досліджень механізмів реалізації церебропротекторної дії ВІТАГЕРМ-2 як потенційного засобу фармакотерапії ЗЧМТ.

1. Педаченко Є. Г. Особливості діагностики дифузного аксонального пошкодження у хворих різних вікових груп / Є. Г. Педаченко, В. О. Бобков // Науковий вісник Ужгородського університету, серія «Медицина». – 2012. – № 1 (43). – С. 93–97.
2. Li X. Y. Diffuse axonal injury: Novel insights into detection and treatment / X. Y. Li, D. F. Feng // J. Clin. Neurosci. – 2009. – V. 16 (5). – P. 614–619.
3. Association of contact loading in diffuse axonal injuries from motor vehicle crashes / N. Yoganandan, T. A. Gennarelli, J. Zhang [et al.] // J. Trauma. – 2009. – V. 66 (2). – P. 309–315.
4. Порівняльна оцінка ефективності ацетилцистеїну з ноотропілом при черепно-мозковій травмі / В. Д. Лук'янчук, В. С. Федорова, Д. С. Кравець [та ін.] // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2011. – № 1. – С. 156–161.

5. Координаційні сполуки германію – потенційні засоби знешкодження при ендотоксикозі / В. Й. Кресюн, Т. Р. Лучишин, І. Й. Сейфулліна [та ін.] // Журнал НАМН України. – 2012. – Т. 18, № 1. – С. 120–125.
6. Скринінг і порівняльна оцінка протиішемічної ефективності серед координаційних сполук германію при гострій цереброваскулярній недостатності / В. Д. Лук'янчук, І. О. Житіна, І. Й. Сейфулліна [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2010. – № 1–2. – С. 61–64.
7. Лук'янчук В. Д. Стан енергетичного гомеостазу у щурів при застосуванні потенційного церебропротектора – ОК-3 в умовах закритої черепно-мозкової травми / В. Д. Лук'янчук, А. А. Висоцький, І. Й. Сейфулліна // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2009. – № 3 (10). – С. 20–27.
8. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації / під ред. чл. – кор. АМН України О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2002. – 567 с.
9. Патент 13678, Україна, МПК (2006) G09B 23/28. Спосіб моделювання черепно-мозкової травми / Лук'янчук В. Д., Шевчук О. В., Бадінов О. В. заявники та патентовласники Луг. держ. мед. ун-т. – № u200509483; заявл. 10.10.05; опубл. 17.04.06, Бюл. № 4. – 8 с.
10. Іванюшко В. Л. Оптимізація надання допомоги потерпілим з черепно-мозковою травмою / В. Л. Іванюшко, І. А. Павленко // Практична медицина. – 2006. – Т. 12, № 4. – С. 27–33.
11. Способ определения «средних молекул» / В. В. Николайчик, В. В. Моин, В. В. Кирковский [и др.] // Лабораторное дело. – 1991. – № 10. – С. 13–18.
12. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Г. Г. Гаршвили // Современные методы в биохимии: под ред. В. И. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 57–59.
13. Состояние перекисного окисления липидов, антиоксидантной защиты крови у больных инфарктом миокарда, отягощенным недостаточностью кровообращения / Н. И. Тарасов, А. Т. Тепляков, Е. В. Малахович [и др.] // Терапевтический архив. – 2002. – № 12. – С. 12–15.
14. Ковалев Д. Г. Влияние нового производного аденинового ряда на неврологический статус животных при однократном введении / Д. Г. Ковалев, А. А. Озеров // Астраханский медицинский журнал. – 2011. – Т. 6, № 1. – С. 75–78.
15. Кобзарь А. И. Прикладная математическая статистика. – М. : Физматлит, 2006. – 816 с.

**В. Д. Лук'янчук, А. И. Ниженковский, В. С. Федорова, Д. С. Кравец,
И. Й. Сейфулліна, Е. Э. Марцинко, А. Г. Песарогло**
**Скрининговое исследование церебропротекторной активности
координационных соединений германия на модели закрытой
черепно-мозговой травмы**

В результате проведенного комплексного скринингового исследования установлено, что среди впервые синтезированных координационных соединений германия с различными биолигандами максимальную активность на модели закрытой черепно-мозговой травмы (ЗЧМТ) проявляет соединение германия с диэтилен триаминпентауксусной кислотой и натрием (лабораторное название ВИТАГЕРМ-2). Внутривентрикулярное введение данного соединения животным с ЗЧМТ (200 мг/кг) оказывает церебропротекторное действие, что проявляется достоверным снижением маркера эндотоксикоза в крови (молекул средней массы) и продуктов перекисного окисления липидов (ТБК-реактантов) в крови и коре головного мозга, улучшением неврологического статуса.

Ключевые слова: закрытая черепно-мозговая травма, координационные соединения германия, молекулы средней массы, ТБК-реактанты

**V. D. Lukyanchuk, O. I. Nizhenkovsky, V. S. Fedorova, D. S. Kravets,
I. I. Seifullina, E. E. Martsinko, A. G. Pesaroglo**
**Screening study of cerebroprotective action of coordinating germanium
compounds on the model of closed craniocerebral injury**

As a result of a comprehensive screening study of the newly synthesized coordinating germanium compounds with different bioligands on the rats under model of a closed craniocerebral injury was established the maximum pharmacological activity of compound of germanium with diethylenetriaminepentaacetic acid and sodium (laboratory code VITAGERM-2). Intraperitoneal administration of this compound to animals with craniocerebral injury caused a protective effect on injured brain, which manifested by significant reduction of endotoxemic markers (middle-weight proteins), the products of lipid peroxidation (TBA-reactants) in laboratory rats tissues, and improving of neurologic state.

Key words: closed craniocerebral injury, coordination germanium compounds, middle-weight proteins, TBA-reactants

Надійшла: 31.08.2012 р.

Контактна особа: Лук'янчук Віктор Дмитрович, докт. мед. наук, професор, кафедра фармакології, ДЗ «Луганський державний медичний університет», кв. 50-річчя Оборони Луганська, 1, м. Луганськ, 91045. Тел.: + 38 (0642) 63-02-77.

К. В. Монатко, О. А. Подплетня

Дослідження гострої токсичності, діуретичної та урикозуричної дії ліофільного порошку кавуна

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

Ключові слова: ліофільний порошок м'якоті кавуна, гостра токсичність, діуретична дія, урикозурична дія

Кавун звичайний (лат. *Citrullus landtus*, син. *Citrullus vulgaris*), що належить до сімейства Гарбузові (*Cucurbitaceae*), останнім часом привертає все більшу увагу науковців, як в Україні, так і за її межами. Незважаючи на різноманітність використання в народній медицині, ще не знайдено застосування цієї рослини в офіційній медицині. Значною мірою це пов'язано з важкістю зберігання, руйнуванням біологічно активних речовин та мікробіологічним псуванням ягоди з часом, а також сезонністю проростання рослини [1, 10].

Наукові дослідження, що проводяться, головним чином, на Близькому Сході та в Азії, де гарбузові використовуються як рослинні ліки нетрадиційною медициною, показали відмінні результати щодо використання *Citrullus lanatus* у традиційній фітотерапії. Дозрілі плоди цієї рослини вживають як жарознижувачий засіб [11]. Плоди виявляють діуретичну дію та ефективні при лікуванні водянки та ниркових каменів [7]. Шкірку кавуна призначають у випадках алкогольного отруєння та цукрового діабету [9]. Коріння рослини вживають як проносний засіб, а у високих дозах – як блювотний [11]. Насіння кавуна виявляє заспокійливу, діуретичну, відхаркувальну, тонізуючу дію [11, 9]. Іноді його використовують при лікуванні захворювань сечовивідних шляхів [11] та нетриманні сечі [12]. Насіння є сильним глистогінним засобом та має гіпотензивну дію. Жирні олії в насінні, а також водні та спиртові екстракти паралізують стрічкових та круглих черв'яків [8]. У Судані м'якоть здебільшого використовують при опі-

ках, набряках, ревматизмі, подагрі та як проносний засіб [13].

Мета дослідження – вивчення гострої токсичності, діуретичної та урикозуричної дії ліофільного порошку м'якоті кавуна, визначення ефективної дози.

Матеріали та методи. Експериментальні дослідження проводили на двох видах тварин (мишах і щурах). Тварини, яких використовували для проведення дослідження, знаходилися в умовах віварію з дотриманням санітарно-гігієнічних норм на стандартному раціоні [3, 4].

Дослідження гострої токсичності (LD_{50}) ліофільного порошку м'якоті кавуна (ЛПК) було проведено за методом В. К. Прозоровського та співавторів [5]. Експеримент проводили на білих нелінійних мишах самцях та самицях середньої масою ($19,9 \pm 0,06$ г), яким внутрішньошлунково (за допомогою металевого зонду) вводили суспензію ЛПК. Спостереження за тваринами проводили протягом 14 діб.

Дослідження діуретичної дії ЛПК проводили на щурах за методом Є. Б. Берхіна [2]. ЛПК одноразово вводили тваринам у дозах від 50 до 1500 мг/кг. За умов спонтанного діурезу збір сечі проводили впродовж 24 год, за водного навантаження (фізіологічний розчин у кількості 3 % від маси тіла) тварин витримували в обмінних клітках упродовж 2 год (інтактні тварини отримували еквівалентну кількість розчину NaCl) та вимірювали діурез.

Вплив ЛПК на виділення сечової кислоти (СК) досліджували на інтактних щурах при курсовому введенні протягом 7 днів у дозах від 150 до 1500 мг/кг, контрольні тварини отримували еквівалентну кількість розчину NaCl. Гіпергідратацію організму здійснювали шляхом рідинного навантаження (фізіологічний розчин у кількості 3 % від

маси тіла тварин), сечу збирали впродовж 2 год. У сечі та крові визначали рівень сечової кислоти за допомогою стандартних тест-наборів НПВ «Філісіт-Діагностика» (Україна), розраховували екскрецію.

При статистичній обробці дані надавали у вигляді середнє значення $\pm$ стандартна помилка середнього значення ($M \pm m$), статистичну значущість міжгрупових відмінностей оцінювали за критерієм Даннета (Dunnett test). Зміни вважали достовірними при $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення. При одноразовому внутрішньошлунковому введенні мишам ЛПК у дозі 5000 мг/кг [3] загибелі піддослідних тварин протягом 14 діб не спостерігали. Відмічали наступні зміни: знизилася рухова активність тварин, почастишало дихання, але за 2 год такі явища зникли. Стан мишей нормалізувався та надалі практично не відрізнявся від інтактних тварин – змін рухової та поведінкової активності, температури тіла, шкіри, шерсті, слизових оболонок рота, носа, очей не спостерігали.

Виходячи з того, що при внутрішньошлунковому введенні ЛПК у дозі

5000 мг/кг не викликає загибелі тварин, LD_{50} для досліджуваної речовини встановити не можливо. Отже, за класифікацією К. К. Сидорова [6], ЛПК можна віднести до класу V – практично нетоксичні речовини.

Для дослідження діуретичної активності ЛПК були обрані такі дози: 50, 100, 150, 250, 500, 750, 1000, 1500 мг/кг (табл. 1). Найефективнішою виявилася доза ЛПК 150 мг/кг. Добовий діурез перевищував показники вихідного стану на 167,9 % ($p < 0,01$), при рідинному навантаженні – на 49,2 % ($P < 0,001$). Найменш ефективно впливали на діурез при спонтанному сечовиділенні доза 1000 мг/кг (достовірних змін відносно інтактних тварин не спостерігали $P > 0,90$) та 1500 мг/кг при рідинному навантаженні (+3,8 %, $P > 0,60$).

