
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

№ 1 (32)/2013

ЗМІСТ

ОГЛЯДИ

Кононевич Ю. М., Бобкова Л. С., Демченко А. М. Фармакологічна активність
5,6-циклоалкілпіримідинів – перспективного класу біологічно активних сполук 3

СУЧАСНІ АСПЕКТИ НЕЙРОФАРМАКОЛОГІЇ

Дроговоз С. М., Кононенко А. В. Біоритми нервової діяльності та
фармакологічна корекція їхніх порушень 14

*Семененко Н. О., Степанюк Г. І., Ходаківський О. А., Черешнюк І. Л.,
Семененко А. І., Воскобойнік О. Ю., Коваленко С. І.* Вплив похідного
(3-*R*-2-оксо-2Н-[1,2,4]тріазино[2,3-*C*] хіназолін-6-іл)
карбонових кислот (сполуки DSK-38) на інтенсивність нейродеструктивних
змін при експериментальному порушенні мозкового кровообігу 19

Щокіна К. Г. Експериментальне вивчення антидепресивних
та анксиолітичних властивостей рекомбінантного антагоніста
рецепторів інтерлейкіну-1 27

У НАУКОВИХ ЛАБОРАТОРІЯХ

Бальон Я. Г., Сімуров О. В., Ховака В. А., Гурєєва С. М. Вивчення
хіміко-фармацевтичних властивостей ін'єкційного розчину інгібітора функції
надниркових залоз о,п'-ДДД (хлодитану) з метою впровадження
його в клінічну практику 32

Власенко Н. О. Дія мексидолу на постстресорну активацію еритро-
та грануломоноцитопоезу в кістковому мозку щурів 39

Волощук Н. І., Дмитрієв Д. В. Гендерні відмінності анальгезуючої дії
кеторолаку та трамадолу в експерименті та клініці 44

Іванчик Л. Б., Бутко Я. О., Булига Л. О. Порівняльне вивчення
репаративної активності комбінованих мазей для лікування ран 50

<i>Кавушевська Н. С., Тюпка Т. І., Лар'яновська Ю. Б.</i> Вплив нового гелю «Лізостом» на морфологічний стан слизової оболонки рота за умов експериментального гінгівіту	55
<i>Монатко К. В., Подплетня О. А.</i> Вплив ліофільного порошку кавуна на структуру нирок за умов експериментальної доксорубіцинової нефропатії	60
<i>Пакришень С. В., Матвієнко А. В., Килимник О. М.</i> Вплив амлодипіну та димедипіну на структурно-функціональний стан міокарда при доксорубіциновій кардіоміопатії.....	65
<i>Пясковська О. М., Момот В. Я., Колесник Д. Л., Горбик Г. В., Шаламай А. С., Соляник Г. І.</i> Дослідження антиангіогенного потенціалу Корвітину.....	72
<i>Суворова З. С.</i> Вплив похідних алкоксіамінопропанолу на формування біоплівки грамнегативними бактеріями	78
<i>Тюпка А. О., Кононенко Н. М., Загайко А. Л.</i> Вплив наноемульсії ліпосом з поліфенолами виноградної насіння на місцевий неспецифічний протеїназ-інгібіторний потенціал слизової оболонки шлунка при експериментальній гастральній виразці.....	84
АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ ЛІКАРСЬКОЇ ТОКСИКОЛОГІЇ	
<i>Дроговоз С. М., Лук'янчук В. Д., Шейман Б. С., Матвєєва О. В., Кононенко А. В.</i> Сучасні уявлення про механізми токсичної дії аналгетиків	89
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ РИНОК УКРАЇНИ	
<i>Шарикіна Н. І., Кудрявцева І. Г., Хавич О. О., Олійник Г. М., Мешкова Н. О., Захаренко В. В., Пенделюк С. І.</i> Таргетні препарати в онкофармакології	94
ОСОБИСТОСТІ	
<i>Громов Леонід Олександрович.</i> До 75-річчя від дня народження.....	98
CONTENT	100

Ю. М. Кононевич, Л. С. Бобкова, А. М. Демченко

Фармакологічна активність 5,6-циклоалкілпіримідинів – перспективного класу біологічно активних сполук

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

Ключові слова: 5,6-циклоалкілпіримідини, фармакологічна активність

Похідні піримідину є одним з найдосліджуваніших класів органічних сполук на наявність корисних фармакологічних властивостей. Сьогодні на основі цих сполук створено велику кількість високоефективних синтетичних лікарських засобів, що широко використовуються в усьому світі. Особливе місце займають похідні піримідину, конденсованого з гетероциклічним фрагментом. Серед найвідоміших представників цього класу органічних сполук слід виділити такі високоефективні лікарські препарати, як алопуринол, силденафіл (Віагра), туберцидин та ін. (рис. 1).

Заміна гетероциклічного фрагмента карбоциклічним призводить до нових перспективних біологічно активних сполук – 5,6-циклоалкілпіримідинів. Встановлено, що похідні 5,6-циклоалкілпіримідину виявляють антималярійну, цитотоксичну, протизапальну, анагетичну, жарознижуючу, анксиолітичну, антифолатну, бронходилататорну, противиразову та інші види фармакологічної активності. Слід також зазначити, що фрагмент 5,6-поліметилєнпіримідину входить до структури сполук природного походження.

Циклоалкілпіримідини – складова частина сполук природного походження. Поліметилєнпіримідиновий фрагмент входить до структури деяких алкалоїдів, які було виділено з рослин, губок та риб. Так, із різних видів Аглаїя (*Aglaia*, *Meliaceae*) було виділено такі алкалоїди: аглароксин С (*aglaroxin* С, *Aglaia roxburghiana*), аглароксин D (*aglaroxin* D, *Aglaia odorata*, *Aglaia roxburghiana*), дидегідроаглаїастатин

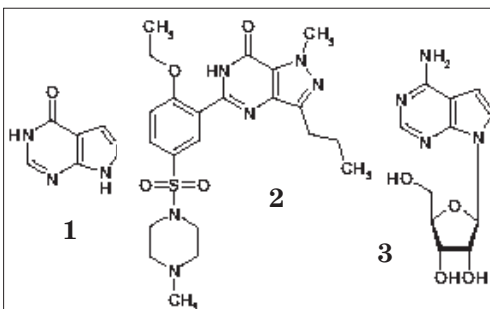


Рис. 1. Діючі компоненти відомих препаратів, що містять фрагмент піримідину, анельованого з п'ятичленним кільцем – алопуринол (1), силденафіл (2), туберцидин (3).

(didehydroaglaiastatin, *Aglaia odorata*, *Aglaia duppereana*), марикарін (*mari-karin*, *Aglaia gracilis*), дидегідро-3'-гідроксіяглаїастатин (didehydro-3'-hydroxyaglaiastatin, *Aglaia duppereana*), 3'-гідроксимарикарін (3'-hydroxymari-karin, *Aglaia gracilis*) тощо [1–3].

Встановлено, що аглароксин С та аглароксин D (рис. 2) мають високу пестицидну активність [4]. Окрім того, показано, що аглароксин D є специфічним інгібітором синтезу протеїнів, і має потужний інгібуючий ефект щодо росту ракових клітин різних ліній (наприклад, щодо клітин K-ras-NRK: IC₅₀ = 1,67 нг/мл) [1].

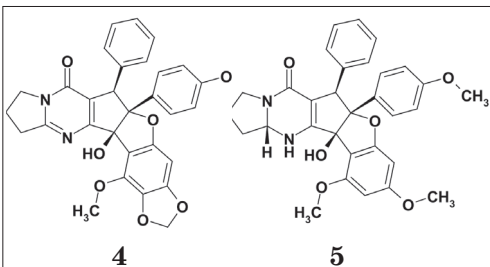
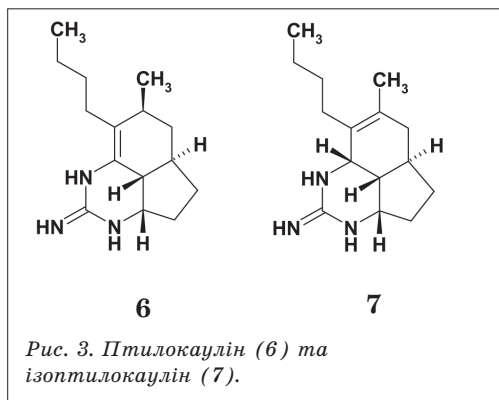


Рис. 2. Аглароксин С (4) та аглароксин D (5).



У 1981 році із карибської губки *Ptilocaulis* aff. *P. spiculifer* було виділено два алкалоїди: птилокаулін та ізоптилокаулін (рис. 3), які виявляють високу цитотоксичну та антимікробну (проти грампозитивних та грамнегативних бактерій) активності [5]. Так, інгібування росту клітин лейкемії L1210 птилокауліном та ізоптилокауліном характеризується ефективними дозами (ID_{50}) 0,39 мкг/мл та 1,4 мкг/мл відповідно.

У таблиці 1 наведено мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) птилокауліну та ізоптилокауліну відносно низки мікроорганізмів.

Цінні біологічні властивості птилокауліну підштовхнули вчених до його повного синтезу [6–11].

У роботі Х. Сорека із співавторами показано, що із морської губки *Vietna laboutei* було виділено сім нових гуані-

динових алкалоїдів (Нетамін А-Г) схожої будови із птилокауліном, що мають високу цитотоксичну активність [12]. У таблиці 2 наведені дані цитотоксичної активності (GI_{50} , мкг/мл) нетаміну С та D відносно трьох ліній ракових клітин (A549, HT29, MDA-MB-231).

Дещо раніше, австралійськими вченими із морської губки *Arenochalina mirabilis* було виділено шість нових алкалоїдів, структура яких подібна до структури птилокауліну. Такі сполуки одержали назви мірабілін А-F [13].

Одна з найтоксичніших сполук у світі – тетродотоксин (LD_{50} 334 мкг/кг для мишей), що був виділений з риби фугу, також містить у своїй структурі 5,6-циклоалкілпіримідиновий фрагмент (рис. 4) [14,15]. Відомо, що тетродотоксин селективно зв'язується з елементами натрієвих каналів, і таким чином інгібує їхню функцію в клітинній мембрані. Його повному синтезу присвячено досить багато робіт [16–23].

Такі алкалоїди, як міріонідин та скоберин (рис. 5), що містять фрагмент 5,6-поліметилепіримідинів, було виділено з рослини *Myrioneuron nutans*, що росте в північному В'єтнамі [24]. Встановлено, що ці алкалоїди проявляють антималярійну активність (IC_{50} 0,3 мкг/мл для (-)-міріонідину та 4,0 мкг/мл для (-)-скоберину, *P. falciparum*).

Таким чином, 5,6-поліметилепіримідиновий фрагмент входить до складу

Таблиця 1

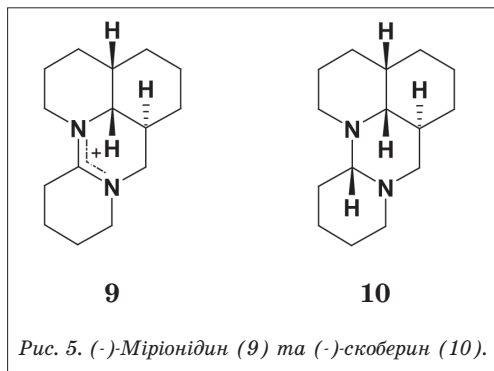
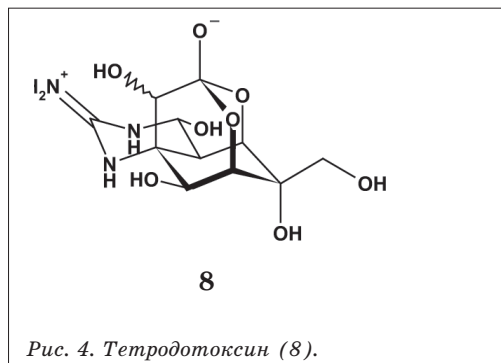
Мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) птилокауліну та ізоптилокауліну відносно мікроорганізмів

№	Мікроорганізм	Птилокаулін, МІК, мкг/мл	Ізоптилокаулін, МІК, мкг/мл
1	<i>Streptococcus pyogenes</i>	3,9	25
2	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	15,6	100
3	<i>Streptococcus faecalis</i>	62,5	> 100
4	<i>Staphylococcus aureus</i>	62,5	100
5	<i>Escherichia coli</i>	62,5	> 100

Таблиця 2

Цитотоксична дія нетаміну С та нетаміну D відносно ракових клітин ліній A549, HT29 та MDA-MB-231

№	Алкалоїди	Лінії клітин / GI_{50} , мкг/мл		
		A549	HT29	MDA-MB-231
1	Нетамін С	4,3	2,4	2,6
2	Нетамін D	6,6	5,3	6,3



деяких алкалоїдів поліциклічної будови, що характеризуються яскраво вираженою біологічною дією.