За результатами дослідження (табл. 2) встановлено, що ЛПК при курсовому введенні проявляє виражені урикозуричні властивості. Достовірне збільшення в групах рівня СК у крові ($P < 0,001$) імовірно пов'язане зі здатністю ЛПК до виведення СК із тканин в організмі щурів. Достовірне збільшення екскреції СК у дослідних гру-

Таблиця 1

Діуретична дія ліофільного порошку кафуна при одноразовому введенні в різних дозах ($M \pm m$, % відхилення від вихідного стану)

Доза ЛПК, мг/кг	Спонтанне сечовиділення		Водне навантаження	
	Діурез, мл/100 г за 24 год	P^*	Діурез, мл/100г за 2 год	P^*
Вихідний стан	0,80 $\pm$ 0,01		1,80 $\pm$ 0,01	
50	0,90 $\pm$ 0,01 + 16,0 %	< 0,001	2,40 $\pm$ 0,03 + 30,6 %	< 0,001
100	1,60 $\pm$ 0,03 + 96,3 %	< 0,001	2,50 $\pm$ 0,06 + 34,4 %	< 0,001
150	2,20 $\pm$ 0,03 + 167,9 %	< 0,001	2,70 $\pm$ 0,04 + 49,2 %	< 0,001
250	2,00 $\pm$ 0,03 + 151,9 %	< 0,001	2,60 $\pm$ 0,03 + 40,4 %	< 0,001
500	1,20 $\pm$ 0,02 + 45,7 %	< 0,001	2,30 $\pm$ 0,04 + 25,7 %	< 0,001
750	1,20 $\pm$ 0,03 + 44,4 %	< 0,001	2,00 $\pm$ 0,05 + 11,5 %	< 0,001
1000	0,80 $\pm$ 0,01 + 2,5 %	> 0,90	2,20 $\pm$ 0,03 + 20,8 %	< 0,001
1500	1,00 $\pm$ 0,02 + 28,4 %	< 0,001	1,90 $\pm$ 0,01 + 3,8 %	> 0,60

Примітка. ЛПК – ліофільний порошок кафуна; P – рівень значущості відмінностей порівняно з вихідним станом.

Вплив ліофільного порошку кавуна при курсовому введенні на рівень сечової кислоти у крові та її екскрецію ($M \pm m$, % відхилення від вихідного стану)

Доза ЛПК, мг/кг	Спонтанне сечовиділення		Водне навантаження	
	СК крові, мкмоль/л	Екскреція СК, мкмоль/100 г за 24 год	СК крові, мкмоль/л	Екскреція СК, мкмоль/100 г за 2 год
Вихідний стан	30,80 ± 0,67	4,23 ± 0,06	48,91 ± 0,49	0,34 ± 0,01
50	72,83 ± 0,49** + 136,5 %	7,74 ± 0,11** + 83,0 %	76,09 ± 0,79** + 55,6 %	0,83 ± 0,01** +144,1 %
100	74,64 ± 0,46** +142,3 %	11,29 ± 0,13** + 166,9 %	69,57 ± 0,79** + 42,2 %	1,12 ± 0,03** +229,4 %
150	76,45 ± 0,67** + 148,2 %	13,91 ± 0,26** + 228,8 %	97,46 ± 0,67** + 99,3 %	1,40 ± 0,06** +311,8 %
250	98,55 ± 0,46** + 220,0 %	14,52 ± 0,17** + 243,3 %	97,83 ± 0,78** + 100,0 %	1,40 ± 0,02** +311,8 %
500	92,75 ± 0,72** + 201,1 %	12,07 ± 0,20** + 185,3 %	88,77 ± 0,87** + 81,5 %	1,18 ± 0,03** +247,1 %
750	70,65 ± 0,49** + 129,4 %	8,01 ± 0,14** + 89,4 %	59,78 ± 0,49** + 22,2 %	0,92 ± 0,03** +170,6 %
1000	71,38 ± 0,66** + 131,8 %	4,92 ± 0,11* + 16,3 %	36,59 ± 0,67** - 25,2 %	1,03 ± 0,02** + 202,9 %
1500	62,32 ± 0,46** + 102,3 %	6,85 ± 0,15** + 61,9 %	35,14 ± 0,68** - 28,2 %	0,96 ± 0,02** + 182,4 %

Примітка. ЛПК – ліофільний порошок кавуна; СК – сечова кислота; * $P < 0,05$;

** $P < 0,001$ порівняно з вихідним станом.

пах (від $P < 0,05$ до $P < 0,001$) можливо пояснити здатністю ЛПК блокувати реабсорбцію СК та сприяти таким чином виведенню її з організму. Найбільшу урикозуричну дію при курсовому введенні за умов спонтанного сечовиділення та водного навантаження виявили дози 150 мг/кг та 250 мг/кг, що робить їх перспективними для подальшого поглибленого вивчення при експериментальному нефролітазі.

Підсумовуючи вищенаведені результати, перспективними для подальших досліджень виявилися дози 150 мг/кг

та 250 мг/кг, які поряд з потужними діуретичними властивостями виявляють виражену урикозуричну дію.

Висновки

1. Відповідно до класифікації речовин за токсичністю ЛПК відноситься до V класу – практично нетоксичні речовини.
2. ЛПК у дозі 150 мг/кг при однократовому введенні виявляє найвираженіший діуретичний ефект.
3. При курсовому введенні ЛПК у дозах 150 мг/кг та 250 мг/кг має потужну урикозуричну дію.

1. Антиейджинг: фітотерапія проти старіння: монографія: за ред. доц. Л. В. Соколової / Л. В. Соколова, О. І. Павл., О. М. Шаповал [та ін.]. – Тернопіль : Крок, 2011. – 190 с.
2. Берхин Е. Б. Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена / Е. Б. Берхин, Ю. И. Иванов. – Барнаул : Алтайское книжн. изд-во, 1972. – 199 с.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації: за ред. О. В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.
4. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захарина Е. А., Западнюк Б. В. – К. : Вища школа, 1983. – 381 с.
5. Прозоровский В. К. Табличный метод определения минимальной токсической дозы / Прозоровский В. К., Пчелинцев С. П. // Фармакология и токсикология. – 1983. – С. 91–94.
6. Сидоров К. К. Токсикология новых промышленных химических веществ / К. К. Сидоров. – М.: Медицина, 1973. – Вып. 3. – 47 с.
7. Chiej R. Encyclopaedia of medicinal plants / R. Chiej. – Edinburgh : MacDonald, 1984. – 448 p.

-
8. Chopra R. N. Indigenous drugs of India / R. N. Chopra.– Calcutta: Academic Publishers, 1958.– 816 p.
 9. Duke J. A. Medicinal plants of China / J. A. Duke, E. S. Ayensu.– Algonac, Michigan : Reference Publ., 1985.– 2 Vols.– 705 p.
 10. Gil M. I. Quality changes and nutrient retention in fresh-cut versus whole fruits during storage / Gil M. I., Aguayo E., Kader A. A. // J. Agric. Food Chem.– 2006.– V. 54.– № 12.– P. 4284–4296.
 11. Grieve M. A modern herbal / M. Grieve, C. F. Leyel.– London : Penguin Harmondsworth, 1984.– 912 p.
 12. Moerman D. E. Native American ethnobotany / D. E. Moerman.– Portland, Oregon: Timber Pr., 1998.– 927 p.
 13. Schippers R. R. African indigenous vegetables / R. R. Schippers, L. Budd.– Rome: IPGRI; Chatham, United Kingdom: Nat. Res. Institute, 1997.– 214 p.

Е. В. Монатко, Е. А. Подплетняя

Исследование острой токсичности, диуретического и урикозурического действия лиофильного порошка арбуза

В эксперименте на мышах исследовали острую токсичность лиофильного порошка мякоти арбуза (ЛПК). На крысах в условиях спонтанного мочеиспускания и водной нагрузки проанализировали влияние ряда доз ЛПК на диурез и уровень мочевой кислоты. Эффективными оказались дозы 150 мг/кг и 250 мг/кг, что делает их перспективными для дальнейших исследований.

Ключевые слова: лиофильный порошок арбуза, острая токсичность, диуретическое действие, урикозурическое действие

C. V. Monatko, E. A. Podpletnyaya

Acute toxicity studies of lyophilic watermelon pulp powder, diuretic effect and influence on the level of uric acid

In the experiment on mice was investigated the acute toxicity of lyophilic watermelon pulp powder (LPW). On rats in conditions of spontaneous urination and fluid load were analyzed the influences of several doses of LPW on diuresis and levels of uric acid. The most effective were doses of 150 mg / kg and 250 mg / kg, which makes them promising for further research.

Key words: lyophilic watermelon pulp powder, acute toxicity, diuretic effect, influence on the level of uric acid

Надійшла: 28.09.2012 р.

Контактна особа: Монатко Катерина Віталіївна, аспірант, кафедра загальної та клінічної фармації, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», вул. Дзержинського, 9, м. Дніпропетровськ, 49044. Тел.: +38 (056) 713-52-57.

Т. В. Новохацька

Корекція скоротливої дисфункції судин спонтанно гіпертензивних щурів шляхом сайленсингу гена δ -ізоформи протеїнкінази С за допомогою РНК-інтерференції

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

Ключові слова: дельта ізоформа протеїнкінази С, РНК-інтерференція, гладенькі м'язи, $ВК_{Ca}$ канали, артеріальна гіпертензія

Відомо, що артеріальна гіпертензія (АГ) супроводжується розвитком судинної дисфункції, проявами якої є гіпертонус судин і так звана констрикторна готовність судинної стінки, яка виражається в збільшенні скорочувальних відповідей судин на дію активатора [1].

Оскільки тонус судини безпосередньо залежить від мембранного потенціалу гладеньком'язових клітин (ГМК), значну роль у цьому процесі відіграє стан калієвої провідності мембрани ГМК, яка, у тому числі й за механізмом негативного зворотного зв'язку, обмежує деполяризацію мембрани ГМК і розвиток надмірного скорочення судинної стінки. Значну частину калієвої провідності формують $ВК_{Ca}$ канали, причому показано, що ця складова провідності пригнічується при розвитку АГ різного генезу [2], що може призводити до неконтрольованого скорочення судин і, як наслідок, до підвищення артеріального тиску.

Ще одним фактором контролю судинного тонуусу є судинний ендотелій, який за рахунок дилататорних субстанцій, що секретуються, обмежує та регулює скорочувальну активність судин [3]. Установлено, що дилататорна здатність ендотелію також пригнічується при розвитку АГ [4]. Таким чином, два ці параметри – стан калієвої провідності мембрани ГМК і дилататорна активність ендотелію – значною мірою характеризують скорочувальні властивості судинної стінки, а також ступінь пато-

логічних змін скоротливості судин при розвитку АГ.

Відомо, що протеїнкіназа С (ПКС) бере участь у регуляції багатьох внутрішньоклітинних процесів, таких як передача сигналу, ріст і скоротливість ГМК [5, 6], а також впливає на проникність мембрани, активність калієвих каналів і судинний тонус [7, 8]. Показано, що АГ супроводжується гіперактивацією ПКС, причому зниження її активності фармакологічним шляхом за допомогою блокаторів може сприяти нормалізації скорочувальної активності судинної стінки [9]. Багато дослідників відводять важливу роль δ -ізоформі ПКС, активність якої значно підвищена при АГ [10, 11].

Одним з методів, що дозволяє регулювати активність внутрішньоклітинних ферментів, є метод РНК-інтерференції, за допомогою якого можна здійснювати спрямований і селективний вплив на внутрішньоклітинну «мішень», що цікавить, для якої відома структура кодуєчого гена [12]. Такий вплив здійснюється за допомогою малих інтерферуючих РНК (міРНК). Головною проблемою є доставка міРНК усередину клітини, оскільки в крові відбувається їхнє швидке руйнування. Стабілізація й успішна трансфекція міРНК може здійснюватися за допомогою переносників, якими можуть бути, наприклад, ліпосоми, векторні носії тощо [13].

Мета дослідження – спроба нормалізації скорочувальної активності судин щурів з генетично детермінованою гіпертензією (ГДГ) за рахунок пригнічення експресії та активності δ -ізоформи ПКС з використанням міРНК як у «голому», так і у вигляді комплексу з векторним носієм (плазмідною).

Матеріали та методи. Дослідження були проведені на статевозрілих самцях (250–300 г) щурів лінії Вістар, які були розподілені на 6 груп: 1 – контрольна група, 2 – щури з генетично детермінованою гіпертензією (ГДГ), 3 та 4 – щури з ГДГ після застосування міРНК на 7 та 30 добу, 5 та 6 – щури з ГДГ після застосування міРНК на основі плазмідного вектора на 7 та 30 добу. Усі досліди проводили відповідно до вимог Європейської конвенції захисту тварин, що використовуються в експериментальних та інших цілях, та були ухвалені комітетом з етики.

Ізоляція ГМК клітин аорти щура. ГМК виділяли з попередньо очищеної від сполучної тканини та витриманої протягом 5–10 хв у безкальцієвому розчині Кребса грудної аорти. Склад розчину: (у ммоль/л) 140 NaCl; 5,9 KCl; 2,5 MgCl₂; 11,5 глюкози; 10 HEPES (pH 7,4). Сегмент аорти 1,0–1,5 см довжиною розрізали на шматочки розміром 2 × 2 мм, які інкубували протягом 33 хв при температурі 37 °C у номінально безкальцієвому розчині Кребса з додаванням колагенази – тип ІА (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, які зберігали в холодильнику при температурі +5 °C, залишалися в функціональному стані протягом 4 год.

Електрофізіологія. 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 із виходу підсилювача надходив через фільтр низьких частот (частота зрізу 2 кГц) на АЦП і оцифровувався із частотою дискретизації 10 кГц. Типові значення мембранного опору клітин 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 MgCl₂; 10 HEPES; 2,5 CaCl₂; 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 CaCl₂; 1,2 MgCl₂; 10 HEPES; 11,5 D-глюкоза (pH 7,4).

Виділення РНК. Загальну РНК виділяли із грудної аорти щура за допомогою набору Trizol RNA-prep (Isogen, Росія). 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: PKC delta-S-5'- CTG GAA TAG TGA GCT CCC AGA C-3', PKC delta-A-5'- ATC ACC AGT CAC CCA CTC TTC T -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.

Специфічний сайленсинг гена δПКС. РНК для специфічного сайленсингу гена PRKCD були синтезовані на замовлення фірмою Metabion (Німеччина) і мали наступну послідовність нуклеотидів: PKC delta-S-5'- GGA AAG GUA CUU UGC AAU CUU-3' та PKC delta-A-5'- GAU UGC AAA GUA CCU UUC CUU-3'. 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 специфічних до матричної РНК δПКС дволанцюгових РНК здійснювали у хвостову вену щурів у кількості 25 мкг з 24-год інтервалом.

Для пролонгованого ефекту сайленсингу гена PRKCD у тканинах щура, міРНК у формі шпильки (small hairpin RNA) – shПКСδ клонували в плазмідний вектор *pSilencerTM 4.1-CMV neo* (Ambion, США), під контролем промотора *H1 RNA polymerase III* та термінаційної послідовності oligoT. Олігонуклеотиди, специфічні до δПКС, були знайдені за допомогою програми «siRNA target Finder» (Ambion, США): Top Strand Oligonucleotide Template: 5'-GATCC TGACATCCCAGACAACAAC TTCAAGAGAGTTGTTGTCTGGGATGTCATT A-3' and Bottom Strand Oligonucleotide Template: 5'-AGCTTAATGACATCCCAGACAACAAC TCTCTTGAAGTTGTTGTCTGG GATGTCA G-3' (Applied Biosystems, США). Верхній та нижній ланцюги олігонуклеотидів shRNA було розведено до концентрації 1 мкг/мкл у буфері TE та проведено анелінг у 50 мкл розчину відповідно до протоколу виробника. Після анелінгу зразок міРНК було лігровано у вектор *pSilencer 4.1-CMV* за допомогою лігази T4 DNA (5 Од/мкл), продукт було трансформовано в клітини штаму-реципієнта *E. coli XL*. Клітини було висаджено на 16 год у чашки Петрі з LB, які містили 100 мкг/мл ампіциліну, при 37 °C. З обраної колонії було виділено плазмідну ДНК за допомогою GeneJETTM Plasmid Midiprep Kit (Thermo Scientific, США). Рестрикцію ізольованих плазмід було проведено по сайтах *BamHI* та *HindIII* (Thermo Scientific, США), присутність вставки shПКСδ розміром 55 пар нуклеотидів було підтверджено за допомогою електрофорезу в 2,5 % агарозному гелі. Для пригнічення експресії гена PRKCD in

vivo отриманий вектор, що експресує shПКСδ, було доставлено внутрішньовенно щурам (400 мкг/кг).

Молекулярні та функціональні зміни (експресія матричної РНК δПНК, експресія білка ПНК-δ, активність ВК_{Ca} каналів та ендотелій-залежне розслаблення) було проаналізовано на 7 та 30 добу після доставки генетичної конструкції.

Приготування тканинних лізатів. Зразки тканин аорти щурів розтирали в рідкому азоті в буферному розчині, що містив 30 mM K_P pH 7,5, 100 mM NaCl, 5 mM MgCl, 10 % гліцерин, 1 % NP-40, 1 mM DTT, інгібітор протеаз (0,1 mM PMSF). Зразки інкубували 30 хв за температури 0 °C та центрифугували протягом 15 хв при 14000 g.

Виділення білка. Для виділення білка з отриманого постмітохондріального супернатанту застосовували метод преципітації в хлороформі та етанолі. Для цього до зразка додавали 4 об'єми етанолу, 1 об'єм хлороформу та 3 об'єми дистильованої води. Суміш добре перемішували та центрифугували 2 хв при 14000 g. Видаляли верхній водний шар, оскільки білок розміщувався в середній фазі, та додавали 4 об'єми етанолу. Перемішували, центрифугували 2 хв при 14000 g. Етанол відбирали, осад висувували та розводили в 2xSampleBuffer (Sigma, USA) для електрофорезу.

Електрофорез білків у ПААГ. Електрофоретичне розділення білків проводили за стандартною методикою [15] у 3 % концентруючому та 10 % розділяючому поліакриламідному гелі при напрузі 100 та 200 В/см. До зразка, що містив 20–30 мг білка, додавали відповідну кількість 4x буфера для нанесення – 1,25M трис-HCl pH 6,8, 20 % гліцерин, 4 % ДСН, 2,5 % δ-меркаптоетанол, 0,01 % бромфеноловий синій і кип'ятили впродовж 5 хв. За необхідності камеру для електрофорезу поміщали в холодильник на +4 °C. Гель використовували для Вестерн-блот аналізу.

Вестерн блот аналіз. Після електрофоретичного розділення білки переносили на нітроцелюлозну мембрану в апараті для рідкого трансферу

TV100-EBK (Scie-Plas, Великобританія) протягом 1 год при силі струму 400 мА у буфері для переносу: 10 мМ NaHCO_3 , 3 мМ Na_2CO_3 , 20 % етанол. Далі мембрану блокували 1 год у розчині 3 % сухого молока в PBS-T: 150 мМ NaCl , 50 мМ $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0,1 % Tween-20, щоб запобігти неспецифічному зв'язуванню антитіл. Потім відмивали 3 рази по 10 хв у розчині PBS-T. Після цього в 10 мл розчину PBS-T з 3 % молоком додавали первинні антитіла відповідно до робочої концентрації, інкубували 1 год при кімнатній температурі (антитіла проти ПКС- δ (Santa Cruz, США) використовували в розведенні 1:5000; антитіла проти β -актину 1:500 (Sigma, USA). Мембрану відмивали 3 рази по 10 хв 15 мл розчину PBS-T. Як вторинні використовували антитіла проти IgG миші (Promega, США) у розведенні 1:5000. Інкубували впродовж 1 год при кімнатній температурі. Відмивали 3 рази по 10 хв у PBS-T. Після цього здійснювали ECL-детекцію. Швидко змішували розчини А (2 М трис- HCl pH 8,0, 250 мМ люмінол, 90 мМ кумарова кислота) та розчин В (2 М трис- HCl pH 8,0 і 30 % H_2O_2), у суміші інкубували мембрану протягом 1 хв. Потім її швидко загортали в плівку й поміщали в касету з фотоплівкою Kodak на 3–5 хв. Фотоплівку проявляли, витримуючи 1–3 хв у проявнику та 3 хв у закріплювачі.

Комп'ютерний аналіз здійснювали за допомогою програми «Scion Image».

Скорочувальна активність аорти щура. Для вивчення скорочувальної активності аорту видаляли та розміщували в препарувальній чашці зі стандартним буферним розчином Кребса при кімнатній температурі. Частину аорти довжиною 1,0–1,5 см ретельно очищували від сполучної тканини й розрізали на кільця шириною 0,5–1,0 мм. Кільцеві фрагменти аорти монтували в проточній термостабілізованій камері об'ємом 0,5 мл при температурі 37 °С на сталевих гачках у ізометричному режимі за вихідного навантаження 10 – 20 мН та перфузували сольовим буферним розчином Кребса

(pH 7,4) з постійною швидкістю 2,5 – 3,0 мл/хв. Вихідне тонічне скорочення ізольованих фрагментів судин викликали введенням у перфузуючий розчин норадреналіну в концентрації 10⁻⁵ моль/л. Реєстрацію скорочень здійснювали за допомогою аналогово-цифрового перетворювача Lab-Trax 4/16 (World Precision Instruments, USA), з'єданого з персональним комп'ютером. Ендотелій-залежне розслаблення викликали ацетилхоліном (10⁻⁹–10⁻⁵ моль/л), який додавали в перфузуючий розчин (зміна концентрації ацетилхоліну здійснювалася протягом 10–15 с).

Статистичну обробку даних виконували за допомогою програми Origin 7.5 (Microcal Software Inc.) з використанням однофакторного дисперсійного аналізу (One-Way ANOVA) та методу Т'юкі за наявності достовірної різниці. Різниця вважалася статистично достовірною при $P < 0,05$. Результати надано у вигляді середнього арифметичного (M) та стандартної похибки середнього арифметичного (m) для певної вибірки (n). Для визначення концентрації напівмаксимального ефекту залежності доза-ефект були апроксимовані рівнянням Хілла ($F = F_{\max} / [1 + \exp(\log EC_{50} - \log C)h]$), де F і $F_{\max}$ є поточний та максимальний дилататорні ефекти, h – коефіцієнт Хілла, EC_{50} – напівмаксимальна ефективна концентрація, C – діюча концентрація). 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. Результати експериментів показали, що експресія мРНК δ -ізоформи ПКС у ГМК аорти щурів з ГДГ майже в 3 рази перевищує аналогічний показник у ГМК здорових щурів (рис. 1). Таку саму ситуацію продемонстрували експерименти з визначення кількості внутрішньоклітинної δ -ізоформи ПКС за допомогою вестерн-блот аналізу. Відносний уміст цього білка також був майже в 3 рази вище в щурів з ГДГ порівняно зі здоровими тваринами (рис. 2).

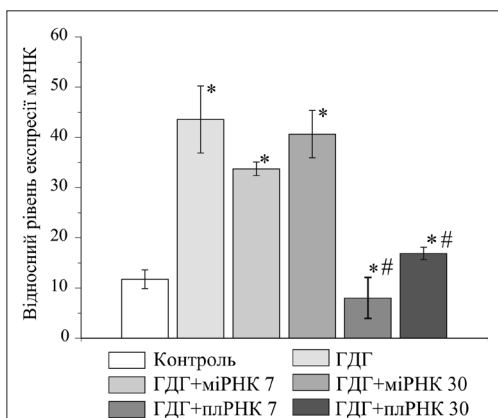


Рис. 1. Вплив пригнічення експресії гена на рівень мРНК дельта ізоформи ПКС у гладеньком'язових клітинах аорти здорових щурів та щурів з генетично детермінованою гіпертензією на 7 та 30 добу після РНК інтерференції.

Контроль – здорові щури, ГДГ – щури з генетично детермінованою гіпертензією, ГДГ+міРНК 7 (30) – щури після введення міРНК, специфічних до дельта ізоформи ПКС на 7(30) добу, ГДГ+плРНК 7(30) – щури після введення міРНК на базі плазмідного вектора, специфічних до дельта ізоформи ПКС на 7(30) добу. Показник експресії мРНК ПКС-δ нормовано з рівнем експресії фактину; $n = 8$; * – $P < 0,05$ – порівняно з контролем; # – $P < 0,05$ – порівняно з ГДГ.

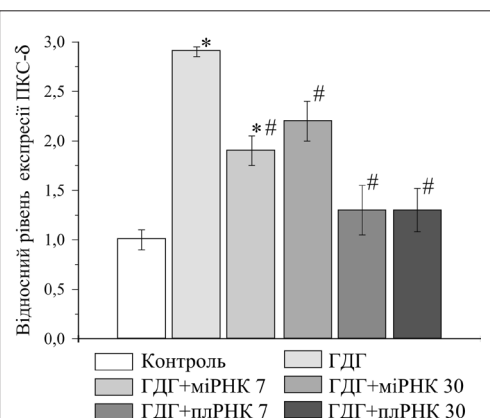


Рис. 2. Вплив пригнічення дельта ізоформи ПКС на рівень експресії в гладеньком'язових клітинах аорти здорових щурів та щурів з генетично детермінованою гіпертензією на 7 та 30 добу після РНК інтерференції.