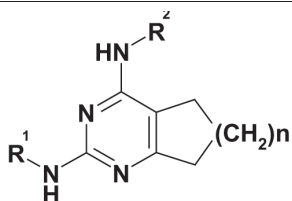
Антималарійна активність 5,6-циклоалкілпіримідинів. Одним із перших видів фармакологічної активності, що було встановлено для синтетичних похідних 5,6-циклоалкілпіримідинів, є антималарійна активність. Так, у роботі Ф. Курда із співавторами показано,

що піримідини, конденсовані із циклопентановим та циклогексановим фрагментами в положенні 5,6 та з різними амінозамісниками в положенні 2 та 4, проявляють антималарійні властивості (рис. 6) [25–27]. У таблиці 3 представлено мінімальні дози 5,6-циклопента- та 5,6-циклогекса [d]піримідинів (11а–ж), при яких спостерігалася антималарійна активність.

Таблиця 3

Мінімальні дози 5,6-циклопента- та 5,6-циклогекса [d]піримідинів, при яких встановлена антималарійна активність

№	R ¹	R ²	n	Доза, мг/кг
11а			1	80
11б			2	10
11в			2	40
11г	H		2	80
11д	H		2	80
11е			2	80
11є			1	160
11ж			2	160



11

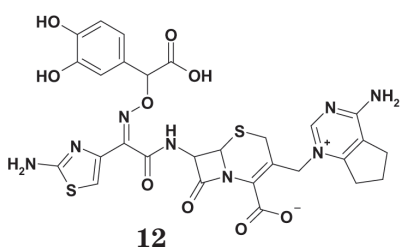
Рис. 6. 5,6-Циклопента- та 5,6-циклогекса [d]піримідини (11), що проявляють антималярійну активність.

Антибактеріальна активність. Незважаючи на те, що в літературних джерелах майже не згадується наявність антибактеріальної активності для похідних 5,6-циклоалкілпіримідину, за винятком вищезгаданих алкалоїдів, у роботі корейських учених показано, що заміна піридинового фрагмента в цефтазидимі циклопента [d] піримідиновим призводить до підвищення антибактеріальної активності цефалоспоринів (12-17) (рис. 7) проти

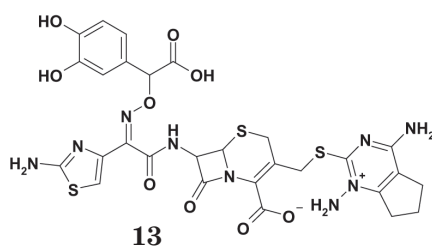
грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів [28-30].

Протизапальна, анагетична та жарознижуюча активність. Для спектра біологічної активності похідних 5,6-циклоалкілпіримідину характерним є наявність протизапальної, анагетичної та жарознижуючої. Так, одними з перших це виявили японські вчені, досліджуючи 1,3-дизаміщені 2,4-діоксо-1,2,3,4,6,7-гексагідро-5Н-циклопента [d]піримідини (18a-i) (рис. 8) [31]. Анагетична активність зазначених сполук характеризується ED₅₀ у межах (133–236) мг/кг. Протизапальна активність, що характеризується відсотком (%) інгібіції карагенінового набряку в щурів, – на рівні 28–48 %. Дані фармакологічних досліджень сполук (18a-i) наведено в таблиці 4.

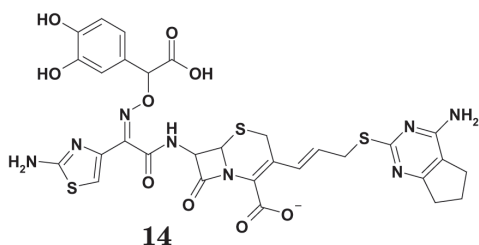
У пошуках нових протизапальних, анагетичних та жарознижуючих засобів єгипетськими вченими було синтезовано нові похідні 3-піразолін-5-ону (19) та 1,2,4,5,6,7-3Н-гексагідроіндазол-



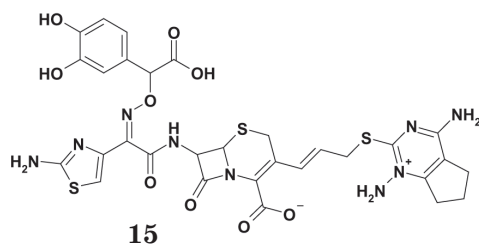
12



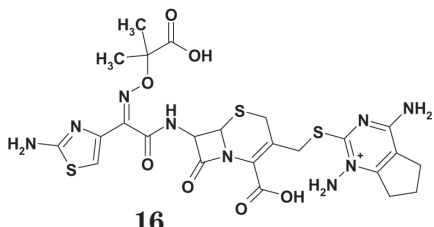
13



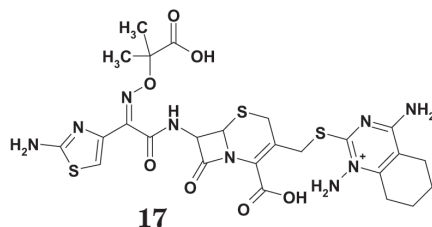
14



15



16



17

Рис. 7. Похідні цефалоспориноу.

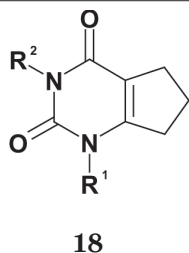


Рис. 8. 1,3-Дизаміщені 2,4-діоксо-1,2,3,4,6,7-гексагідро-5H-циклопента [d]піримідини.

3-ону (20,21) (рис. 9), що мають у своїй структурі фрагмент 5,6-циклоалкіл-піримідин-5-ону [32,33].

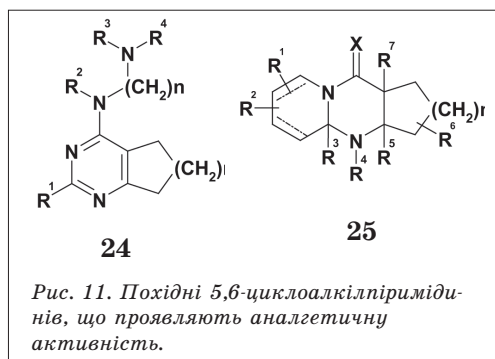
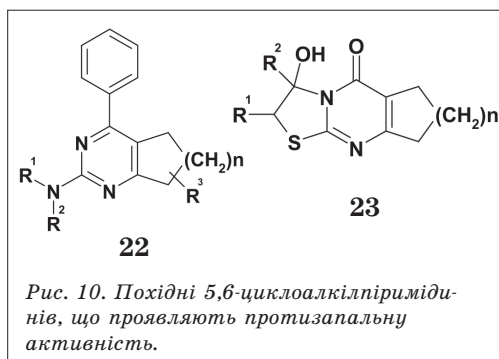
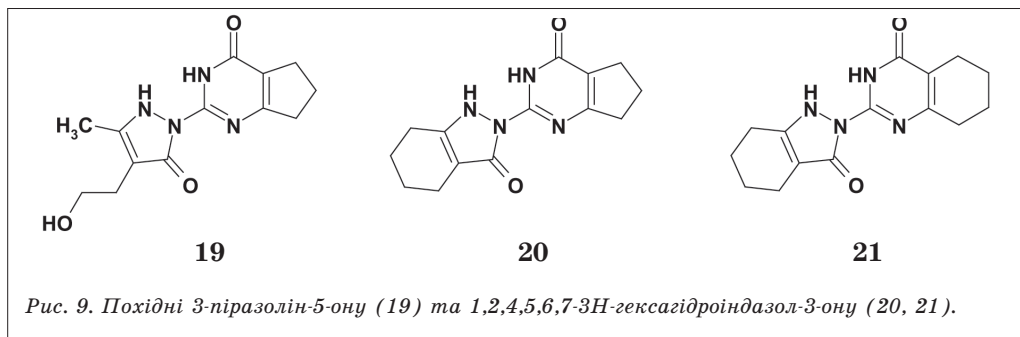
Авторами було показано, що сполука 19 проявляє слабку протизапальну, помірну аналгетичну та високу жарознижуючу активності, а сполуки 20 і 21 проявляють високі протизапальну, аналгетичну та жарознижуючу активності (наприклад, ED₅₀: 18,9 мг/кг; 10,8 мг/кг; 18,9 мг/кг відповідно).

Таблиця 4

Фармакологічна активність 1,3-дизаміщених 2,4-діоксо-1,2,3,4,6,7-гексагідро-5H-циклопента [d]піримідинів

№	R ₁	R ₂	Гостра токсичність ^{а)} LD ₅₀ , мг/кг	Аналгетична активність ^{б)} ED ₅₀ , мг/кг	Протизапальна активність ^{в)}	
					D ₅₀ , мг/кг	D ₁₀₀ , мг/кг
18а	CH ₃	CH ₃	430	201	35	45
18б	CH ₃		308	125	–	34
18в	CH ₃		692	133	–	28
18г	CH ₃	H ₂ C=CH–*	340	236	–	–
18д	*CH ₂ COOH		1600	–	–	–
18е	*CH ₂ CONH ₂		1200	–	–	–
18є	*CH ₂ CONH ₂		1080	–	–	–
18ж	*CH ₂ CON(CH ₃) ₂	CH ₃	1050	–	–	–
18з	*CH ₂ CON(CH ₃) ₂		380	–	–	–
18и	*CH ₂ CON(CH ₂ CH ₃) ₂	CH ₃	1100	–	–	–
18і	*CH ₂ CON(CH ₂ CH ₃) ₂		350	–	–	–
	Амінопурин		280	135	43	48

Примітка. ^{а)} у мишей; ^{б)} модифікований метод Хаффнера; ^{в)} карагеніновий набряк в щурів-самців.



Похідні 5,6-циклоалкілпіримідинів (22), загальна формула яких представлена на рисунку 10, проявляють протизапальну активність у дозах 46–100 мг/кг (перорально) [34], а сполуки загальної формули 23 мають протизапальний ефект у дозах 1–100 мг/кг [35].

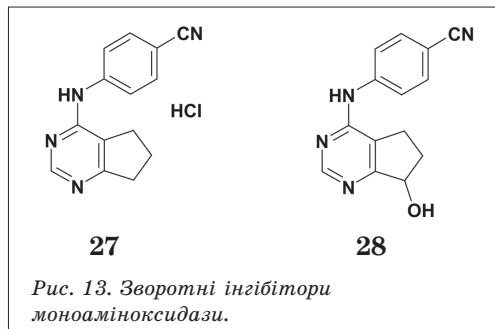
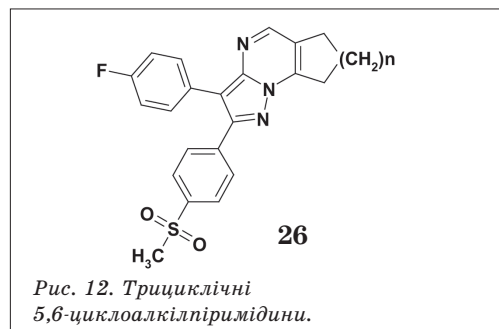
Ученими США та Швейцарії було запатентовано сполуки 24 та 25 (рис. 11), здатні проявляти анагетичний ефект [36–38]. Трициклічні 5,6-циклоалкілпіримідини 25 здатні проявляти протизапальну, анагетичну та антипіретичну активності [38]. Зокрема, сполуки 25 проявляють анагетичну активність, яка характеризується ефективними дозами (ED_{50}) у межах від 1 до 7,8 мг/кг.

Іспанські вчені встановили, що трициклічні сполуки (26) (рис. 12) є селек-

тивними інгібіторами циклооксигенази-2 (інгібування активності ЦОГ-2 складає 75–100 % *in vitro*, human whole blood – 10 мкМ/л) [39].

Дія похідних 5,6-поліметиленпіримідину на центральну нервову систему. У похідних 5,6-поліметиленпіримідину було виявлено здатність проявляти антидепресантну активність. Так, сполуки 27 та 28 (рис. 13) здатні не тільки підвищувати рівень таких моноамінів як норепінефрин, допамін та 5-гідрокситриптамін, а й знижувати рівень метаболітів цих моноамінів, що пов'язано зі здатністю цих сполук зворотно інгібувати активність моноаміноксидази [40–48].