Контроль – здорові щури, ГДГ – щури з генетично детермінованою гіпертензією, ГДГ+міРНК 7(30) – щури після введення міРНК, специфічних до дельта ізоформи ПКС на 7(30) добу, ГДГ+плРНК 7(30) – щури після введення міРНК на базі плазмідного вектора, специфічних до дельта ізоформи ПКС на 7(30) добу. Показник експресії ПКС-δ нормовано з рівнем експресії фактину; $n = 8$; * – $P < 0,05$ – порівняно з контролем; # – $P < 0,05$ – порівняно з ГДГ.

Уведення щурам з ГДГ «голих» міРНК призводило до відносно невеликого, але статистично значного зменшення мРНК δ-ізоформи ПКС, приблизно на 25 % на 7 добу експерименту (рис. 1). Вестерн-блот аналіз також показав суттєве зменшення кількості білка в ці терміни. В обох випадках не було досягнуто повної нормалізації цих показників і на 7 добу після введення вони залишалися достовірно вищими порівняно з контрольними тваринами.

Доставка міРНК до клітини-мішені та введення її в цитоплазму є складною проблемою, оскільки «голі» міРНК – відносно нестабільні в плазмі крові й піддаються швидкій деградації ендо- та екзонуклеазами. Однак багато дослідників надають дані, які демонструють виражений інтерференційний ефект навіть «голих» міРНК [14]. Зниження експресії мРНК і вмісту δ-ізоформи ПКС, зареєстроване в наших дослідженнях, свідчить про наявність ефекту інтерференції навіть при використанні міРНК без будь-

яких стабілізуючих засобів і допоміжних носіїв.

На 30 добу після сайленсингу гена PRKCD вірогідних змін як експресії, так і вмісту δ-ізоформи ПКС, не було зареєстровано (рис. 1, 2), спостерігали лише тенденція до збільшення обох показників та повернення їх до значень, характерних для щурів з ГДГ, проте статистично значущих відмінностей виявлено не було.

Введення щурам міРНК у вигляді комплексу із плазмідним вектором призводило до схожих, але суттєво більш виражених ефектів. На 7 добу після введення відносний рівень мРНК δ-ізоформи ПКС зменшувався приблизно в 5 разів (рис. 1), що свідчить про значний інтерференційний ефект і більш високу ефективність векторного комплексу порівняно з «голими» міРНК. Результати вестерн-блот аналізу також показали більш виражене зменшення вмісту δ-ізоформи ПКС і зниження його рівня приблизно на 50 % (рис. 2). Величини обох цих показників у межах статистичної

похибки збігалися з аналогічними показниками здорових щурів. На 30 добу після введення векторного комплексу, як і «голих» міРНК, статистично значних достовірних змін як експресії та вмісту δ -ізоформи ПКС не було зареєстровано (рис. 1, 2), при цьому обидва ці показники не відрізнялися від аналогічних показників у здорових тварин.

Паралельно з дослідженнями ефективності інтерференції були проведені експерименти з оцінки показників скоротливої активності ГМК. Як показники скорочення були обрані величина сумарного вихідного калієвого струму в ізольованих ГМК і максимальна величина ендотелій-залежного розслаблення сегментів грудного відділу аорти щурів.

У гладеньком'язових клітинах аорти інтактних щурів при ступінчастому деполяризуючому зміщенні мембранного потенціалу тривалістю 300 мс від підтримуваного потенціалу -60 мВ до +70 мВ, виникав струм вихідного напрямку з щільністю $48,0 \pm 6,3$ пА/пФ ($n = 18$). Вихідний струм у ГМК аорти тварин із ГДГ був суттєво зменшеним порівняно з контрольними щурами та його щільність складала $25,0 \pm 1,4$ пА/пФ ($n = 19$, $P < 0,05$) (рис. 3.). На 7 добу після сайленсингу гена δ -ізоформи ПКС за допомогою міРНК спостерігали суттєве збільшення вихідного струму (до $35,0 \pm 3,2$ пА/пФ ($n = 19$, $P < 0,05$), і ця величина струму не змінювалася до 30 доби експерименту в межах статистичної похибки. Слід відмітити, що в цьому випадку не відбувалося повної нормалізації струму, і його величина була відчутно меншою порівняно з контролем. Уведення щурам плазмідного комплексу призводило до аналогічного ефекту, тобто вихідний струм збільшувався приблизно до того рівня, що й у випадку міРНК, подальших змін протягом 30 діб не відбувалося, проте його величина відрізнялася вірогідно від контрольних значень (рис. 3).

Одночасно з електрофізіологічними експериментами були проведені дослідження скоротливої активності гладенько-м'язових сегментів грудного

відділу аорти щурів. Реакція поперечно скорочених за допомогою артеренолу м'язових препаратів на ацетилхолін є показником дилататорної спроможності ГМ, тому були досліджені максимальні величини розслаблення під дію ацетилхоліну в концентрації 10^{-5} моль/л (рис. 4). Реакція на ацетилхолін судинних сегментів аорти щурів із ГДГ була значно пригніченою порівняно з контролем і складала близько 20 % базового скорочення. Через 7 діб після введення щурам «голих» міРНК дилататорні реакції збільшувалися майже вдвічі й досягли приблизно 40 % вихідного тону. На 30 добу після сайленсингу подальших статистично значущих змін скоротливих реакцій аорти не спостерігали (рис. 4). Аналогічні ефекти виявлялися й після введення плазмідного комплексу, проте збільшення й «нормалізація» дилататорних реакцій були більш виражені. На 7 добу експерименту величина розслаблення на АХ досягала приблизно 60 %, але подальших вірогідних змін дилататорних реакцій не спостерігали, і величина

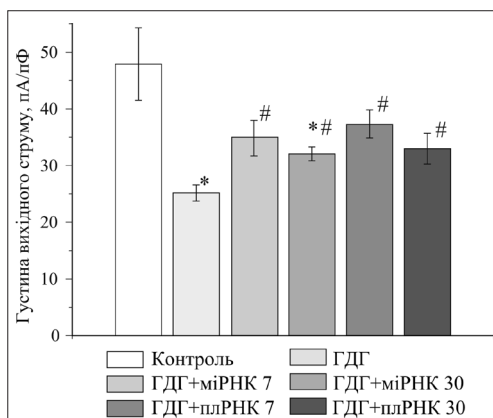


Рис. 3. Характеристики вихідного струму, зареєстрованого в гладеньком'язових клітинах аорти здорових щурів та щурів з генетично детермінованою гіпертензією на 7 та 30 добу після РНК інтерференції.

Контроль – здорові щури, ГДГ – щури з генетично детермінованою гіпертензією, ГДГ+міРНК 7(30) – щури після введення міРНК, специфічних до дельта ізоформи ПКС, на 7(30) добу, ГДГ+плРНК 7(30) – щури після введення міРНК на базі плазмідного вектора, специфічних до дельта ізоформи ПКС на 7(30) добу. $n = 8$;

* – $P < 0,05$ – порівняно з контролем;

– $P < 0,05$ – порівняно з ГДГ.

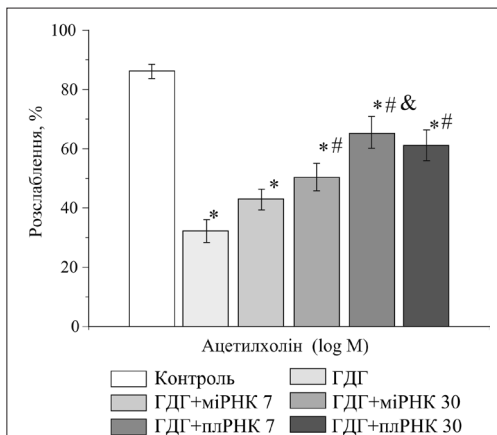


Рис. 4. Вплив блокування експресії гена ПКС- δ на ацетилхолін-індуковане розслаблення сегментів грудної аорти здорових щурів та щурів з генетично детермінованою гіпертензією на 7 та 30 добу після РНК інтерференції.

Контроль – здорові щури, ГДГ – щури з генетично детермінованою гіпертензією, ГДГ+міРНК 7(30) – щури після введення міРНК, специфічних до дельта ізоформи ПКС на 7(30) добу, ГДГ+плРНК 7(30) – щури після введення міРНК на базі плазмідного вектора, специфічних до дельта ізоформи ПКС на 7(30) добу. $n = 8$; * – $P < 0,05$ – порівняно з контролем; # – $P < 0,05$ – порівняно з ГДГ; & – порівняно з ГДГ+міРНК 7.

відповідей зберігалася на тому самому рівні (рис. 4).

Таким чином, отримані дані свідчать, що внутрішньовенне введення щурам з ГДГ специфічних до гена PRKCD міРНК як у вигляді «голих» міРНК, так і у вигляді комплексу з плазмідним вектором, викликає ефект інтерференції, що призводить до суттєвого зниження рівня експресії, а також умісту δ -ізоформи ПКС. Застосування плазмідного вектора було більш ефективним і викликало більш виражений прояв цих ефектів. Крім того, сайленсинг гена PRKCD супроводжувався тривалою (протягом 30 діб) частковою нормалізацією скорочувальної активності судин щурів, що виражалася в посиленні дилататорних властивостей судинної стінки й ГМК судин. Отримані результати дозволяють розглядати застосування міРНК, специфічних до гена δ -ізоформи ПКС, як ефективний спосіб корекції судинної скорочувальної дисфункції за умов артеріальної гіпертензії.

1. 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 / Soloviev A., Bershtein S. // J. Hypertens. – 1992. – 10. – 131–136.
2. Functional and molecular consequences of ionizing irradiation on large conductance Ca^{2+} activated K^+ channels in rat aorta smooth muscle cells / Soloviev A., Tishkin S., Ivanova I. [et al.] // Life Science. – 2009. – № 84. – P. 164–171.
3. Depression of endothelium-dependent relaxation despite normal release of nitric oxide in the aorta of spontaneously hypertensive rats: possible role of protein kinase C / Soloviev A., Tishkin S., Parshikov A. [et al.] // Endothelium-Derived Hyperpolarizations : Ed. by P. Vanhoutte. – Harwood Academic Publishers, 1999. – 289–296.
4. Griffith T. M. Endothelium-dependent smooth muscle hyperpolarization: do gap junctions provide a unifying hypothesis? / Griffith T. M. // Br. J. Pharmacol. – 2004. – V. 141, № 6. – P.881–903.
5. Newton A. Protein Kinase C: Structure, Function, and Regulation / Newton A. // Journal of Biological Chemistry. – 1995. – V. 270. – P. 28495–28498.
6. Identification of protein kinase C isoforms in rat mesenteric small arteries and their possible role in agonist-induced contraction / Ohanian V., Ohanian J. Shaw L. [et al.] // Circ. Res. – 1996. – V. 78. – P. 806–812.
7. Sobey C. G. Potassium Channel Function in Vascular Disease / Sobey C. G. // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2001. – V. 21. – P. 28–38.
8. Boland L. M. Protein kinase C inhibits Kv1.1 potassium channel function / Boland L. M., Jackson K. A. // Am. J. Physiol. Cell. Physiol. – 1999. – V. 277. – P. C100–C110.
9. siRNA-targeted to C-kinase gene expression restores BKCa activity and endothelium-dependent relaxation in rats with arterial hypertension / Soloviev A., Tishkin S., Kyrychenko S. [et al.] // Proc. of The Main Meeting of the Physiol. Soc., PHYSIOLOGY 2010, 30 June – 2 July, University of Manchester, UK. – P. 57.
10. Gschwendt M. Protein kinase C delta / Gschwendt M. // Eur. J. Biochem. – 1999. – V. 259. – P. 555–564.
11. Protein kinase C isozymes in hypertension and hypertrophy: insight from SHHF rat hearts / Johnsen D. D. [et al.] // Mol Cell Biochem. – 2005. – V. 270 (1–2). – P. 63–69.
12. Maxwell M. M. RNAi applications in therapy development for neurodegenerative disease / Maxwell M. M. // Curr Pharm Des. – 2009. – V. 15 (34). – P. 3977 – 91.
13. Use of adeno-associated viral vector for delivery of small interfering RNA / Tomar R. S. [et al.] // Oncogene. – 2003. – V. 22. – P. 5712 – 5715.

-
14. Rational siRNA design for RNA interference / Reynolds A. [et. al.] // Nature Biotechnology. – 2004. – V. 22. – P. 326–330.
15. Маниатис Т. Молекулярное клонирование: Пер. с англ / Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж. Сэмбрук – М.: Мир, 1984 – 479 с.

Т. В. Новохацкая

Коррекция сократительной дисфункции сосудов спонтанно гипертензивных крыс путем сайленсинга гена δ -изоформы протеинкиназы C с помощью РНК-интерференции

В опытах на крысах с генетически детерминированной гипертензией изучена роль δ -изоформы протеинкиназы C (ПКC) в сократительной дисфункции сосудов. Применение метода РНК-интерференции для подавления экспрессии гена PRKCD путем введения малых интерферирующих РНК (миРНК), а также миРНК на базе плазмидного вектора, в хвостовую вену крыс приводит к увеличению эндотелий-зависимого расслабления изолированных сегментов аорты в ответ на аппликацию ацетилхолина (10^{-5} моль/л) с 30 % до 40 % и 60 % соответственно, которое не достигает контрольного значения (85 %). При помощи метода фиксации потенциала в модификации «whole-cell perforated patch» продемонстрировано частичное восстановление функции BK_{Ca} каналов в гладкомышечных клетках аорты. Амплитуда выходящего тока, активированного смещением мембранного потенциала от -60 мВ до +70 мВ, увеличилась с 25 ± 2 пА/пФ до 35 ± 3 пА/пФ после РНК-интерференции, оставаясь меньше контрольных значений (48 ± 6 пА/пФ). Полученные данные свидетельствуют о целесообразности блокирования экспрессии генов ПКC для коррекции сосудистых дисфункций при эссенциальной гипертензии.

Ключевые слова: дельта изоформа протеинкиназы C, РНК-интерференция, гладкие мышцы, BK_{Ca} каналы, артериальная гипертензия

Т. Novokhatska

Correction of vascular contractile dysfunction in SHR with delta PKC gene silencing using RNA-interference

The goal of this study was to clarify the δ PKC role in vessel dysfunction development and to make an attempt to reduce vascular abnormalities related to ionic channelopathy and vascular hypercontractility in SHR using small interfering RNA (siRNA) and plasmid-based siRNA. The δ PKC target-specific siRNAs and plasmid-based siRNA were injected to conscious SHR intravenously. Administration led to an increment in amplitude of ACh-relaxation from 30 % in SHR to 40 % and 60 %, respectively. To investigate the effect of post-transcriptional δ PKC gene silencing on outward K-currents, patch-clamp technique in «whole-cell perforated patch» modification was used. It was shown that outward ionic currents at +70 mV was 48 ± 6 pA/pF in healthy rats, and 25 ± 2 pA/pF in SHR, while after RNA-interference current density was 35 ± 3 pA/pF. 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: protein kinase C delta isoform, RNA-interference, smooth muscles, BK_{Ca} channels, arterial hypertension

Надійшла: 18.11.2012 р.

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

**Ю. В. Давидова, А. Г. Ципкун, В. С. Березенко,
К. Г. Аapresова, А. А. Огородник, Л. П. Бутенко**

Особливості перинатального менеджменту вагітних з гіперфункцією щитоподібної залози

ДУ «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології НАМН України», м. Київ

Ключові слова: вагітність, тиреотоксикоз, перинатальний менеджмент, функція печінки

Серед захворювань ендокринної системи останніми роками спостерігається значне зростання виявлення та первинної реєстрації патології щитоподібної залози (ЩЗ), при цьому до 70 % хворих, які потрапляють на амбулаторний прийом ендокринолога, звертаються у зв'язку з необхідністю обстеження ЩЗ та визначення двох основних видів порушення її функції – гіпертиреозу та гіпотиреозу. Підвищення рівнів тиронинів у крові виникає внаслідок захворювань, що проявляються гіперфункцією ЩЗ або її руйнуванням – у цьому випадку тиреотоксикоз обумовлений пасивним надходженням Т4 і Т3 у кров. Протягом останніх 10 років відзначається збільшення на 50 % частоти захворювань аутоімунного генезу, у тому числі хвороби Грейвса й аутоімунного тиреоїдиту, що найчастіше призводять до гіперфункції ЩЗ. Крім того, можуть бути й не залежні від ЩЗ причини – передозування тиреоїдних гормонів, Т4-і Т3-секреторна тератома яєчника, метастази раку ЩЗ. Частота тиреотоксикозу в країнах Європи та Росії становить 1,2 % [1–3, 7, 11, 14, 16].

Проблема гіперфункції ЩЗ у перинатології визначається не стільки поширеністю синдрому тиреотоксикозу, скільки тяжкістю наслідків:

- розвитком тяжких ускладнень у різних системах організму жінки (серцево-судинній, нервовій, травній);
- розвитком транзиторного тиреотоксикозу, гіпотиреозу новонароджених;
- високою частотою передчасного відшарування нормально розташованої плаценти, невиношування, народження дітей із малою масою тіла;

- імовірністю розвитку вродженої патології при застосуванні метимізолу в першому триместрі вагітності;
- імовірністю розвитку тиреотоксичного кризу (thyrotoxic storm) при некоригованому тиреотоксикозі [1, 4, 5, 8, 9, 13].

Ураховуючи вищевикладене, перед мультидисциплінарною командою, що забезпечує перинатальний менеджмент для даної групи жінок, ставиться завдання правильно підібрати медикаментозну корекцію тиреотоксикозу в тих випадках, коли до вагітності не було проведено радикального оперативного втручання.

Натепер є можливість вибору методу лікування дифузного токсичного зоба (ДТЗ) – медикаментозна терапія, хірургічне лікування та радіойодабляція, але, жоден із них не дає 100 % позитивний результат. Тривала ремісія при дифузному токсичному зобі відзначається в 45–70 % хворих, однак частота рецидивів тиреотоксикозу спостерігається в 50–70 % при медикаментозній терапії; у 20–30 % – при хірургічному лікуванні, не враховуючи післяопераційних ускладнень [10–13, 16].

За останні 20 років запропоновані різні схеми лікування ДТЗ тиреостатиками, але вони залишаються емпіричними, універсального методу лікування, оптимального для всіх хворих, не існує. У більшості публікацій спостереження за пацієнтами обмежується одним або двома роками після закінчення терапії, що не дозволяє однозначно зробити висновок щодо тривалості ремісії захворювання [16, 19].

У сучасній тиреодології тривала (18–24 місяці) тиреостатична терапія як основний метод лікування хвороби Грейвса проводиться лише пацієнтам з невеликим збільшенням ЩЗ за відсутності в ній клінічно значущих вузлових

утворень. У випадку розвитку рецидиву після одного курсу тиреостатичної терапії призначення другого курсу вважається безперспективним. Тиреостатична терапія включає наступні препарати:

- метимізол (тіамазол) – антитиреоїдний препарат, що порушує синтез гормонів ЩЗ за рахунок блокування пероксидази, що бере участь у йодуванні тирозину, знижує внутрішню секрецію Т4, не впливає на тиреотоксикоз, який розвинувся внаслідок вивільнення гормонів після руйнування клітин ЩЗ (при тиреоїдиті);
- пропілтіоурацил блокує тиреоїдну пероксидазу та гальмує перетворення іонізованого йоду в активну форму, порушує йодування тирозинових залишків тиреоглобуліну з три- та тетраїодтироніну. Екстра-тиреоїдна дія полягає в гальмуванні периферичної трансформації Т4 у Т3 [2, 3, 17].

Необхідно наголосити, що тироксин і трийодтиронін необхідні для нормального розвитку, росту та функціонування всіх без винятку клітин організму, у тому числі й гепатоцитів, що позначається на функціонуванні печінки, а печінка, у свою чергу, метаболізує тиреоїдні гормони, тим самим регулює їхні системні ендокринні ефекти. Будь-яке порушення функції ЩЗ призводить до змін функції печінки, а при захворюваннях печінки можуть виникати відхилення в метаболізмі тиреоїдних гормонів; крім того, низка системних захворювань супроводжується впливом одночасно на той, чи інший орган [4–6, 9, 16–18].

Відомо, що печінка є бар'єром на шляху практично всіх чужорідних речовин, що потрапляють в організм людини, у тому числі й медикаментів, які, головним чином, всмоктуються в шлунково-кишковому тракті й надходять у печінку, де біотрансформуються, переважно під дією ізоферментів цитохрому Р450. Наступні етапи метаболізму призводять до утворення гідрофільних метаболітів (глюкуроніду або сульфату), які переносяться транспортними протеїнами, що знаходяться на мембрані гепатоцитів, у плазму або жовч, та виводяться нирками або шлунково-кишковим трактом [4, 6, 8, 9].

Необхідно брати до уваги індивідуальні зміни активності печінкових мікросомальних ферментів (унаслідок спадкового поліморфізму генів ферментів детоксикації, захворювань печінки, індукції або інгібування під дією лікарських речовин), що можуть призвести до підвищення або зниження концентрації лікарських засобів у плазмі і, відповідно, до появи небажаних реакцій або зниження ефективності препарату [9, 16, 17, 19].

Мета дослідження – оптимізація перинатального менеджменту вагітних з гіперфункцією ЩЗ з урахуванням особливостей метаболізму тироніну, тиреостатичної терапії та їхнього впливу на функцію печінки.

Матеріали та методи. Під наглядом перебувало 68 вагітних з гіперфункцією ЩЗ, включених у дослідження в термін 16–20 тижнів, з них до вагітності в І триместрі 28 жінок отримували метимізол у терапевтичних дозах (1 група), а 40 – пропілтіоурацил у терапевтичних дозах (2 група). Контрольну групу склали 30 вагітних без тиреоїдної патології з фізіологічним перебігом вагітності (історичний контроль). Фенотип груп однорідний за основними характеристиками. Крім даних клінічного обстеження в усіх жінок у сироватці крові методом імуноферментного аналізу (ІФА) досліджували рівні ТТГ, Т4 вільного (лабораторія «ДІЛА»), а також активність аспаратамінотрансферази (АСТ), аланінамінотрансферази (АЛТ), лужної фосфатази (ЛФ), глутаміндегідрогенази (ГДГ) та вміст білірубину на геманалізаторі «Cobas Mira ».

Результати та їх обговорення. У всіх жінок 1 і 2 групи причиною гіперфункції ЩЗ був ДТЗ. Діагноз був встановлений на підставі рівня сироваткового ТТГ і триместр-специфічних референтних значень вільного Т4. Жінки з транзиторним зниженням рівня ТТГ у І триместрі вагітності були виключені з дослідження. Контроль ефективності проведеної тиреостатичної терапії проводили щомісяця за рівнем Т4 вільного на верхній межі норми.

Результати визначення концентрації ТТГ у жінок обстежуваних груп надано в таблиці 1.

Таблиця 1

Концентрація ТТГ у крові жінок обстежуваних груп, мМО/л, $M \pm m$

Обстежувана група	На момент включення в дослідження	Дані контролю через 1 міс
1 група (n = 28)	$0,10 \pm 0,02$	$0,19 \pm 0,03$
2 група (n = 40)	$0,09 \pm 0,03$	$0,17 \pm 0,04$
Контрольна група (n = 30)	$2,8 \pm 1,1$	$2,9 \pm 1,2$

Примітка. Тут і в табл. 2–4: n – кількість обстежених жінок у групі.

Як видно з даних таблиці 1, в обох групах при прийомі тиреостатичної терапії має місце тенденція до зниження супресії ТТГ. При оцінці клінічних проявів тиреотоксикозу через 1 міс терапії в усіх жінок 1 та 2 груп була відсутня задишка, відчуття серцебиття, слабкість, тремор кінцівок. Частота пульсу становила в середньому $73,2 \pm 2,3$ уд/хв у 1 групі і $78,6 \pm 5,6$ уд/хв у 2 групі.