Японські вчені показали, що похідне тетрагідрохіназоліну 29 (рис. 14) є інгі-



бітором серотонінових рецепторів 5-НТ₂ з активністю на рівні кетансерину [49]. Так, сполука 29 у дозах 1–10 мг/кг *in vivo* здатна інгібувати 5-НТ₂ від 78 % до 100 % залежно від часу.

Серед інших похідних 5,6-поліметиленпіримідину з дією на ЦНС слід відзначити трициклічні сполуки 30 та 31 (рис. 15), що проявляють анксіолітичну активність [50, 51].

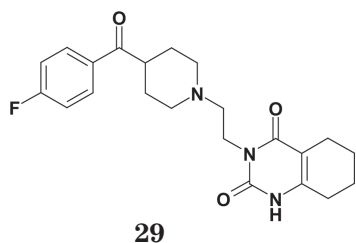
Під час досліджень впливу похідних 5,6-поліметилен-2-тіоурацилу (32 а-г) (рис. 16) на центральну нервову систему було встановлено, що сполуки 32 а,б,г стимулюють ЦНС, у той час як сполука 32 в є депресантом [52].

Інші види біологічної активності, притаманні похідним циклоалкіл [d] піримідину. Похідні циклопента [d] піримідину як аналоги фолієвої кислоти здатні зв'язуватися з ферментом дигідрофолат редуктазою та інгібувати його, запобігаючи утворенню тетрагі-

дрофолату, який є необхідним для синтезу пуринів та піримідинів. Таким чином, антифолати призводять до інгібування синтезу ДНК, РНК та білків і належать до антиметаболітів. Так, сполука 33, зображена на рисунку 17, та близькі до неї за структурою речовини за антифолатною активністю перевищують триметоприм [53–57].

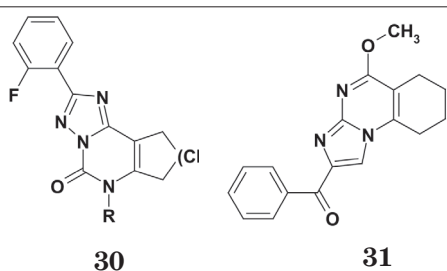
Японськими вченими було встановлено, що сполуки 34 (де R може бути H, CH₃, CH₂CH₃, C₆H₅; n = 1,2,3) проявляють виражену гіпоглікемічну активність (перорально, 30 мг/кг, активність від 23 % до 99 %) (рис. 18) [58].

Американські вчені показали, що сполуки 35а-г (рис. 19) здатні проявляти кальцилітичну активність *in vitro* [59]. Значення IC₅₀ для сполук 35а-г: а (R = H, n = 2) – 0,14 мкМ/л, б (R = 3-F, n = 2) – 0,16 мкМ/л, в (R = H, n = 1) – 0,2 мкМ/л та для г (R = 3-F, n = 1) – 0,2 мкМ/л.



29

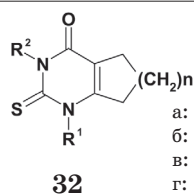
Рис. 14. Похідне тетрагідрохіназоліну – інгібітор серотонінових рецепторів 5-НТ₂.



30

31

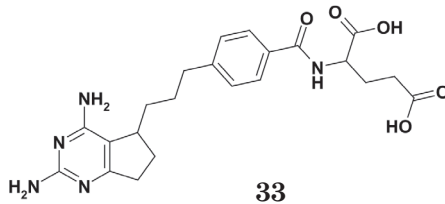
Рис. 15. Трициклічні 5,6-циклоалкілпіримідини.



32

а: R¹ = H, R² = Allyl, n = 1;
б: R¹ = H, R² = Allyl, n = 2;
в: R¹ = H, R² = Allyl, n = 3;
г: R¹ = Allyl, R² = H, n = 3.

Рис. 16. Похідні 5,6-поліметилен-2-тіоурацилу.



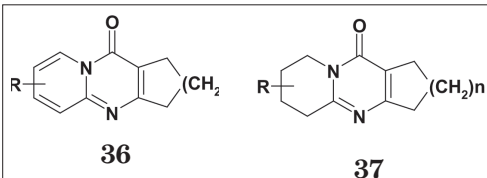


Рис. 20. Сполуки 36 та 37 з бронходилататорною активністю.

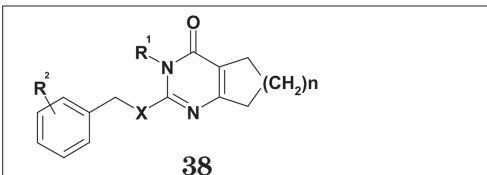


Рис. 21. Похідні 5,6,7,8-тетрагідро-4(3H)-хіназолінону.

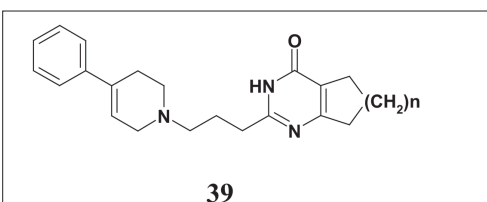


Рис. 22. Похідні циклопента [d]піримідину.

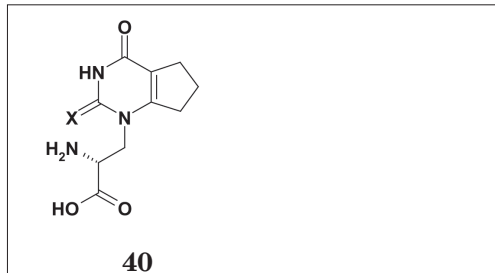


Рис. 23. Селективні повні агоністи АМРА-рецепторів.

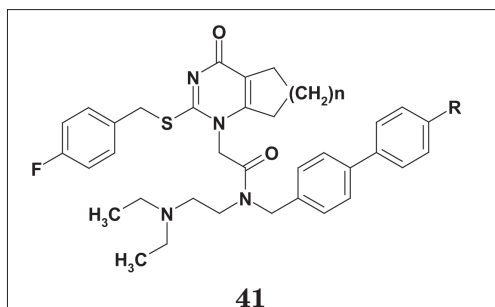


Рис. 24. Потенційні інгібітори ліпопротеїн-асоційованої фосфоліпази A₂.

Бельгійськими вченими було виявлено, що сполуки 36 та 37 (рис. 20) здатні проявляти виражену бронходилататорну активність у тестах на ізольованих бронхах людини, скорочених під дією карбахолу (IC₅₀ 5,4 мкМ/л) [60].

Для похідних 5,6,7,8-тетрагідро-4(3H)-хіназолінонів 38 була досліджена протиприжогова активність (рис. 21). Установлено, що дані сполуки залежно від замісників здатні інгібувати секрецію шлунка до 67 % при пероральній дозі 30 мг/кг [61].

І. Ishida зі співавторами було показано, що похідні циклопента [d]піримідину 39 (рис. 22) з n = 1–3 здатні інгібувати полі(ADP-рибозо)-поліме-

разу-1 (PARP-1) при IC₅₀ від 20 до 495 нМ/л [62].

Дещо раніше італійські вчені встановили, що сполуки 40 (X = O, S) є селективними повними агоністами АМРА-рецепторів (рис. 23) [63].

Сполуки 41 (рис. 24) є потенційними інгібіторами ліпопротеїн-асоційованої фосфоліпази A₂, що може генерувати продукти, такі як лізофосфатидилхолін та окиснені жирні кислоти [64].

Таким чином, 5,6-циклоалкілпіримідини, що характеризуються широким спектром фармакологічної активності, є перспективними для пошуку нових високоефективних лікарських засобів.

1. Cyclopentabenzofuran lignan protein synthesis inhibitors from *Aglaia odorata* / Ohse T., Ohba S., Yamamoto T. [et al.] // J. Nat. Prod. – 1996. – V. 59, № 7. – P. 650 – 652.
2. Total synthesis of (±)-aglaiaastatin, a novel bioactive alkaloid / Watanabe T., Kohzuma S., Takeuchi T. [et al.] // J. Chem. Soc. Chem. Comm. – 1998. – P. 1097 – 1098.
3. Bioefficacy and mode-of-action of Aglaroxin B and Aglaroxin C from *Aglaia elaeagnoides* (syn. *A. roxburghiana*) against *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera litura* / Koul O., Singh G., Singh R. [et al.] // Biopest. Int. – 2005. – V. 1, № 1, 2. – P. 54 – 64.
4. Патент 9604284 WO, МКИ A01N43/90, C07D491/14. Insecticidal polycyclic compounds: Пат. 9604284 WO, МКИ A01N43/90, C07D491/14 / L. P. Molleyres (CH), V. Kumar (LK); Ciba Geigy Ag (CH), L. P. Molleyres (CH), V. Kumar (LK). – № WO1995IB00589 19950727; Заявл. 27.07.1995; Опубл. 15.02.1996.
5. Ptilocaulin and isoptilocaulin, antimicrobial and cytotoxic cyclic guanidines from the Caribbean sponge *Ptilocaulis* aff. *P. spiculifer* / Harbour G. C., Tymiak A. A., Rinehart K. L. [et al.] // J. Am. Chem. Soc. – 1981. – V. 103, № 18. – P. 5604 – 5606.