Результати визначення концентрації вільного тироксину наведено в таблиці 2.

Як видно з даних таблиці 2, правильно підібрана доза тиреостатиків призвела до поліпшення показника вільного тироксину через 1 міс. В обох групах удалося втримати показник Т4 вільний на верхній межі норми ($22,5$ – $23,0$ пмоль/л) і здійснити зниження дози антитиреоїдної терапії на 25–30 %. Також необхідно відзначити, що в жодної жінки призначена доза тиреостатиків не призвела до гіпотиреозу.

Результати визначення концентрації основних показників функції печінки на

момент включення в дослідження наведено в таблиці 3. Необхідно відзначити, що при застосуванні мультидисциплінарного підходу до ведення таких вагітних було виключено інші причини, що викликають порушення функції печінки (вірусні гепатити, автоімунний гепатит, внутрішньопечінковий холестаза вагітних, блювоту вагітних, ранню прееклампсію, гостру жирову дистрофію печінки).

Як видно з даних таблиці 3, на момент включення в дослідження в жінок 1 та 2 груп, що отримували тиреостатичну терапію метимізолом та пропілтіоурацілом відповідно, мають місце зміни показників функції печінки, однак у другій групі (пропілтіоурацил), зміни були більш вираженими.

Дані результати можна пояснити як порушенням функцій печінки при гіпертиреозі, так і впливом тиреостатичної терапії.

За даними літератури, підвищення рівнів АСТ і АЛТ було описано відповідно в 27 % і 37 % пацієнтів із гіпертиреозом,

Таблиця 2

Концентрація вільного тироксину в крові жінок обстежуваних груп, пмоль/л, $M \pm m$

Обстежувана група	На момент включення в дослідження	Дані контролю через 1 міс
1 група (n = 28)	$29,1 \pm 3,1^*$	$24,2 \pm 2,3^*$
2 група (n = 40)	$26,3 \pm 2,6^*$	$22,1 \pm 1,9^*$
Контрольна група (n = 30)	$17,2 \pm 2,8$	$16,5 \pm 3,5$

Примітка. *Різниця достовірна відносно контрольної групи.

Таблиця 3

Показники функції печінки в жінок обстежуваних груп на час включення в дослідження

Обстежувана група	Активність АСТ, од/л	Активність АЛТ, од/л	Уміст білірубину, ммоль/л	Активність ЛФ, од/л	Активність ГДГ, од/л
1 група (n = 28)	$49,5 \pm 3,4^{**}$	$45,8 \pm 4,5^{**}$	$20,2 \pm 2,7$	$276,4 \pm 5,6^{\#}$	$38,2 \pm 3,1^{**}$
2 група (n = 40)	$76,3 \pm 5,1^*$	$79,3 \pm 4,9^*$	$27,6 \pm 3,2^*$	$312,3 \pm 4,2^*$	$46,1 \pm 2,2^*$
Контрольна група (n = 30)	$21,2 \pm 2,4$	$24,3 \pm 3,2$	$15,6 \pm 3,1$	$228,2 \pm 9,5$	$25,2 \pm 3,2$

Примітка. *Різниця показників достовірна відносно контрольної групи, #різниця показників достовірна між 1 і 2 групою ($P \leq 0,05$).

Показники функції печінки через 1 міс після проведеної терапії в жінок обстежуваних груп, $M \pm t$

Обстежувана група	Активність АСТ, од/л	Активність АЛТ, од/л	Уміст білірубину, ммоль/л	Активність ЛФ, од/л	Активність ГДГ, од/л
1 група (n = 28)	23,5 ± 2,4	25,8 ± 3,3	17,2 ± 2,8	224,6 ± 5,6	24,2 ± 3,1
2 група (n = 40)	26,3 ± 5,1	28,3 ± 4,9	21,5 ± 3,1	231,8 ± 4,2	27,2 ± 2,1
Контрольна група (n = 30)	21,2 ± 2,4	24,3 ± 3,2	15,6 ± 3,1	228,2 ± 9,5	25,2 ± 3,2

однак у більшості з них не відзначали інших клінічних або біохімічних ознак порушення функцій печінки. Патогенетичним механізмом цього порушення може бути відносна перивенулярна гіпоксія, зумовлена підвищенням потреби печінки в кисні без супутнього підвищення печінкового кровотоку. У 64 % пацієнтів з тиреотоксикозом відзначається підвищення активності лужної фосфатази. Тому важливо звертати увагу на підвищення рівнів α -глутамілтранспептидази (17 %) і гіпербілірубінемію (5 %), що вказує на розвиток холестазу. Складно диференціювати, зміни яких показників функції печінки за тиреотоксикозу зумовлені власне тиреоїдним статусом, а які супроводжують ускладнення, наприклад, серцеву недостатність, порушення харчування та сепсис. Сучасні можливості фармакотерапії зробили хронічні захворювання печінки дуже рідкісним ускладненням гіпертиреозу. У переважній більшості випадків порушення функції печінки, асоційовані з гіпертиреозом, зворотні за умов їхньої ранньої діагностики та вчасного лікування [16, 17].

Ураховуючи значні порушення функції печінки в обстежених вагітних перед включенням у дослідження, особливо в жінок 2 групи, їм протягом наступного місяця було призначено пропілтіоурацил замість метимізолу, крім того, терапія була доповнена гепатопротектором – S-аденозинметіоніном у дозі 800 мг / добу. Призначення гепатопротектора пов'язано з його захисною, холекінетичною, холеретичною дією, а також зі здатністю поповнювати дефіцит S-аденозинметіоніну, стимулювати його вироблення клітинами печінки та мозку. У результаті застосування даної схеми протягом 1 міс у всіх жінок 2 групи спостерігали нормалізацію функції печінки, про що свідчили лабораторні показники

(табл. 4). Механізм дії лікарського засобу сприяє пасажу жовчних кислот у системі жовчовивідних шляхів, покращує транспортну функцію жовчних кислот.

Жінкам 1 групи, крім метимізолу, призначали протягом 1 міс препарат Артихол, який теж має гепатопротекторну дію, зокрема, пов'язану з підвищенням здатності гепатоцитів виробляти коензими. Артихол є препаратом сухого водного екстракту з артишоку польового, механізм дії пов'язаний з сумою ефектів усіх компонентів, що входять до його складу.

Висновок

Таким чином, отримані дані дозволяють обґрунтувати наступні рекомендації з оптимізації перинатального менеджменту в жінок з гіперфункцією ЩЗ.

1. Вагітним, які отримують метимізол, доцільно призначати препарати, що мають гепатопротекторну дію (артихол), а тим, що отримують пропілтіоурацил – S-аденозинметіонін (який має гепатопротекторну, детоксикаційну, холеретичну дію).
2. Доцільно, зважаючи на наявність потенційно несприятливого впливу метимізолу на плід, виключити застосування даного препарату на етапі прекоцепційної підготовки й у I триместрі вагітності, замінивши його на пропілтіоурацил з одночасним прийомом S-аденозинметіоніну.
3. Розпочинаючи з II триместру, кращим уважати прийом метимізолу з одночасним прийомом Артихолу, при цьому необхідно контролювати ефективність проведеної тиреостатичної терапії (за рівнем вільного тироксину). Немає необхідності контролювати в динаміці рівень ТТГ під час лікування.

1. Абрамова Н. А. Консервативное лечение болезни Грейвса: принципы, маркеры рецидива и ремиссии / Н. А. Абрамова, В. В. Фадеев // Проблемы эндокринологии. – 2005. – № 6. – С. 44–48.
2. Балаболкин М. И. Фундаментальная и клиническая тиреологическая: Учеб. пособие / М. И. Балаболкин, Е. М. Клебанова, В. М. Кремская. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2007. – 816 с.
3. Заболевания щитовидной железы и беременность: под ред. А. В. Древалъ. – М.: Медицина, 2007. – 80 с.
4. Ивашкин В. Т. Болезни печени и желчевыводящих путей: Руководство для врачей / В. Т. Ивашкин. – [2-е изд.]. – М.: Издат. дом «М-Вести», 2005. – 536 с.
5. Ивашкин В. Т. Патогенетическое и клиническое обоснование применения адеметионина в лечении больных с внутрипеченочным холестазом / Ивашкин В. Т., Буевров О. В. // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2009. – № 5. – С. 24–29.
6. Моисеев С. В. Клиническая фармакология и терапия / С. В. Моисеев. – М.: Медицина, 2005.
7. Петунина Н. А. Болезни щитовидной железы / Н. А. Петунина, Л. В. Трухина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – С. 74–106.
8. Кач С. М. Эффективность и безопасность гепатопротекторов с точки зрения доказательной медицины / С. М. Кач // Здоров'я України. – 2009. – № 6/1. – С. 34–36.
9. Шульпекова Ю. О. Лекарственные поражения печени / Шульпекова Ю. О. // Consilium medicum. – 2006. – № 8 (7). – С. 5–6.
10. Abraham P. Current and emerging treatment options for Graves' hyperthyroidism / Abraham P., Acharya S. // Ther Clin Risk Manag. – 2010. – V. 2, № 6. – P. 29–40.
11. A systematic review of drug therapy for Graves' hyperthyroidism / Abraham P., Avenell A., Watson W. A. [et al.] // Eur J Endocrinol. – 2005. – № 153. – P. 489–498.
12. Incidence of hyperthyroidism in Stockholm, Sweden, 2003–2005 / Abraham-Nordling M., Topping O., Lantz M. [et al.] // Eur J Endocrinol. – 2008. – № 158. – P. 823–827.
13. Hyperthyroidism and other causes of thyrotoxicosis: management guidelines of the American Thyroid Association and American Association of Clinical Endocrinologists / Bahn R. S., Burch H. B., Cooper D. S. [et al.] // Endocr Pract. – 2011 May–Jun. – V. 17, № 3. – P. 456–520.
14. Braverman L. E. The thyroid: a Fundamental and clinical text L. E / Braverman, R. D. Utiger– 9th ed Phylodelphia: Lippicott, Williams, Wilkins, 2005. – P. 665–684.
15. Medical treatment of hyperthyroidism: state of the art / Fumarola A., DiFiore A., Dainelli M., Grani G. [et al.] // Exp Clin Endocrinol Diabetes. – 2010 Nov. – V. 118, № 10. – P. 678–84.
16. Kuntz E. Hepatology. Principles and practice / Kuntz E., Kuntz H. – D. – [2-nd ed.]. – Heidelberg : Springer Medizin Verlag, 2006.
17. Navarro V. J. Drug-Related Hepatotoxicity / Navarro V. J., Senior J. R. // N Engl J. Med. – 2006. – № 354. – P. 731–9.
18. Malik R. The relationship between the thyroid gland and the liver / Malik R., Hodgson H. // Quart. J. Med. – 2002. – V. 95, № 9. – P. 559–569.
19. Weetman A. P. Graves' Disease / A. P. Weetman // NewEng. J. of Medicine. – 2000. – V. 343, № 17. – P. 1236–1248.

**Ю. В. Давыдова, А. Г. Ципкун, В. С. Березенко, К. Г. Аapresова,
А. А. Огородник, Л. П. Бутенко**

Особенности перинатального менеджмента беременных с гиперфункцией щитовидной железы

В статье представлены результаты углубленного обследования беременных, получающих тиреостатическую терапию в связи с тиреотоксикозом. Обоснованы методы контроля эффективности лечения и коррекции дисфункции печени у таких женщин препаратами с гепатопротекторным, дезинтоксикационным и холеретическим действием. Даны рекомендации по оптимизации перинатального менеджмента у беременных с тиреотоксикозом.

Ключевые слова: беременность, тиреотоксикоз, перинатальный менеджмент, функция печени

Iu. Davydova, A. Tsypkun, V. Berezenko, K. Apresova, A. Ogorodnyk, L. Butenko
Peculiarities of perinatal management of pregnancy with thyroid hyperfunction

The results of the augmented observation of pregnant, who were threatened for thyrotoxicosis by the antithyroid therapy are represented in this article. The methods of the treatment efficacy control and correction of liver dysfunction in these women are based as well the correction of liver dysfunction by the medications with hepatoprotective and choleretic properties. The recommendations for perinatal management optimization for pregnant with thyrotoxicosis are given.

Key words: pregnancy, thyrotoxicosis, perinatal management, liver function

Надійшла: 19.11.2012 р.