6. Snider B. B. The total synthesis of ($\pm$)-Ptilocaulin / Snider B. B., Faith W. C. // *Tetrahedron Lett.*– 1983.– V. 24, № 9.– P. 861–864.
7. Roush W. R. Total synthesis of (–)-Ptilocaulin / Roush W. R., Walts A. E. // *J. Am. Chem. Soc.*– 1984.– V. 106, № 3.– P. 721–723.
8. Snider B. B. Total synthesis of ($\pm$)- and (–)-Ptilocaulin / Snider B. B., Faith W. C. // *J. Am. Chem. Soc.*– 1984.– V. 106, № 5.– P. 1443–1445.
9. Walts A. E. A stereorational total synthesis of (–)-Ptilocaulin / Walts A. E., Roush W. R. // *Tetrahedron.*– 1985.– V. 41, № 17.– P. 3463–3478.
10. Asaoka M. Total synthesis of (+)-Ptilocaulin / Asaoka M., Sakurai M., Takei H. // *Tetrahedron Lett.*– 1990.– V. 31, № 33.– P. 4759–4760.
11. Schellhaas K. Chiral [η^6 -arene-Cr(CO) $_3$] complexes as synthetic building blocks: a short enantioselective total synthesis of (+)-Ptilocaulin / Schellhaas K., Schmalz H.-G., Bats J. W. // *Chem. Eur. J.*– 1998.– V. 4, № 1.– P. 57–66.
12. Netamines A-G: seven new tricyclic guanidine alkaloids from the marine sponge *Biemna laboutei* / Sorec H., Rudi A., Gueta S. [et al.] // *Tetrahedron.*– 2006.– V. 62, № 37.– P. 8838–8843.
13. Mirabilins (A-F): new alkaloids from a southern Australian marine sponge, *Arenochalina mirabilis* / Barrow R. A., Murray L. M., Lim T. K. [et al.] // *Aust. J. Chem.*– 1996.– V. 49, № 7.– P. 767–773.
14. Further studies on the structure of tetrodotoxin / Goto T., Kishi Y., Takahashi S. [et al.] // *Tetrahedron Lett.*– 1964.– V. 5, № 14.– P. 779–786.
15. Tetrodotoxin / Goto T., Kishi Y., Takahashi S. [et al.] // *Tetrahedron.*– 1965.– V. 21, № 8.– P. 2059–2088.
16. Synthetic approach towards tetrodotoxin. I. Diels-Alder reaction of α -oximinoethylbenzoquinones with butadiene / Kishi Y., Nakatsubo F., Aratani M. [et al.] // *Tetrahedron Lett.*– 1970.– V. 11, № 59.– P. 5127–5128.
17. Synthetic approach towards tetrodotoxin. II. A stereospecific synthesis of a compound having the same six chiral centers on the cyclohexane ring as those of tetrodotoxin / Kishi Y., Nakatsubo F., Aratani M. [et al.] // *Tetrahedron Lett.*– 1970.– V. 11, № 59.– P. 5129–5132.
18. Synthetic studies on tetrodotoxin and related compounds. III. A stereospecific synthesis of an equivalent of acetylated tetrodamine / Kishi Y., Aratani M., Fukuyama T. [et al.] // *J. Am. Chem. Soc.*– 1972.– V. 94, № 26.– P. 9217–9219.
19. Synthetic studies on tetrodotoxin and related compounds. IV. Stereospecific total synthesis of DL-tetrodotoxin / Kishi Y., Fukuyama T., Aratani M. [et al.] // *J. Am. Chem. Soc.*– 1972.– V. 94, № 26.– P. 9219–9221.
20. Synthetic intermediates potentially useful for the synthesis of tetrodotoxin and derivatives. 9. Hydroquinazolines possessing the carbon skeleton of tetrodotoxin / Keana J. F. W., Bland J. S., Boyle P. J. [et al.] // *J. Org. Chem.*– 1983.– V. 48, № 21.– P. 3627–3631.
21. New synthetic route of guanidine from trichloroacetamide for tetrodotoxin and its related compounds / Nishikawa T., Ohyabu N., Yamamoto N. [et al.] // *Tetrahedron.*– 1999.– V. 55, № 14.– P. 4325–4340.
22. Stereocontrolled synthesis of (–)-5,11-dideoxytetrodotoxin / Asai M., Nishikawa T., Ohyabu N. [et al.] // *Tetrahedron.*– 2001.– V. 57, № 21.– P. 4543–4558.
23. Novel and stereocontrolled synthesis of ($\pm$)-tetrodotoxin from myo-inositol / Sato K., Akai S., Sugita N. [et al.] // *J. Org. Chem.*– 2005.– V. 70, № 19.– P. 7496–7504.
24. Structure and total synthesis of (–)-myrionidine and (–)-schoberine, antimalarial alkaloids from *Myrioneuron nutans* / Pham V. C., Jossang A., Grellier P. [et al.] // *J. Org. Chem.*– 2008.– V. 73, № 19.– P. 7565–7573.
25. Synthetic antimalarials. Part XXIII. 2-Arylguanidino-4-aminoalkylaminopyrimidines. Further variations / Cliffe W. H., Curd F. H. S., Rose F. L. [et al.] // *J. Chem. Soc.*– 1948.– P. 574–581.
26. Synthetic antimalarials. Part III. Some derivatives of mono- and di-alkylpyrimidines / Hull R., Lovell B. J., Openshaw H. T. [et al.] // *J. Chem. Soc.*– 1946.– P. 357–362.
27. Curd F. H. S. Synthetic antimalarials. Part VII. 2-Arylamino-4-dialkylaminoalkylaminopyrimidines. Variation of substituents in 5- and the 6-position / Curd F. H. S., Richardson D. N., Rose F. L. // *J. Chem. Soc.*– 1946.– P. 378–384.
28. Synthesis and antimicrobial activity of novel 3-[(aminopyrimidin-2-yl)thio]methyl cephalosporins / Kim Y.-Z., Lim J.-C., Yeo J.-H. [et al.] // *J. Med. Chem.*– 1994.– V. 37, № 22.– P. 3828–3833.
29. Synthesis and antibacterial activities of novel C(7)-catechol-substituted cephalosporins (I) / Kim Y.-Z., Lim J.-C., Yeo J.-H. [et al.] // *J. Antibiot.*– 1996.– V. 49, № 5.– P. 496–498.
30. Synthesis and antibacterial activities of novel C(7)-catechol-substituted cephalosporins (II) / Kim Y.-Z., Lim J.-C., Yeo J.-H. [et al.] // *J. Antibiot.*– 1996.– V. 49, № 5.– P. 499–501.
31. Senda S. Pyrimidine derivatives and related compounds. XVIII. Studies in the synthesis and pharmacological activities of 2,4-dioxo-1,2,3,4,6,7-hexahydro-5H-cyclopenta [d]pyrimidine derivatives / Senda S., Hirota K., Maeno K. // *Chem. Pharm. Bull.*– 1973.– V. 21, № 9.– P. 1894–1900.
32. Badawey El-Sayed A. M. Nonsteroidal antiinflammatory agents – Part 1: antiinflammatory, analgesic and antipyretic activity of some new 1-(pyrimidin-2-yl)-3-pyrazolin-5-ones and 2-(pyrimidin-2-yl)-1,2,4,5,6,7-hexahydro-3H-indazol-3-ones / Badawey El-Sayed A. M., El-Ashmawey I. M. // *Eur. J. Med. Chem.*– 1998.– V. 33, № 5.– P. 349–361.

33. *El-Hawash Soad A. M.* Nonsteroidal antiinflammatory agents – part 2 antiinflammatory, analgesic and antipyretic activity of some substituted 3-pyrazolin-5-ones and 1,2,4,5,6,7 -3H -hexahydroindazol -3 -ones / *El-Hawash Soad A. M., Badawey El-Sayed A. M., El-Ashmawey I. M.* // *Eur. J. Med. Chem.*– 2006.– V. 41, № 2.– P. 155–165.
34. Пат. 3915976 США, МКИ С 07 D 51/46. Substituted -4-phenyl-5H-cycloalkano(d)pyrimidines: Пат. 3915976 США, МКИ С 07 D 51/46 / W. G. Salmond (США); Sandoz, Inc.– № 285672; Заявл. 01.09.1972; Опубл. 28.10.1975; НКИ 260/251 А.– 5 с.
35. Пат. 3594378 США, МКИ С 07 D 51/46. Thiazolopyrimidine derivatives and preparation thereof: Пат. 3594378 США, МКИ С 07 D 51/46 / R. Laliberte (Канада); Ayerst McKenna and Harrison LTD.– № 869322; Заявл. 24.10.1969; Опубл. 20.07.1971; НКИ 260/251.– 3 с.
36. Пат. 3322759 США. Bicyclic diaza compounds: Пат. 3322759 США / R. W. J. Carney (США), М. Hill (США), Н. М. Blatter (Швейцария), G. D. Stevens (США); Ciba Geigy Corp.– № 531079; Заявл. 02.03.1966; Опубл. 30.05.1967; НКИ 260/247.5.– 6 с.
37. Пат. 3346452 США. 5,6-Lower alkylene-pyrimidines: Пат. 3346452 США / R. W. J. Carney (США), М. Hill (США), Н. М. Blatter (США), G. D. Stevens (США); Ciba Corp.– № 303163; Заявл. 19.09.1963; Опубл. 10.10.1967.– 8 с.
38. Пат. 4220771 США, МКИ С 07 D 487/14. 2,3 -Polymethylene-4-oxo-4H-pyrido [1,2-a]pyrimidines: Пат. 4220771 США, МКИ С 07 D 487/14 / I. Hermecz (Угорщина), F. Fulop (Угорщина), Z. Meszaros (Угорщина), G. Bernath (Угорщина), J. Knoll (Угорщина); Chinoi Gyogyszer es Vegyeszeti Termekek Gyara Rt.– № 935071; Заявл. 18.08.1978; Опубл. 02.09.1980.– 14 с.
39. Synthesis and SAR of a new series of COX-2 selective inhibitors: pyrazolo [1,5-a]pyrimidines / Almansa C., Arriba A. F., Cavalcanti F. L. [et al.] // *J. Med. Chem.*– 2001.– V. 44, № 3.– P. 350–361.
40. Effects of RS –2232, a potential antidepressant, on the levels of monoamines, precursor amino acids and their related metabolites in mouse brain / Yokoyama T., Kamioka T., Iwata N. [et al.] // *Jpn. J. Pharmacol.*– 1987.– V. 44, № 4.– P. 413–420.
41. Yokoyama T. RS-2232, a compound with a reversible and specific type –A monoamine oxidase inhibiting property in mouse brain / Yokoyama T., Iwata N., Kobayashi T. // *Jpn. J. Pharmacol.*– 1987.– V. 44, № 4.– P. 421–427.
42. Kumagai Y. Deamination of norepinephrine, dopamine, and serotonin by type A monoamine oxidase in discrete regions of the rat brain and inhibition by RS –8359 / Kumagai Y., Matsui Y., Iwata N. // *Jpn. J. Pharmacol.*– 1991.– V. 55, № 1.– P. 121–128.
43. Kozuka M. Effects of RS -8359 on reduced local cerebral glucose utilization in the rat subjected to transient forebrain ischemia / Kozuka M., Kobayashi K., Iwata N. // *Jpn. J. Pharmacol.*– 1994.– V. 64, № 4.– P. 257–264.
44. Inhibitory effects of water-soluble polymers on precipitation of RS -8359 / Usui F., Maeda K., Kusai A. [et al.] // *Int. J. Pharm.*– 1997.– V. 154, № 1.– P. 59–66.
45. Dissolution improvement of RS-8359 by the solid dispersion prepared by the solvent method / Usui F., Maeda K., Kusai A. [et al.] // *Int. J. Pharm.*– 1998.– V. 170, № 2.– P. 247–256.
46. Stereoselective pharmacokinetics of RS-8359, a selective and reversible inhibitor of A-type monoamine oxidase, in rats, mice, dogs, and monkeys / Takasaki W., Yamamura M., Shigehara E. [et al.] // *Biol. Pharm. Bull.*– 1999.– V. 22, № 5.– P. 498–503.
47. Stereoselective pharmacokinetics of RS-8359, a selective and reversible MAO – A inhibitor, by species-dependent drug – metabolizing enzymes / Takasaki W., Yamamura M., Nozaki A. [et al.] // *Chirality.*– 2005.– V. 17, № 3.– P. 135–141.
48. Enantioselective 2-hydroxylation of RS-8359, a selective and reversible MAO-A inhibitor, by cytochrome P450 in mouse and rat liver microsomes / Itoh K., Nishiya Y., Takasaki W. [et al.] // *Chirality.*– 2006.– V. 18, № 8.– P. 592–598.
49. Syntheses of monocyclic and bicyclic 2,4-(1H,3H)-pyrimidinediones and their serotonin 2 antagonist activities / Watanabe Y., Usui H., Shibano T. [et al.] // *Chem. Pharm. Bull.*– 1990.– V. 38, № 10.– P. 2726–2732.
50. Anxiolytic properties of certain annelated [1,2,4]triazolo [1,5-c]pyrimidin -5(6H)-ones / Francis J. E., Bennett D. A., Hyun J. L. [et al.] // *J. Med. Chem.*– 1991.– V. 34, № 9.– P. 2899–2906.
51. (Imidazo [1,2-a]pyrimidin-2-yl)phenylmethanones and related compounds as potential non-sedative anxiolytics / Clements-Jewery S., Danswan G., Gardner C. R. [et al.] // *J. Med. Chem.*– 1988.– V. 31, № 6.– P. 1220–1226.
52. Synthesis and sedative-hypnotic effects of N3-allyl- and N1-allyl-5,6-substituted 2-thiouracil derivatives in mice / Dramiński M., Turski K., Tateoka Y. [et al.] // *Chem. Pharm. Bull.*– 1998.– V. 46, № 9.– P. 1370–1373.
53. Synthesis and antitumor activities of novel 6 –5 fused ring heterocycle antifolates: N-[4-[ω-(2-amino-4-substituted-6,7-dihydrocyclopenta [d]pyrimidin-5-yl)alkyl]benzoyl]-L-glutamic acids / Kotake Y., Iijima A., Yoshimatsu K. [et al.] // *J. Med. Chem.*– 1994.– V. 37, № 11.– P. 1616–1624.
54. Novel 6,5-fused ring heterocyclic antifolates: biochemical and biological characterization / McGuire J. J., Bergoltz V. V., Heitzman K. J. [et al.] // *Cancer Res.*– 1994.– V. 54, № 10.– P. 2673–2679.
55. Novel 6-5-fused ring heterocycle antifolates with potent antitumor activity: bridge modifications and benzoyl isomers of 2,4-diamino-6,7-dihydro-5H-cyclopenta [d]pyrimidine antifolate / Kotake Y., Okauchi T., Iijima A. [et al.] // *Chem. Pharm. Bull.*– 1995.– V. 43, № 5.– P. 829–841.