Контактна особа: Давидова Ю. В., ДУ «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології НАМН України», вул. Платона Майбороди, 8, м. Київ, 04050. Тел.: +38 (044) 483-80-67.

С. М. Дроговоз¹, В. Д. Лук'янчук², Б. С. Шейман³, А. В. Кононенко¹

Можливі механізми токсичної дії антипсихотичних засобів

¹Національний фармацевтичний університет, м. Харків

²Луганський державний медичний університет

³Інститут екогієни і токсикології імені Л. І. Медведя

Ключові слова: антипсихотичні засоби, токсична дія, механізм

Антипсихотичні засоби – відносно молода група психотропних препаратів. Перші препарати з похідних фенотіазину було отримано 60 років тому, що дозволило перевести зі стаціонарного лікування на амбулаторне хворих з деякими формами психозів. Дана група ліків була настільки важливою для психіатричної практики, що вже протягом першого десятиріччя застосування було розпочато вивчення механізмів не тільки їх фармакологічної, але і токсичної дії. Багато років цю групу ліків називали «нейролептиками» не за основним фармакотерапевтичним ефектом, а за їхніми ключовими побічними й токсичними ефектами, що є базисом «нейролептичної дії». Тому останніми роками ця група психотропних засобів була перейменована на «антипсихотичні препарати», так як нейролептичний синдром лежить в основі їхнього найтяжчого побічного ефекту і найнебезпечніших порушень токсичного генезу. Останніми роками число випадків передозування антипсихотичних препаратів неухильно зростає [7], а смертність унаслідок передозування складає 20–30 %. Характерно, що смерть зазвичай настає через 3 доби після появи перших симптомів отруєння даною групою психотропних засобів через дихальну недостатність, колапс, ниркову недостатність, аритмію та тромбоемболію [11].

Результати нейрохімічних досліджень показали [13], що центральною ланкою в механізмі токсичної дії антипсихотичних препаратів є багатовекторність рецепторної активності. Крім того, багато токсичних реакцій даної групи психотропних засобів

пов'язані зі ступенем спорідненості до певного числа рецепторів, а, отже, і до здатності їх блокувати.

Відомо, що для реалізації антипсихотичної дії необхідна блокада дофамінергічних рецепторів (у першу чергу, D₂-типу) не менш, ніж на 65 %. Більш ніж 70 % блокада D₂-рецепторів у нігріатній системі мозку в переважній більшості випадків призводить до перевищення, так званого «нейролептичного порогу» й виникнення, крім бажаного антипсихотичного ефекту, небажаних явищ у вигляді різних ускладнень фармакотерапії, зокрема, екстрапірамідних розладів, а при блокаді 78 % D₂-рецепторів і більше – маніфестують симптоми вираженої інтоксикації [8].

Основні причини виникнення та розвитку гострих фаз отруєнь антипсихотичними препаратами – це порушення дозового режиму прийому цих ліків, а також суїцидальна спроба й часті випадкові отруєння в дітей. Важливо зауважити, що діти, особливо в ранньому віці, більш чутливі до представників даної фармакотерапевтичної групи, та летальна доза останніх становить у середньому 25 мг, тоді як у дорослих ця доза знаходиться в діапазоні 500–1000 мг [4].

Антипсихотичні засоби здатні викликати токсичні ефекти не тільки при абсолютному передозуванні, але і за умов тривалого прийому навіть у терапевтичних дозах, що сприяє виникненню відносного передозування.

Провідне місце в токсикодинаміці антипсихотичних препаратів займає нейротоксичність щодо центральної та вегетативної нервової системи, ефекти якої пов'язані з адреноблокуючими та гангліоблокуючими властивостями цих ліків, а також пригнічуючим впливом на ретикулярну формацію мозку й ураженням таламокортикальної системи. Нейро-

токсичність проявляється пригніченням свідомості (аж до коми) або збудженням, судомними нападами, атаксією, зниженням сухожильних рефлексів, екстрапірамідними розладами у вигляді насильницьких рухів частин тіла і т. ін. [9].

Також надзвичайно важливо, що в патогенезі гострого отруєння нейролептичними засобами проявляється депримуєча дія їхніх токсичних доз на дихальний і судиноруховий центри з розвитком гострої дихальної та судинної недостатності аж до паралічу дихання й колапсу. Поєднання дихальної недостатності центрального типу з гістотоксичною гіпоксією при інтоксикації антипсихотичними препаратами веде до глибокого порушення газообміну й посилює гемодинамічні порушення. Вторинна анокісія судинного центру зі зменшенням об'єму циркулюючої крові, кардіотоксичний вплив зі зменшенням серцевого викиду сприяють розвитку гострої судинної (колапс) і серцевої (набряк легенів) недостатності [5].

Набряк легенів під впливом антипсихотичних препаратів розвивається в результаті підвищення тиску в легеневих капілярах, унаслідок симпатичної гіперреактивності, що в кінцевому підсумку може призвести до смерті. До речі, одна з найчастіших причин смерті – гостра дихальна недостатність, що виникає в результаті легеневої емболії, пов'язаної з дегідратацією організму, яка зумовлена адинамією хворих з психічними розладами на фоні прийому антипсихотичних засобів. Установлено також пряму токсичну дію нейролептичних препаратів на скелетну мускулатуру, що викликає її ригідність [3, 5].

Основні відмінності в фармакологічному й токсикологічному профілях класичних і атипичних антипсихотичних препаратів полягають у селективній дії останніх на мезолімбічну дофамінергічну передачу (при мінімальному впливі на нігростріатум і гіпоталамус, що знижує ймовірність екстрапірамідних та ендокринних побічних ефектів). Іншою суттєвою відмінністю в механізмі токсичної дії атипичних антипсихотичних препаратів від класичних або типових нейролептиків є значно більш низький аффінітет до D₂-рецепторів [2, 6, 12].

У клінічній картині отруєння антипсихотичними препаратами превалюють симптоми, формування яких прямо пов'язане з різними векторами механізму їхньої токсичної дії й ланками патогенезу отруєння цією групою психоактивних ліків [2]. Саме із пригніченням функцій кори головного мозку в постраждалих унаслідок блокади передачі нервових імпульсів за участю таких нейромедіаторів як дофамін, адреналін, ацетилхолін і гістамін, пов'язано виникнення відповідної симптоматики інтоксикації. Крім того, у механізмі дії антипсихотичних препаратів важливе місце займає їхня здатність інгібувати ряд ферментних систем. Тому при захворюваннях печінки підвищується небезпека виникнення відносного передозування цією групою ліків.

Усі ці патогенетичні ланки при токсичних дозуваннях формують симптоматику клінічної картини гострого отруєння антипсихотичними засобами. Для хлорпромазину та інших похідних фенотіазину характерно поступове наростання клінічних симптомів інтоксикації, яке найбільш чітко проявляється лише за кілька годин від моменту надходження антипсихотичних засобів в організм. При передозуванні даних препаратів у пацієнтів виникає слабкість, запаморочення, атропіноподібні ознаки (сухість у роті, мідріаз, обстипація), неврологічна симптоматика (атаксія, порушення рефлексів, м'язовий спазм і тризм жувальних м'язів, судоми), поєднання різних видів гіперкінезів, тахікардія з гіпотонією, шкірні алергічні реакції, коматозний стан. У разі важкого отруєння даними препаратами виникає коматозний стан з явищем колапсу й пригніченням дихального центру, набряком легенів і мозку, періодично виникаючими судомами. У пізній стадії нейролептичного отруєння можуть спостерігатися жовтяниця та затримка сечі. У крові виявляються лейкопенія, аж до агранулоцитозу, підвищена активність лужної фосфатази, високий рівень глюкози й калію, а при комі – зниження лужного резерву крові. У сечі реєструється білок і еритроцити. При жовтяниці підвищується рівень білірубіну в сироватці крові й з'являються жовчні пігменти в сечі [4, 13].

З токсикологічної точки зору дуже важливими є гепатотоксичні ефекти антипсихотичних ліків: збільшення розмірів і біль у печінці, іктеричність шкірних покривів і поява геморагій на них. Розвиток гепатитів при передозуванні антипсихотичних препаратів пов'язаний із запальним процесом у жовчних каналах, закупоркою жовчних протоків з порушенням відтоку жовчі, розривом жовчних каналців, що призводить до некрозу гепатоцитів через токсичну дію жовчі. До цього слід додати досить важливу особливість фармакокінетики антипсихотичних препаратів. Незважаючи на їхню здатність проникати крізь гематоенцефалічний бар'єр, тканинах головного мозку вони накопичуються в значно меншій кількості, ніж у внутрішніх органах (печінці, легенях) [4].

Антипсихотичні препарати здатні легко проникати в органи й тканини, оскільки мають виражену ліпофільність. Вони проявляють високу спорідненість до білків плазми (75–99 %), а також до мембран. Завдяки таким властивостям вони накопичуються в тканинах мозку, легенів та інших органах. Дані препарати легко проходять крізь плацентарний бар'єр, а також надходять у молоко матері та у високих дозах можуть викликати екстрапірамідні розлади в новонароджених [4, 12]. З нефротичних ефектів слід виділити затримку сечі, набряки, а із симптомів токсичної енцефалопатії, яка розпочинається через 1–2 год після прийому токсичних доз препарату й триває до 3-х діб – порушення свідомості аж до коми. Загалом тривалість клінічних проявів отруєння антипсихотичними препаратами становить від декількох годин до 5–7 діб із моменту надходження токсичної дози ліків в організм.

Метаболізм антипсихотичних препаратів пов'язаний зі складними біохімічними процесами, такими як окиснення, деметилювання, гідроксилювання, кон'югація з глюкуроновою кислотою й дегалогенізуванням з утворенням численних активних і токсичних метаболітів. Так, хлорпромазин (аміназин) потенційно може біотрансформуватися з утворенням до 168 метаболітів, 70 з яких були виявлені в людини, але тіль-

ки 10–12 із них визначаються в організмі в значних кількостях [7].

Найнебезпечнішим з екстрапірамідних ускладнень, що виникають за умов терапії антипсихотичними засобами, є злоякісний нейролептичний синдром. При проведенні неадекватної терапії рівень смертності при цьому стані сягає 20 %. Злоякісний нейролептичний синдром зазвичай розвивається протягом перших 2 тижнів від початку прийому антипсихотичних препаратів або збільшення їхньої дози. Найчастіше злоякісний нейролептичний синдром розвивається при застосуванні препаратів пролонгованої дії та проявляється тетрадою наступних симптомів:

- гіпертермією (зазвичай понад 38 °C);
- генералізованою м'язовою ригідністю;
- сплутаністю чи пригніченням свідомості (аж до коми);
- вегетативними розладами (профузним потовиділенням, тахікардією, тахіпное, коливанням артеріального тиску, порушенням ритму серця, задишкою, блідістю шкіри, порушенням сечовипускання, олигурією) [9].

Ортостатична гіпотензія найчастіше розвивається при використанні таких типових антипсихотичних препаратів, як хлорпромазин і тіорідазин, а також клозапіну. Гіпотензія буває різного ступеня тяжкості, аж до розвитку синкопальних станів. Прояви її практично завжди зменшуються в положенні лежачи на спині. Тому пацієнта слід попередити про необхідність повільно підніматися з положення лежачи й не забувати знаходитися протягом 2 год після прийому препаратів даної групи в горизонтальному положенні [4].

У розвитку токсикогематологічних ускладнень, зокрема лікарського агранулоцитозу, важливе значення надається токсичним механізмам дії антипсихотичних препаратів на клітини крові, які дотепер залишаються спірними [1, 8].

Агранулоцитоз – гематотоксична дія, потенційно небезпечна для життя пацієнтів. Найчастіше зустрічається при терапії клозапіном і дуже рідко – при застосуванні аліфатичних або піперидинового ряду похідних фенотіазину. При розвитку симптоматичного агранулоцитозу вимагається негайна відміна терапії. Якщо агранулоцитоз у кон-

кретного пацієнта пов'язаний із прийомом антипсихотичного препарату, цей препарат йому протипоказаний [3].

Токсична ретинопатія характерна для всіх антипсихотичних препаратів (особливо хлоретапромазину і тiorидазину у високих дозах) і проявляється пігментацією райдужної оболонки, зниженням гостроти зору, порушенням кольоросприйняття, симптомом «фіолетових людей» [4].