56. Rosowsky A. 2,4-Diamino-6,7-dihydro-5H-cyclopenta [d]pyrimidine analogues of trimethoprim as inhibitors of *Pneumocystis carinii* and *Toxoplasma gondii* dihydrofolate reductase / Rosowsky A., Papoulis A. T., Queener S. F. // J. Med. Chem.– 1998.– V. 41, № 6.– P. 913–918.
57. Efficacies of Lipophilic Inhibitors of dihydrofolate reductase against parasitic protozoa / Lau H., Ferlan J. T., Brophy V. H. [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother.– 2001.– V. 45, № 1.– P. 187–195.
58. Pyrimidine derivatives. VI. Synthesis of 2-(1-piperazinyl)-5,6-polymethylenepyrimidine derivatives and determination of their hypoglycemic activity / Sekiya T., Hiranuma H., Kanayama T. [et al.] // Chem. Pharm. Bull.– 1983.– V. 31, № 7.– P. 2254–2261.
59. Design, new synthesis, and calcilytic activity of substituted 3H -pyrimidin -4 -ones / Shcherbakova I., Huang G., Geoffroy O. J. [et al.] // Bioorg. Med. Chem. Lett.– 2005.– V. 15, № 10.– P. 2537–2540.
60. Nitrogen bridgehead compounds. 66. Bronchodilator nitrogen bridgehead compounds with a pyrimidinone moiety / Hermecz I., Vasvari-Debreczy L., Horvath A. [et al.] // J. Med. Chem.– 1987.– V. 30, № 9.– P. 1543–1549.
61. Studies on antiulcer agents. IV. Antiulcer effects of 2-Benzylthio-5,6,7,8-tetrahydro-4(3H)-quinazolinones and compounds / Terashima K., Shimamura H., Kawase A. [et al.] // Chem. Pharm. Bull.– 1995.– V. 43, № 11.– P. 2021–2023.
62. 4-Phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, an excellent fragment to improve the potency of PARP-1 inhibitors / Ishida J., Hattori K., Yamamoto H. [et al.] // Bioorg. Med. Chem. Lett.– 2005.– V. 15, № 19.– P. 4221–4225.
63. Characterization of the 1H-cyclopentapyrimidine-2,4(1H,3H)-dione derivative (S)-CPW399 as a novel, potent, and subtype-selective AMPA receptor full agonist with partial desensitization properties / Campiani G., Morelli E., Nacci V. [et al.] // J. Med. Chem.– 2001.– V. 44, № 26.– P. 4501–4504.
64. The identification of clinical candidate SB-480848: a potent inhibitor of lipoprotein-associated phospholipase A2 / Blackie J. A., Bloomer J. C., Brown M. J. B. [et al.] // Bioorg. Med. Chem. Lett.– 2003.– V. 13, № 6.– P. 1067–1070.

Ю. Н. Кононевич, Л. С. Бобкова, А. М. Демченко

Фармакологическая активность 5,6-циклоалкил-пиримидинов – перспективного класса биологически активных соединений

В обзорной статье представлены основные сведения о фармакологической активности производных 5,6-циклоалкилпиримидинов, которые являются перспективным классом биологически активных соединений для поиска новых высокоэффективных лекарственных средств.

Ключевые слова: 5,6-циклоалкилпиримидины, фармакологическая активность

Yu. M. Kononevich, L. S. Bobkova, A. M. Demchenko

Pharmacological activity of 5,6-cycloalkylpyrimidines – promising class of biologically active compounds

In the review article the basic information about pharmacological activity of 5,6-cycloalkylpyrimidines, a promising class of biologically active compounds for the search of new highly efficient drugs, is shown.

Key words: 5,6-cycloalkylpyrimidines, pharmacological activity

Надійшла: 16.10.2012 р.

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

С. М. Дроговоз, А. В. Кононенко

Біоритми нервової діяльності та фармакологічна корекція їхніх порушень

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: біоритми, центральна нервова система, хронофармакологія

Провідну роль у координації циклічних процесів в організмі відіграють циркадні (добові) коливання функціональної активності нервової системи. Добові коливання тону вегетативної нервової системи (ВНС) тісно пов'язані із циклом світло-темрява й сон-неспанья відповідно. Тонус симпатичної частини ВНС переважає в період денної активності, парасимпатичної – під час нічного сну [1].

Біоритми цих систем формуються під впливом взаємодій між провідними ритмоводями в організмі – епіфізом, у якому продукується мелатонін, та іншими структурами центральної нервової системи, яка є основним генератором ендогенних циркадних ритмів. Крім епіфіза, синтез мелатоніну здійснюється також сітківкою, циліарним тілом ока й органами шлунково-кишкового тракту. Епіфізом продукується близько 80 % мелатоніну. Цей процес носить циркадний характер: світло пригнічує продукцію й секрецію мелатоніну, тому його максимальний рівень в епіфізі й крові спостерігається в нічні години, а потім прогресивно знижується, досягаючи мінімуму в ранкові години. Пік секреції мелатоніну досягає максимуму між 24 і 4 годинами, але в денний час продукція мелатоніну залишається низькою [2].

Місяць сприяє виробленню мелатоніну та серотоніну – речовин, що регулюють психіку. Найсильніший вплив Місяця на психіку в новий і повний Місяць та період затемнення. Штучне світло порушує дію біологічного годинника, зменшує рівень мелатоніну, який бере участь у регуляції процесів сну та бадьорості [3].

Зміни рівня та ритму секреції мелатоніну було виявлено при різних фізіо-

логічних і патологічних станах: при зменшенні в харчовому раціоні продуктів, що містять триптофан, у пацієнтів з інсомнією, головними болями, депресією, ІХС, діабетичною полінейропатією, ревматоїдним артритом, порфірією, цирозом печінки, онкологічними захворюваннями, хворобою Альцгеймера та хворобою Піка.

Таким чином, мелатонін має унікальні адаптивні можливості: порушення його продукції та ритму є пусковим моментом, що призводить на початкових етапах до виникнення десинхронозу (порушення біоритмів), та згодом – органічної патології [4].

Річні (сезонні) ритми властиві всім фізіологічним і психічним функціям. Психічна та м'язова збудливість у людей вище навесні та на початку літа, узимку вона значно нижча. У щорічному ритмі змінюється працездатність людини – восени вона найбільша. Це пов'язане з тим, що навесні-влітку посилюється, а восени зменшується секреція адреналіну, норадреналіну, гістаміну, серотоніну, інсуліну, кортизолу, гастрину, активність холінестерази [1]. Останніми роками виявлено, що єдиною причиною сезонних десинхронозів сну є порушення біоритмів продукції мелатоніну в результаті неповноцінної функції епіфіза.

Дезорганізація біологічних ритмів нервової системи патогенетично пов'язана з виникненням тривожного стану та невротичних розладів, які можна звести до наступних етапів. По-перше, обов'язкове поєднання психопатології з порушенням біоритмів різного періоду, перш за все, базального циклу – сон-неспанья (у вигляді інсомнії): зміна структури сну (кількості, тривалості та латентності фаз). По-друге, початкова дизритмія створює

передумови для виникнення неврозу й порушень добової періодичності психофізіологічних показників [2].

Хронобіологічний дефект може сформуватися при порушенні функції ритмоорганізуючих утворень мозку. Зокрема, локальні пошкодження супрахіазматичних ядер (СХЯ) гіпоталамуса разом з дезорганізацією циркадного ритму сприяють підвищенню тривожності та зниженню стійкості до стресу.

Отже, первісний хронобіологічний дефект може бути джерелом порушень в емоційній та вегетативній сферах і сприяє зростанню чутливості до стресів.

Як внутрішній, так і зовнішній десинхроноз можуть самі по собі бути причинами різних патологічних станів. Руйнування психофізіологічної ієрархії ритмів призводить до виникнення синдрому «неадаптованості» до змінної роботи, до якої схильні не тільки змінні робочі, але менеджери, політики, підприємці та ін. Провідними симптомами «неадаптованості» до змінної роботи є хронічні порушення сну, хронічна втома в денний час та при фізичній та психічній роботі. Останні є причиною порушення пам'яті, сприйняття, уваги, процесів навчання.

Клінічну картину психічної патології супроводжують зміни в нормальній періодичності вегетативних і ендокринних показників. Так, у багатьох пацієнтів при депресії виявлено порушення в циркадному ритмі екскреції електролітів, температури тіла, частоти серцевих скорочень. При цьому акрофази (максимальні показники) цих параметрів нерідко зсунуті на одну або кілька годин вперед порівняно з акрофазами здорових осіб. Прикладом цьому є тяжке пробудження хворих та вираженість депресивного афекту в ранкові години з поступовим поліпшенням самопочуття до вечора, іноді до повного або майже повного вирівнювання настрою [5].

Порушення циркадних ритмів можуть стосуватися й обміну нейромедіаторів, участь яких у патогенезі депресивних розладів безсумнівна. Так, якщо в нормі максимум екскреції із сечею метаболіту норадреналіну 3-метокси-4-оксифенілгліколю припа-

дає на вечірні години, то у хворих на біополярну депресію є тенденція до зрушення його піка на більш ранні години. У таких хворих сильніше, ніж у здорових, коливається рівень плазмового триптофану, а також уміст серотоніну в тромбоцитах [6].

Сезонний характер депресії та залежність її від факторів навколишнього середовища – це результат поломки ритмів адаптаційних систем організму, що забезпечують його пристосування до навколишнього середовища.

Сезонні афективні розлади (САР) характеризуються щорічним періодичним формуванням депресивних розладів у зимовий час і гіпоманії у весняно-літній період. Для пояснення генезу даної патології запропоновано дві точки зору. Відповідно до мелатонінової гіпотези, джерелом САР є неадекватна гіперактивність епіфіза, що виникає в зв'язку зі скороченням світлового періоду, підвищенням секреції мелатоніну та призводить до посилення його пригнічувальної та психодепресивної дії на мозок. Інше пояснення генезу САР базується на тому, що зимова депресія розвивається тоді, коли фази деяких циркадних ритмів виявляються аномально затриманими через пізній світанок [7].

Ритмічна природа нервової діяльності та залежність її порушень від циркадної дизритмії дозволяють припустити зв'язок терапевтичних властивостей фармакокоректорів захворювань нервової системи з хронобіологічними дефектами. Отримані останнім часом докази хронофармакологічного ефекту нейротропних ліків та їхня роль в обмеженні дизритмії дають підставу серйозно розглядати перспективу терапії розладів нервової системи з нових хронофармакологічних позицій. Препарати даної фармакологічної групи, змінюючи дезорганізований ритм нервової системи, сприяють корекції нервових порушень, обумовлених несприятливими, дестабілізуючими впливами [8].

Хронотропна активність ліків, що впливають на нервову систему, визначається зміною метаболічних процесів у неокортексі та/або синаптичної передачі в корі та підкоркових структурах.

Анксиолітики різних фармакологічних груп усувають обумовлену стресом дезорганізацію цілодобових ритмів рухової активності тварин. Механізмом хронотропних властивостей анксиолітиків є модуляція ритмогенної ролі гіпокампа. Так, противотривожний ефект збігається з ослабленням дизритмії та формуванням цілодобового високоамплітудного ритму [3].

Центральні стимулятори фенамін, метамфетамін, кокаїн при регулярному використанні здатні дезорганізувати циркадні ритми різних фізіологічних показників. Відомий вплив фенаміно-подібних засобів на рухову сферу: посилення даної активності (зазвичай зниженої у світовий період доби) і почастішання спонтанних рухів у ранкові та денні години [9]. Під дією фенаміно-подібних препаратів відбувається дезорганізація ритмів частоти серцевих скорочень і температури тіла.

Психостимулятор кофеїн при регулярних ін'єкціях призводить до перебудови циркадних коливань фізіологічних функцій: змінюється амплітуда, мезор, акрофаза ритмів не тільки руховості, але і серцевої діяльності, температурної реакції. Кофеїн здатний прискорювати «рух» біологічного годинника, безпосередньо стимулюючи клітини основної пейсмейкерної структури – СХЯ гіпоталамуса. Протягом дня психостимулююча активність кофеїну проявляється неоднаково: успішніше покращує короточасну пам'ять увечері, коли наростає природне стомлення, ніж уранці. Участь кофеїну в циркадному періодизмі виявляється в зміні основних параметрів нічного сну. У зв'язку із цим інсомнічні властивості кофеїну знаходять практичне застосування. Так, відомо, що деякі види змінної або тривалої роботи вимагають високого рівня бадьорості. Нещодавно створений препарат кофеїну пролонгованої дії здатний обмежувати і підтримувати якісну бадьорість і пізнавальні функції на тривалий (до 64 год) період. Лікарська інсомнія може використовуватися в боротьбі із симптомами широтного десинхронозу [10].

Належність людей до раннього («жайворонки») або пізнього («сови») хронотипу позначається на чутливості до психостимуляторів. Регулярні вечірні ін'єкції кофеїну в «жайворонків» викликають збільшення амплітуди ритму, слабо змінюючи положення акрофази, тоді як у «сов» акрофаза більш різко мігрує. Отже, особи вечірнього типу із затримкою настання сну й пізнім пробудженням відрізняються більш високою потребою як у сні, так і в кофеїні, і порівняно з «жайворонками» вони сильніше реагують на психостимулятори, що активують функцію мозку та подовжують період бадьорості з одночасним скороченням тривалості сну. У даній дії кофеїну та інших ксантинів переважає ефект, пов'язаний з активацією енергетичного обміну кортикальних нейронів [8].