Таким чином, раціональне та ефективне застосування антипсихотичних препаратів, це запорука оптимізації фармакотерапії тяжких психічних захворювань – психозів. Використання цієї групи ліків у психіатричній практиці вимагає професійної пильності, фармакологічної освіченості, обов'язкового дотримання основного принципу фармакотерапії – «Не нашкодь!»

1. Волков В. П. Кожные осложнения фенотиазиновой терапии (обзор литературы) / В. П. Волков // Психиатрия и психофармакотерапия. – 2010. – Т. 12, № 3. – С. 33–37.
2. Данилов Д. С. Современные классификации антипсихотических средств и их значение для клинической практики (современное состояние вопроса и его перспективы) / Д. С. Данилов // Обзорение психиатрии и медицинской психологии им. В. М. Бехтерева. – 2010. – № 3. – С. 36–42.
3. Данилов Д. С. Лечение шизофрении / Д. С. Данилов, Ю. Г. Тюльпин. – М.: Медицинское информационное агентство. – 2010. – 276 с.
4. Побочное действие лекарств: учебник-справочник / С. М. Дроговоз, А. П. Гудзенко, Я. А. Бутко, В. В. Дроговоз. – Харків, 2012. – 480 с.
5. Инфаркт миокарда – ведущая причина смерти пациентов ведущего психиатрического стационара / С. В. Рыбакова, Л. Е. Заганьшина, А. С. Галявич, Ф. Ф. Гатин // Проблемы и перспективы клинической фармакологии. Материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – Барнаул, 2004. – С. 283–286.
6. Мосолов С. Н. Клинико-нейрохимическая классификация современных антипсихотических препаратов / С. Н. Мосолов // Международный журнал медицинской практики. – 2000. – № 4. – С. 35–38.
7. Справочное руководство по психофармакологическим и противоэпилептическим препаратам, разрешенным к применению в России / Под ред. С. Н. Мосолова. – [2-е перераб.]. – М.: Издательство БИНОМ, 2004. – 304 с.
8. Adnet P. J. Neuroleptic malignant syndrome / P. J. Adnet, P. Lestavel, R. Krivosic-Horber // Br J. Anaesth. – 2000. – V. 85, № 1. – P. 129–135.
9. Chandran M. Catatonia, neuroleptics and brain damage – a case report / M. Chandran, M. El-Shazly // J Psychopharmacol. – 2009. – V. 23, № 2. – P. 223–226.
10. Delay J. Drug-included extrapyramidal syndromes / J. Delay, P. Deniker // Handbook of clinical neurology. – 1986. – V. 6. – P. 248–266.
11. Lethal catatonia and its differential diagnosis with the neuroleptic malignant syndrome / A. L. Gimenez, R. J. Gates, J. F. Diaz [et al.] // Rev Neurol. – 2002. – V. 34, № 4. – P. 399–400.
12. Movement disorders associated with atypical antipsychotic drugs / S. N. Caroff, S. C. Mann, E. C. Cambell, K. A. Sullivan // J. Clin Psychiatry. – 2002. – V. 63. – P. 12–19.
13. Severe and uncommon involuntary movement disorders due to psychotropic drugs / Stubner S., Rustenbech E., Grohmann R. [et al.] // Pharmacopsychiatry. – 2004. – V. 37, № 1. – P. 54–64.

С. М. Дроговоз, В. Д. Лукьянчук, Б. С. Шейман, А. В. Кононенко

Возможные механизмы токсического действия антипсихотических средств

В клинической картине отравления антипсихотическими препаратами преобладают симптомы, формирование которых напрямую связано с разными векторами механизма их токсического действия и патогенеза отравлений этой группой психоактивных лекарств. Залогом оптимизации фармакотерапии психических заболеваний является рациональное и эффективное применение антипсихотических препаратов.

Ключевые слова: антипсихотические средства, токсическое действие, механизм

S. M. Drogovoz, V. D. Lukyanchuk, B. S. Sheiman, A. V. Kononenko

The possible mechanisms of antipsychotics toxic effects

In the clinical picture of intoxication by antipsychotics prevalent symptoms, that are directly related to the mechanism of different vectors of toxicity and pathogenesis of poisoning of psychoactive drugs. The key to optimization of the pharmacotherapy of mental illnesses is a rational and effective administration of antipsychotic drugs.

Key words: antipsychotics, toxic action, mechanism

Надійшла: 28.09.2012 р.

Контактна особа: Дроговоз Світлана Мефодіївна, докт. мед. наук, професор, кафедра фармакології, Національний фармацевтичний університет, вул. Мельникова, 12, м. Харків, 61002. Тел./факс: +38 (057) 706-30-69. Електронна адреса: DrogovozSM@mail.ru

Правила для авторів

1. У журналі публікуються оглядові та експериментальні статті, що стосуються:
 - вивчення механізму дії лікарських засобів;
 - ефективності фармакотерапії різноманітних захворювань;
 - взаємодії між ліками;
 - побічних ефектів при застосуванні ліків;
 - синтезу фізіологічно активних речовин та вивчення їхніх фармакологічних та токсичних властивостей;
 - питання фармацевтики.
2. Не приймаються до розгляду матеріали, що стосуються діагностики захворювань та не медикаментозних методів лікування.
3. Журнал «Фармакологія та лікарська токсикологія» включено до переліку журналів, публікації в яких зараховуються при захисті дисертацій у галузі медичних, біологічних та фармацевтичних наук.
4. Оригінальні статті повинні мати таку структуру:
 - 4.1. *Вступна частина*
 - постановка проблеми в загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями;
 - аналіз останніх досліджень, у яких започатковано розв'язання даної проблеми й на які спирається автор;
 - виділення невирішених частин загальної проблеми, яким присвячується означена стаття;
 - формулювання цілей статті.
 - 4.2. *Матеріали та методи*
 - 4.3. *Результати та обговорення*
 - виклад основного матеріалу дослідження з аналізом отриманих наукових результатів.
 - 4.4. *Висновки*
 - висновки даного дослідження та перспективи подальших розвідок у даному напрямі.
 - 4.5. *Список літературних посилань*
 - 4.6. *Реферати статті російською та англійською мовами з назвою роботи, прізвищем автора та ключовими словами.*

У разі недодержання зазначених вимог статті не прийматимуться до публікації.

- 5. Стаття має бути підписаною авторами та супроводжуватись листом від організації, де виконано цю роботу, експертним висновком, а також відомостями про авторів, із зазначенням контактної особи, наукового ступеня, звання, місця роботи, контактного телефону, поштової та електронної адреси.
- 6. Авторський текстовий матеріал надається в двох примірниках. Матеріали статті мають бути викладеними українською мовою. Матеріали надаються на паперовому носії (білому аркуші форматом А4 через 1,5 інтервалу в форматі текстового редактора MS WORD for Windows, формат файлу – *.doc, без ручних перенесень, шрифтом Times New Roman 14 пт та в електронному вигляді (дискета 3,5'' з ідентичним текстом статті у форматі текстового редактора MS WORD for Windows).
- 7. Текст повинен включати шифр УДК у відповідності до всіх ключових слів (які обов'язково вказуються в кінці статті), ініціали та прізвища авторів, назву установи чи організації.
- 8. Обсяг матеріалів оригінальних досліджень має становити 6–12 сторінок, оглядів – 12–20 сторінок, включаючи ілюстрації, таблиці та список літератури. Паперовий та електронний варіанти рукописів повинні мати такі береги: лівий – 3,5 см, правий – 1,5 см, верхній та нижній – по 2,5 см. Усі скорочення при їхньому першому згадуванні повинні бути розшифровані. Усі показники наводяться в одиницях системи СІ.

9. Список літературних посилань до статті складається в послідовній нумерації та повинен містити джерела за останні п'ять років. При посиланні на журнальні статті наводять прізвище та ініціали авторів, назву роботи, назву журналу, рік, том, номер, сторінки; при посиланні на монографії – місто, видавництво, рік видання, кількість сторінок. Якщо у джерела більше 4 авторів, вказують 3 перших і далі «та ін.». Посилання на неопубліковані роботи не допускається. Посилання на бібліографічні джерела в тексті статті наводять у квадратних дужках.

10. Графічний матеріал, малюнки й таблиці мають бути подані в стандартних програмах у тому ж файлі, що й текст статті. Хімічні формули, таблиці, показники, дози візуються на полях.

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

12. Текст статті повинен бути старанно вивірений. Коректура авторам не висилається. Відхилені рукописи не повертаються.

13. Матеріали статей рецензуються. Редакція залишає за собою право на редагування та скорочення одержаних матеріалів.

14. Журнал реферується Українським Реферативним журналом. Опубліковані матеріали зберігаються в Республіканській базі даних «Україніка наукова» та відкриті до ON-лайнного доступу на WEB-сервері <http://www.nbuv.gov.ua>.

CONTENT

CONTEMPORARY ASPECTS OF NEUROPHARMACOLOGY

<i>Vazhnichaya Ye. M.</i> Pyridoxine's anti-stress effect as manifestation of its pharmacodynamics activity.....	3
<i>Lukyanchuk V. D., Zhytina I. A., Seifullina I. I., Martsinko E. E., Pesaroglo A. G.</i> Pharmacokinetics study of new cerebroprotector compound OK-7 in norma and under acute ischemic stroke.....	8
<i>Pishel V. Y.</i> Antiabstinent activity and mechanism of action of Fluridon, antinarcotic drug	13

IN SCIENTIFIC LABORATORIES

<i>Buliga L. A., Butko Y. A., Ivantsyk L. B.</i> Comparison of anti-inflammatory activity lotion, cream and ointment «Elocom» in conditions of subchronic dermatitis in rats	18
<i>Vorozhbyt A.</i> Monoaminergic mechanisms of tolerance to the action of antidepressants	23
<i>Georgiyevsky G. V., Zinchenko A. A.</i> Determination of the process-related impurities in a substance of 1-(β -phenylethyl)-4-amino-1,2,4-thiazolyl bromide	29
<i>Herashchenko I. V.</i> The tocolytic activity of imidazo [1,2-a]azepine derivatives	37
<i>Gerush O. V., Yakovleva L. V., Lenitskaya E. B., Gorban E. N.</i> The influence of «Hepafisan» capsules, a new combined phyto-genous drug, on the development of an inflammatory reaction.....	42
<i>Demchenko S. A., Smolsky O. S., Bobkova L. S.</i> Evaluation of antioxidant and antiradical in vitro activities of new derivatives of 5-[2-(3,5-di- <i>tert</i> -butyl-4-hydroxyphenyl)-2-oxoethyl]-7- <i>R</i> -2-methyl-[1,3]-thiazolo-[4,5- <i>d</i>]pyridazine-4(5 <i>H</i>)-one	47
<i>Dzhan T. V., Dzhan A. M., Konovalova E. Yu., Klimenko S. V.</i> The study of glucose lowering activity of the extracts from quince leaves (<i>Cydonia oblonga</i> L.) and Japan quince leaves (<i>Chaenomeles</i> L.)	52
<i>Kononenko A. V., Drogovoz S. M.</i> Study of hepatoprotective activity of <i>Sorbus aucuparia</i> extract.....	58
<i>Lukyanchuk V. D., Nizhenkovsky O. I., Fedorova V. S., Kravets D. S., Seifullina I. I., Martsinko E. E., Pesaroglo A. G.</i> Screening study of cerebroprotective action of coordinating germanium compounds on the model of closed craniocerebral injury	63
<i>Monatko C. V., Podpletnyaya E. A.</i> Acute toxicity studies of lyophilic watermelon pulp powder, diuretic effect and influence on the level of uric acid	69
<i>Novokhatska T.</i> Correction of vascular contractile dysfunction in SHR with delta PKC gene silencing using RNA-interference.....	73

CLINICAL PHARMACOLOGY

<i>Davydova Iu., Tsyapkun A., Berezenko V., Apresova K., Ogorodnyk A., Butenko L.</i> Peculiarities of perinatal management of pregnancy with thyroid hyperfunction	81
---	----

CURRENT ISSUES OF DRUG TOXICOLOGY

<i>Drogovoz S. M., Lukyanchuk V. D., Sheiman B. S., Kononenko A. V.</i> The possible mechanisms of antipsychotics toxic effects	86
---	----