Акрофаза середньодобового часу плавання щурів після введення фенаміну припадає на 21 год, тоді як у період з 9 по 15 год відзначено різке зниження здатності до плавання. Смертність від токсичних доз фенаміну виявлена в період максимального бадьорості (3 год), прогресивно знижуючись у ранкові й денні години [1].

Використання фенаміну та інших дофаміноміметиків о 24–2 год викликає більш сильну стереотипію, ніж у денні години. Аналогічно характеризується апоморфінова стереотипія – максимум у темний час доби, мінімум у 14 год, а також екскреція фенаміну протягом добового циклу: мінімум його виділення – вдень і максимум уночі. На швидкість екскреції фенаміну впливає рН сечі: з її ростом у денні години відзначається найбільша затримка фенаміну в організмі, що зумовлює його активність і токсичність [7].

Уведення трициклічних антидепресантів одноразово опівночі забезпечує більш швидкий і надійний результат, на відміну від прийому їх в інший час дня, або дрібно протягом доби [6].

У «сов» гліцин краще знижує тривожність наприкінці дня, коли вона виражена особливо, а процеси запам'ятовування гліцин полегшує вранці на тлі зниження пам'яті. Особи ранкового хронотипу («жайворонки»), навпаки, сильніше реагують на прийом гліцину на початку дня. Протитривожна

та мнестична дія гліцину пов'язана з його здатністю мобілізувати ГАМК- і глутамінергічні рецептори, а ритморганізуючі структури мозку (СХЯ гіпоталамусу, епіфіз) теж мають подібні рецептори [3].

Сила й інтенсивність дії адаптогенів теж залежать від часу прийому. Застосування в комбутології в ранкові години елеутерококу, солодки та їхнього поєднання викликає у хворих швидку терапевтичну динаміку стану опікової рани і суб'єктивне поліпшення загального стану, скорочуючи терміни перебування хворих у стаціонарі на відміну від традиційної терапії на 6–9 діб. Отже, ранозагоювальний ефект адаптогенів визначається не тільки місцевою дією, але коригуючим впливом на біоритми життєзабезпечення [8].

Призначення фітоадаптогенів з урахуванням їхніх хронотерапевтичних властивостей підвищує адаптаційні можливості системи гемостазу як за рахунок нормалізації складових ритмів, так і за рахунок ритмів сигналів управління: відновлюється число достовірних ритмів і збільшується в них частка циркадних частот, збільшуються мезор і амплітуди ритмів адаптивних регулюючих гормонів (кортизолу) [5].

Дані результати підтверджують, що фітоадаптогени є перспективними фармакологічними засобами захисту від патологічних десинхронозів і станів, при яких порушення біоритмів гемостазу є патогенетичною ланкою хвороби [10]. При післяобідньому прийомі фітоадаптогени діють однонаправлено на ритми клітинних компонентів системи гемостазу: збільшуючи значення мезор і амплітуд циркадних ритмів (лейкоцитів і тромбоцитів, АКТГ і

кортизолу, зрушуючи акрофази до початку доби для АКТГ на 2–3 год і для кортизолу – на 6–12 год).

Встановлено, що адаптогени (елеутерокок, женьшень, гліцирам) найефективніші в першій половині дня, імуностимулятори, мембраностабілізуючі препарати та біопрепарати (біфідум-і лактобактерин) – увечері. Тому адаптогени з метою посилення утворення глюкокортикоїдів корою наднирників рекомендується призначати в першій половині дня (особливо вранці), вітамін В₆ – тільки вранці [2, 10, 11].

Встановлено сезонні особливості дії адаптогенів. Адаптогенна дія елеутерококу, женьшеню, біоженьшеню, родіоли рожевої, аралії у тварин і у хворих людей із неврологічною патологією найбільша в січні-березні, а в літню пору ця дія значно знижується [1, 2].

Висновки

Біологічні ритми функціональної активності нервової системи відіграють провідну роль у координації циклічних процесів в організмі. Мелатонін має унікальні адаптивні можливості, а порушення його продукції призводить до виникнення десинхронозу, а згодом – органічної патології.

Проведений аналіз джерел літератури з хронотерапії дає підґрунтя розглядати перспективу лікування розладів нервової системи нейротропними препаратами з позицій хронофармакології. Нейротропні препарати за рахунок нормалізації дезорганізованого ритму нервової системи сприяють корекції нервових порушень, а використання їх у хронофармакологічному режимі дає можливість підвищити ефективність і безпеку лікарських засобів.

1. Арушанян Э. Б. Хронофармакология / Э. Б. Арушанян. – Ставрополь, 2000. – 565 с.
2. Арушанян Э. Б. Хронобиологические особенности мнестического и противотревожного действия глицина у молодых людей / Э. Б. Арушанян, Е. В. Сафошкина, А. А. Хрипунова. – 2005.
3. Хильдебрандт Г. Хронобиология и хрономедицина / Г. Хильдебрандт, М. Мозер, М. Лехофер: пер. с нем. – М.: Арнебия, 2006 – 144 с.
4. Арушанян Э. Б. Хронобиологические особенности невротических расстройств и анксиолитического эффекта психотропных средств / Э. Б. Арушанян // Рос. психиатр. журн. – 2000. – № 1. – С. 26–32.
5. Руководство: Под. ред. С. И. Рапопорта, В. А. Фролова, Л. Г. Хетагуровой. – М.: Информационное агентство, 2012. – 480 с.
6. Арушанян Э. Б. Роль суточного периодизма в действии психомоторных стимуляторов / Э. Б. Арушанян // Экспер. и клин. фармакол. – 2004. – № 1. – С. 54–60.

-
7. Комаров Ф. И. Хронобиология и хрономедицина / Ф. И. Комаров, С. И. Рапопорт.– М.: Триада-Х, 2000.– 488 с.
 8. Хронопатология. Экспериментальные и клинические аспекты / Л. Г. Хетагурова, К. Д. Салбиев, С. Д. Беляев [и др.].– М.: Наука, 2004.
 9. Аведисова А. С. Атипичная депрессия как модель для изучения ритмологических процессов / Аведисова А. С. // Журнал неврологии и психиатрии.– 2009.– Т. 109, № 12.– С. 93–99.
 10. Хетагурова Л. Г. Хронопатология: экспериментальные и клинические аспекты / Л. Г. Хетагурова.– М.: Наука–М, 2004.– 355 с.
 11. Арушанян Э. Б. Хронобиологическая природа нарушений познавательной деятельности мозга / Арушанян Э. Б. // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова.– 2005.– № 11.– С. 73–78.

С. М. Дрогвоз, А. В. Кононенко

Биоритмы нервной деятельности и фармакологическая коррекция их нарушений

Биологические ритмы нервной системы играют ведущую роль в координации циклических процессов в организме. Нарушение биологических ритмов приводит к возникновению десинхроноза, вслед за которым возникает органическая патология. Анализ источников литературы по хронотерапии дает основание рассматривать перспективу фармакотерапии расстройств нервной системы нейротропными препаратами с позиций хронофармакологии.

Ключевые слова: биоритмы, центральная нервная система, хронофармакология

S. M. Drogozov, A. V. Kononenko

The nervous activity biorhythms and pharmacological correction of their disorders

The nervous system biological rhythms play a major role in coordination of cyclic processes in the body. Biological rhythms disorders lead to desynchronosis and then to organic pathology. Literature date base on chronotherapy allows to consider that the pharmacotherapy of nervous system's disorders is prospective by neurotropic drugs taking into consideration of chronopharmacology.

Keywords: biorhythms, central nervous system, chronopharmacology

Надійшла: 14.12.2012 р.

Контактна особа: Дрогвоз Світлана Мефодіївна, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології, Національний фармацевтичний університет, буд. 12, вул. Мельникова, м. Харків, 61002. Тел. /факс: +38 (057) 706 30 69. Електронна пошта: DrogozovSM@mail.ru

Н. О. Семененко¹, Г. І. Степанюк¹, О. А. Ходаківський¹,
І. Л. Черешнюк¹, А. І. Семененко¹,
О. Ю. Воскобойнік², С. І. Коваленко²

Вплив похідного (3-R-2-оксо-2H- [1,2,4]тріазино [2,3-С] хіназолін-6-іл) карбонових кислот (сполуки DSK-38) на інтенсивність нейродеструктивних змін при експериментальному порушенні мозкового кровообігу

¹Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова

²Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: гостре порушення мозкового кровообігу, похідне (3-R-2-оксо-2H-[1,2,4]тріазино [2,3-с] хіназолін-6-іл) карбонових кислот, цитиколін, нейроапоптоз

З позицій доказової медицини, реваскуляризація інфаркт-залежної судини в пацієнтів із гострим порушенням мозкового кровообігу (ГПМК) за ішемічним типом нині є найефективнішим лікувальним заходом, який дозволяє суттєво зменшити летальність хворих з церебральним інсультом [5, 10]. Терапевтичну реперфузію за допомогою селективних тромболітиків – рекомбінантного тканинного активатора плазміногена (rt-PA) (актилізе, альтеплаза) вважають золотим стандартом нейрореаніматологічного забезпечення постраждалих із гострим артеріальним тромбозом [15, 16, 19]. Рання діагностика ішемічного інсульту дає можливість розпочати фібринолітичну терапію вже з першої години з моменту розвитку судинно-мозкової катастрофи, що суттєво покращує неврологічний прогноз для таких пацієнтів. Однак, слід зважати на те, що тромболізис має певні абсолютні протипокази, що обмежують його застосування в клініці.

Нажаль, більше ніж у 10 % хворих після відновлення прохідності затромбованої артерії формується синдром невідновленого кровообігу «no-reflow» або виникають постреперфузійні пошкодження нейронів [12]. Повна від-

сутність кровопостачання в ішемічному осередку за рахунок блокади синтезу АТФ супроводжується значним енергодефіцитом, що зумовлює переважно некротичний тип загибелі нейронів, який на відміну від апоптотичного шляху є енергонезалежним процесом, і для його ініціації не потрібна АТФ. Реперфузія інфаркт-залежної судини призводить до повного або часткового відновлення кровопостачання, що дозволяє підтримувати синтез АТФ на мінімальному рівні, достатньому для реалізації процесів апоптозу. Як свідчать дані літератури [4, 13, 20], такі умови, поряд із розвитком оксидативного стресу, є підґрунтям до формування мітохондріальної пори, через яку в цитоплазму із мітохондрій виходить ціла низка апоптогенних факторів, зокрема цитохром с. При синхронному зниженні кількості антиапоптотичних факторів, наприклад, таких як антиапоптотичний білок bcl-2, відбувається ініціація механізмів запрограмованої клітинної смерті (нейроапоптоз).

Однозначну думку науковців щодо величини внеску кожного різновиду клітинної смерті в загальну масу ушкодженої нервової тканини сьогодні ще не сформовано [3, 14]. Однак достатньо фактів указує на те, що безпосередньо в зоні ішемії нейрони гинуть переважно за некротичним шляхом, а в ділянці ішемічної напівтіні (за рахунок функціонування колатералей) – шляхом апоптозу [17, 18].

Беручи до уваги складність методик та швидку елімінацію апоптотичних клітин, оцінити сумарну їхню кількість в осередку ішемії є досить складним завданням [2, 17]. Проте з'ясування питання, чи має той, чи інший церебропротектор модулюючий вплив на процеси нейроапоптозу, має важливе практичне значення для розробки нових методів патогенетичної терапії ГПМК, оскільки регенераторний потенціал нейронів значно обмежений, і загибель навіть їхньої незначної кількості призводить до розвитку вираженого та тривалого неврологічного дефіциту, погіршення когнітивно-мнестичних функцій, появи паралічів та парезів, і, насамкінець, – смерті [1].

Повне відновлення кровопостачання в інфаркт-залежній судині не завжди є можливим та не дає 100 % гарантії збереження морфофункціональної організації нервової тканини [10, 13, 21]. Альтернативним фармакотерапевтичним заходом у даному випадку є церебропротекторна терапія, що дозволяє подовжити період «терапевтичного вікна» та створює захист нейронів від подальшого пошкодження. Усе це спонукає до пошуку та розробки нових підходів до фармакотерапії ГПМК.

За результатами наших попередніх фармакологічних досліджень, похідному (3-R-2-оксо-2Н- [1,2,4]тріазино [2,3-с] хіназолін-6-іл) карбонових кислот, сполуці DSK-38, притаманні нейропротекторні властивості, на що вказувало суттєве зменшення показника летальності щурів із ГПМК на тлі профілактичного введення вказаної речовини. Подальше вивчення можливих механізмів захисної дії сполуки DSK-38 на ішемізований головний мозок показало, що церебропротекторний ефект, перш за все, зумовлений її здатністю покращувати церебральну гемодинаміку [6, 7].

Мета дослідження – на моделі експериментального ішемічного та постреперфузійного пошкодження головного мозку охарактеризувати вплив сполуки DSK-38 на перебіг процесів нейродеструкції.

Матеріали та методи. Першу частину роботи було присвячено вивченню процесів постреперфузійного нейроапоптозу. Досліди проведено на 60 білих щурах-

самцях масою 160–170 г. Вивчення модулюючого впливу досліджуваних речовин на процеси нейроапоптозу проводили на моделі ішемії-реперфузії, оскільки за цих умов досягається забезпечення кровопостачання ішемізованих ділянок головного мозку на мінімальному рівні, що дозволяє підтримувати синтез АТФ, яка необхідна для реалізації механізмів апоптозу. Експериментальну модель ішемії-реперфузії створювали шляхом накладання кліпс на обидві внутрішні сонні артерії (СА) терміном на 40 хв. Внутрішньочеревинне (в/ч) введення DSK-38 (10 мг/кг) в лікувальному режимі розпочинали через 1 год після відтворення ГПМК і продовжували кожні 8 год упродовж 72 год спостереження. Препаратом порівняння був цитиколін (250 мг/кг) за аналогічною схемою. Обидві речовини використовували в оптимальних церебропротекторних дозах, запозичених із літератури [7, 11]. Згідно з даними літератури, цитиколін за умов ГПМК здійснює модулюючий вплив на процеси нейроапоптозу, зокрема, гальмує індукцію гена раннього реагування c-fos, паралельно підвищуючи кількість антиапоптотичного білка bcl-2 [4]. Для оцінки рівня фрагментації ДНК у ядрах нейронів головного мозку одразу після декапітації через 72 год після моделювання вилучали лобні частки кори головного мозку щурів. Для нівелювання впливу хірургічної травми використовували групу псевдооперованих щурів. Моделювання церебральної ішемії та виведення тварин з експерименту проводили під пропофоловим наркозом (60 мг/кг в/ч).

Фрагментацію ДНК у ядрах нейронів лобних часток кори головного мозку щурів досліджували методом протокової цитометрії. Суспензії ядер отримували шляхом додавання до тканини спеціального розчину для дослідження ядерної ДНК CyStainDNA (Partec, Німеччина) відповідно до протоколу-інструкції виробника. Даний розчин дозволяє одночасно швидко екстрагувати ядра та мітити ядерну ДНК діаміднофеніліндолом (ДАПІ, DAPI), що входить до його складу. Ядерні суспензії біоптатів кори лобних часток головного мозку щурів готували одразу після забору матеріалу та промивки холод-

ним (4–8 °C) фосфатносолевим буфером рН 7,4 (Sigma, США), використовуючи спеціальні одноразові фільтри CellTrics 50 мкм (Partec, Німеччина).

Протоковий аналіз проводили на багатофункціональному науково-дослідному протоковому цитометрі «Partec PAS» (Partec, Німеччина) на базі НДЦ ВНМУ імені М. І. Пирогова. Для збудження флуоресценції ДАПІ використовували ультрафіолетову лампу. З кожного зразка ядерної суспензії проводили аналіз 10 тис. подій.

Розподіл ДНК у нейронах головного мозку тварин наведено на відповідних гістограмах з використанням лінійної шкали. Протоковий аналіз фрагментації ДНК (маркер нейроапоптозу) виконували за допомогою програмного забезпечення FloMax (Partec, Німеччина) шляхом виділення Sub-G1 ділянки фрагментації ДНК у відсотках (%) на ДНК-гістограмах.

Вплив речовин на інтенсивність нейродеструктивних змін у головному мозку вивчали на моделі незворотної каротидної оклюзії в котів, оскільки тільки за умов аноксії некротичні зміни превалюють над процесами апоптозу [4]. Експерименти виконано на 18 котах-самцях (2,6–5,0 кг). Сполуку DSK-38 (10 мг/кг) та вінпоцетин (5 мг/кг) в оптимальних терапевтичних дозах, запозичених із літератури [7, 9], вводили внутрішньовенно (в/в) тричі протягом доби. Перше введення здійснювали через 1 год після моделювання патології, тобто в межах терапевтичного вікна. Інтенсивність нейродеструктивних процесів некротичного походження визначали за активністю нейронспецифічної енолази (NSE), загальноновизнаної раннім

маркером руйнування мембранних структур нервових клітин, і збільшення її активності свідчить про наявність переважно некротичної загибелі нейронів [13]. NSE визначали в сироватці венозної крові імуноферментним методом із використанням стандартних наборів фірми DAI, USA. Активність NSE виражали в нг/мл [11]. Кров отримували шляхом пункції внутрішньої яремної вени на боці перев'язки СА. Збір матеріалу здійснювали двічі: перший раз для визначення початкових рівнів активності, потім через 24 год із моменту відтворення ГПМК.

Цифрові дані обробляли методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Ст'юдента, зміни показників уважали вірогідними при $P \leq 0,05$, підрахунок летальності тварин виконували методом Вілкоксона-Манна-Уїтні.

Результати та їх обговорення. Із даних, представлених у таблиці 1, видно, що в групі контрольних тварин (ГПМК без лікування) показник фрагментації ДНК в ядрах нейронів лобних часток кори головного мозку через 72 год після моделювання його постреперфузійного враження вірогідно підвищився в 2,3 разу, що, на нашу думку, може вказувати на процес інтенсивного формування вогнища пенумбри саме за рахунок нейронів, які перебувають у стані апоптотичної смерті (рис. 1 та 2).

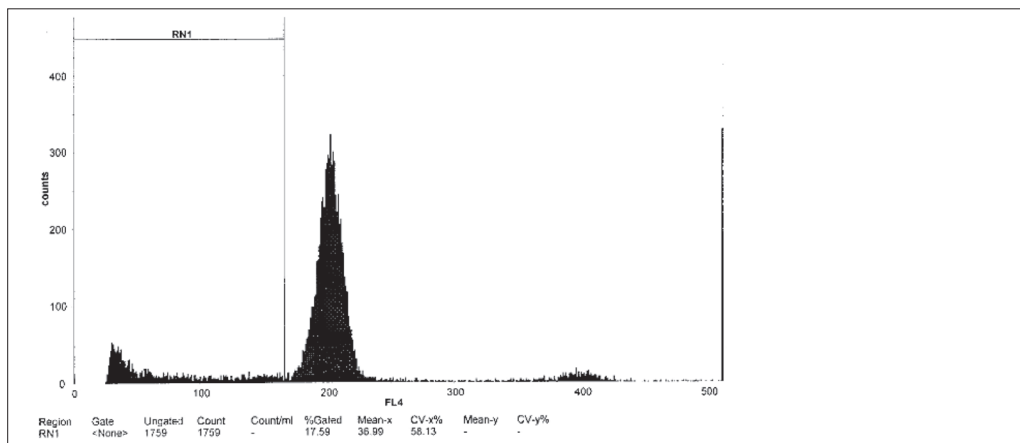
Поряд з активним формуванням ішемічної напівтіні навколо перфузованих ділянок головного мозку, у ядрі вогнища ішемії за аноксичних умов швидкими темпами відбувалися незворотні деструктивні зміни в нейрогістологічній комплектації нервової тканини. На користь такого твердження

Таблиця 1

Вплив курсового лікувального введення DSK-38 (10 мг/кг в/ч) та цитиколіну (250 мг/кг в/ч) на фрагментацію ДНК в ядрах нейронів лобних часток кори головного мозку та летальність щурів з гострим порушенням мозкового кровообігу ($M \pm m$, $n = 8$)

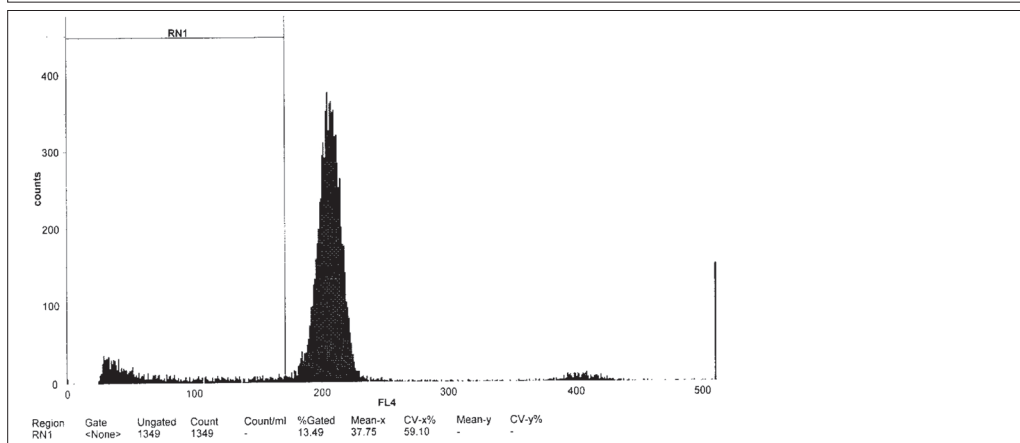
Умови досліджу	Фрагментація ДНК, %	Летальність тварин на 3-ю добу, %
Псевдооперовані тварини	$7,56 \pm 0,83$	0,0
ГПМК без лікування (контроль)	$17,12 \pm 0,63^*$	66,7*
ГПМК+ DSK-38	$13,24 \pm 0,74^{**}$	33,3* [^]
ГПМК+ цитиколін	$13,67 \pm 0,90^{**}$	50,0 ^{**}

Примітка. ГПМК – гостре порушення мозкового кровообігу; * $P \leq 0,05$ відносно псевдооперованих щурів; [^] $P \leq 0,05$ відносно контрольної патології; ^{**} $P \leq 0,05$ відносно цитиколіну.



(Sub-G1) – 8,94 %

Рис. 1. Гістограма фрагментації ДНК в ядрах клітин кори головного мозку псевдооперованого щура. Кількість подій 10000.



(Sub-G1) – 17,59 %

Рис. 2. Гістограма фрагментації ДНК в ядрах клітин кори головного мозку щура контрольної групи. Кількість подій 10000.

вказували результати визначення активності маркера порушення мембранної цілісності нейронів за умов субтотальної ішемії головного мозку в котів. Активність NSE у контрольній групі через 24 год після незворотної оклюзії загальної СА вірогідно підвищилася відносно вихідного рівня в середньому в 10,2 разу (табл. 2).

Отже, постреперфузійне пошкодження нервової тканини характеризується переважанням апоптотичної загибелі клітин, причому цей процес також має місце й при формуванні зони пенумбри. У свою чергу, некроз превалює в центральній, ядерній зоні інфаркту. Слід зауважити, що межа між обома зонами

є досить умовною, і обидва явища, безумовно, мають місце в обох випадках.

Експериментальна терапія ГПМК сполукою DSK-38 має модулюючий вплив на нейродеструктивні процеси як за умов незворотної каротидної оклюзії, так і у випадку реоксигенації. Так, при постреперфузійному ураженні головного мозку лікувальне курсове введення щурам із ГПМК DSK-38 так само, як і цитиколіну, сприяло зменшенню явища фрагментації ДНК у ядрах нейронів лобних часток кори головного мозку в середньому відповідно на 22,7 % та 20,2 % (рис. 3 та 4).

На нашу думку, зменшення фрагментації нейрональної ДНК може свід-

Активність нейроспецифічної енолази в котів з гострим порушенням мозкового кровообігу на тлі лікувального введення сполуки DSK-38 та вінпоцетину, нг/мл ($M \pm m, n = 8$)

Умови досліджу	Активність NSE одразу після моделювання ГПМК, нг/мл	Активність NSE через 24 год після моделювання ГПМК, нг/мл
ГПМК без лікування (контроль)	$0,680 \pm 0,031$	$6,923 \pm 0,312^*$
ГПМК+ DSK-38	$0,607 \pm 0,047$	$3,640 \pm 0,212^{* \#}$
ГПМК+ вінпоцетин	$0,612 \pm 0,023$	$4,393 \pm 0,325^{* \#}$

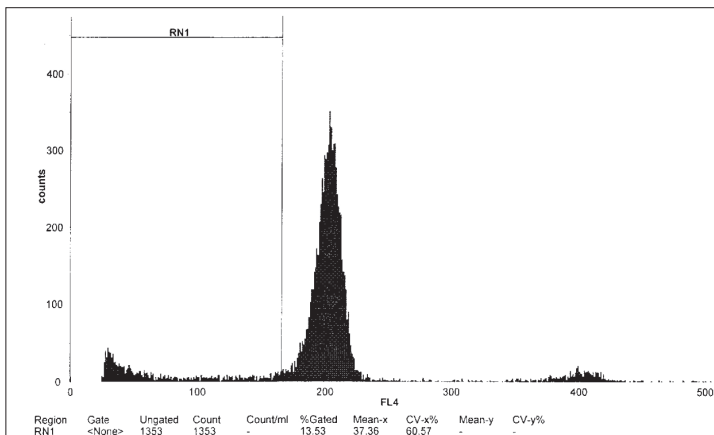
Примітки. ГПМК – гостре порушення мозкового кровообігу; $*P \leq 0,05$ відносно відповідного початкового рівня; $\#P \leq 0,05$ відносно контролю.

чити про редукцію зони пенумбри за рахунок збереження кількості функціонально активних нейронів.

Разом із тим, за умов незворотної субтотальної ішемії лікувальне введення досліджуваної речовини, подібно до

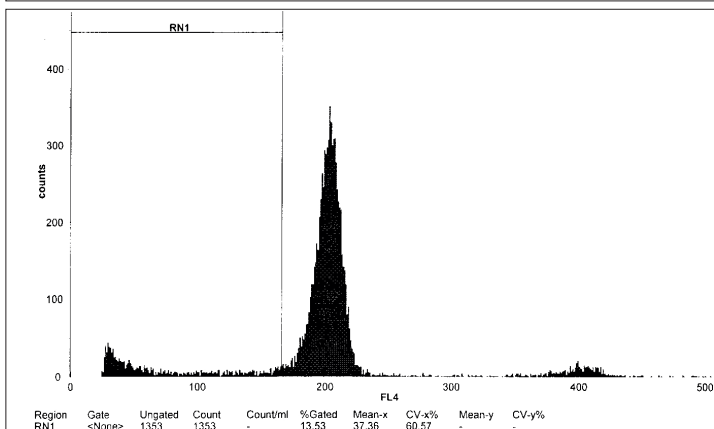
вінпоцетину, сприяло зменшенню рівня деструктивних процесів (активності NSE) у мембранах нейронів.

У кінці першої доби експериментальної терапії котів із ГПМК сполукою DSK-38 активність досліджуваного мар-



(Sub-G1) – 13,49 %

Рис. 3. Гістограма фрагментації ДНК в ядрах клітин кори головного мозку щура з ГПМК та лікуванням DSK-38 (10 мг/кг в/ч). Кількість подій 10000.



(Sub-G1) – 13,53 %

Рис. 4. Гістограма фрагментації ДНК в ядрах клітин кори головного мозку щура з ГПМК та лікуванням цитиколіном (250 мг/кг в/ч). Кількість подій 10000.

кера підвищилася відносно початкового рівня в середньому лише в 6 разів (проти 10,2 у контролі), а на тлі препарату порівняння в 7,2 разу (табл. 2), тобто за ефективністю в даному дослідженні сполука DSK-38 майже в 2 рази переважала вінпоцетин.

Таким чином, проведене дослідження показало, що за умов постреперфузійного ураження головного мозку та у випадку незворотної церебральної ішемії, лікувальне введення DSK-38 (10 мг/кг в/ч та в/в) так само, як і цитиколіну (250 мг/кг в/ч) або вінпоцетину (5 мг/кг в/в) призводить до зменшення апоптичних та некротичних змін у головному мозку. Про це свідчить суттєве зменшення відносно контрольної групи фрагментації ДНК в ядрах нейронів, а також зниження активності маркера нейрональної деструкції. Спроможність досліджуваного похідного (3-R-2-оксо-2Н-[1,2,4]тріазино [2,3-с] хіназолін-6-іл) карбонових кислот зменшувати відсоток нейронів, ДНК яких піддається фрагментації, може бути одним із механізмів його церебропротекторної дії. Слід зауважити, що за умов експерименту, маючи майже однакову антиапоптотичну активність, доза DSK-38 у 25 разів менша, ніж у референс-препарату цитиколіну, що є його безумовною перевагою в активності.

Інтегративним показником, що відображає наявність та величину церебропротекторного ефекту в тієї чи іншої сполуки, є летальність тварин з ГПМК. Лікування щурів з церебральним інсультом сполукою DSK-38 (10 мг/кг в/ч) подібно до цитиколіну (250 мг/кг в/о) сприяло зменшенню смертності щурів протягом перших 3-х діб реперфузійного синдрому (табл. 1) Так, показник летальності на тлі застосування DSK-38 та референс-препарату вірогідно зменшився відносно контролю і складав відповідно 33,3 та 50 %, при цьому, за ефективністю сполука DSK-38 вірогідно переважала цитиколін.

Зважаючи на виражені антиапоптотичні властивості сполуки DSK-38 за умов ГПМК, її можна віднести до первинного нейропротекторного засобу, який сприяє зменшенню ядра ішемічного вогнища та реактивного запалення за рахунок трансформації процесу

некрозу в запрограмовану клітинну загибель (апоптоз) і одночасно сприяє редукції зони пенумбри завдяки відновленню нормальної цитоархітектоніки нервової тканини в тих ділянках ішемізованої напівтіні, де нейрони зазнали умовнозворотних пошкоджень. Ці властивості роблять досліджуване похідне (3-R-2-оксо-2Н-[1,2,4]тріазино [2,3-с] хіназолін-6-іл) карбонових кислот перспективним для патогенетично спрямованого переривання ранніх механізмів клітинної смерті й у майбутньому – для застосування на перших етапах судинномозкової катастрофи, у тому числі, для профілактики постреперфузійного пошкодження головного мозку.

Цінною властивістю сполуки DSK-38 є наявність у неї центрального знеболюючого ефекту [9], який не зареєстровано в цитиколіну та вінпоцетину, що може бути ще однією перевагою похідного (3-R-2-оксо-2Н-[1,2,4]тріазино [2,3-с] хіназолін-6-іл) карбонових кислот перед указаними церебропротекторами.

Висновки

1. Курсове лікувальне введення похідного (3-R-2-оксо-2Н-[1,2,4]тріазино [2,3-с] хіназолін-6-іл) карбонових кислот, DSK-38 (10 мг/кг в/ч та в/в), так само, як і референс-препаратів цитиколіну (250 мг/кг в/о) та вінпоцетину (5 мг/кг в/в), призводить до зменшення нейродеструктивних процесів головного мозку щурів та котів з експериментальним ГПМК.
2. На моделі церебральної ішемії-реперфузії в щурів DSK-38 співставляється з цитиколіном за антиапоптотичною активністю, перевершуючи вдвічі референс-препарат за спроможністю знижувати показник летальності.
3. Лікувальне введення DSK-38, як і вінпоцетину, на тлі незворотної субтотальної ішемії головного мозку в наркотизованих котів супроводжується зростанням активності NSE відповідно в 6,0 та 7,2 разу (проти 10,2 разу в контролі) відносно фонового показника.

1. Волошин П. В. Аналіз поширеності та захворюваності на нервові хвороби в Україні / Волошин П. В., Міщенко Т. С., Лекомцева Є. В. // Міжнар. неврол. журнал. – 2006. – № 3 (7). – С. 9–13.
2. Залесский В. Н. Методы ранней диагностики апоптоза *in vitro, in vivo* для оценки хронических токсикантов / В. Н. Залесский, Н. В. Великая // Совр. пробл. токсикол. – 2006. – № 1. – С. 78–82.
3. Островая Т. В. Церебропротекция в аспекте доказательной медицины / Т. В. Островая, В. И. Черный // Медицина неотложных состояний. – 2007. – № 2 (9). – С. 48–52.
4. Рациональная нейропротекция / [Беленичев И. Ф., Черный В. И., Колесник Ю. М. и др.]. – Донецк: Изд. Дом Заславский, 2009. – 261 с.
5. Рекомендации по раннему лечению ишемического инсульта у взрослых (2007). Рекомендации Американской ассоциации сердца / Американской ассоциации инсульта (AHA/ASA) // Практична ангиологія. – 2008. – № 1/1. – С. 46–55.
6. Оцінка впливу похідних (3-R-2-оксо-2Н-[1,2,4]тріазино [2,3-с] хіназолін-6-іл) карбонових кислот (сполук DSK-38 та DSK-39) на церебральну гемодинаміку в умовах експериментального постреперфузійного ішемічного враження головного мозку / Н. О. Семененко, Г. І. Степанюк, Н. Г. Черноіван [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – № 3 (28). – С. 21–25.
7. Оцінка церебропротекторної дії похідних (3-R-2-оксо-2Н-[1,2,4]тріазино [2,3-с] хіназолін-6-іл) карбонових кислот на моделі гострого порушення мозкового кровообігу у щурів / Г. І. Степанюк, Н. О. Семененко, С. І. Коваленко [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – № 6 (25). – С. 22–26.
8. Вплив експериментальної терапії 4- [оксо-3(4Н)-хіназолін]бензойною кислотою (ПК-66) і вінпоцетином на мозкову гемодинаміку та активність нейродеструктивних процесів в головному мозку при його глобальній ішемії / Г. І. Степанюк, О. А. Ходаківський, О. Л. Церковнюк [та ін.] // Biomedical and biosocial anthropology. – 2009. – № 12. – С. 132–136.
9. Скринінг аналгетичної активності в ряду похідних (3-R-2-оксо-2Н-[1,2,4]тріазино [2,3-с] хіназолін-6-іл) карбонових кислот / Г. І. Степанюк, Н. Г. Черноіван, С. І. Коваленко [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – № 1 (20). – С. 52–55.
10. Трошин В. Д. Острые нарушения мозгового кровообращения: руководство / В. Д. Трошин, А. В. Густов. – [3-е изд., перераб. и доп.]. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2006. – 432 с.
11. Ходаківський О. А. Оцінка впливу експериментальної терапії адемолом на інтенсивність перебігу деструктивних змін в мембранах нейронів у монгольських піщанок в умовах гострої церебральної ішемії / О. А. Ходаківський // Вісник морфології. – 2011. – Т. 17, № 1. – С. 62–65.
12. Царенко С. В. Нейрореаниматология. Интенсивная терапия черепно-мозговой травмы / С. В. Царенко. – М.: Медицина, 2006. – 352 с.
13. Шведський В. В. Сучасна церебропротекторна терапія гострих порушень мозкового кровообігу при цукровому діабеті та шляхи її оптимізації / В. В. Шведський, С. Ю. Штриголь, О. А. Ходаківський // Клінічна фармація. – 2011. – Т. 15, № 2. – С. 7–12.
14. Bid-mediated mitochondrial pathway is critical to ischemic neuronal apoptosis and focal cerebral ischemia / X. M. Yin, Y. M. Luo, G. D. Cao [et al.] // J. Biol. Chem. – 2002. – V. 277. – P. 42074–42081.
15. Guidelines for the early management of patients with ischemic stroke: a scientific statement from the Stroke Council of the American Stroke Association / H. P. Adams, R. J. Adams, T. Brott [et al.] // Stroke. – 2008. – V. 34 (4). – P. 1056–1083.
16. Gzlonkowska A. Eligibility of stroke units in Poland for administration of intravenous thrombolysis / A. Gzlonkowska, I. Saizinska-Dlugosz, M. Niewada // Eur. J. Neurology. – 2006. – V. 13. – P. 220–224.
17. Neuroprotective effects of breviscapine against apoptosis induced by transient focal cerebral ischaemia in rats / L. Yiming, H. Wei, L. Aihua [et al.] // Pharmacy and Pharmacology. – 2008. – V. 60. – P. 349–355.
18. Tang Y. H. Effect of active fraction of buyang huanwu decoction on caspase expression in rats after focal cerebral ischemic reperfusion / Y. H. Tang, H. Li, B. Y. Chen // Chin. J. Integrated. Trad. Western. Med. – 2006. – № 26. – P. 533–537.
19. Micieli G. Safety and efficacy of alteplase in the treatment of acute ischemic stroke / G. Micieli, S. Marcheselli, P. A. Tosi // Vasc. Health Risk Manag. – 2009. – № 5. – P. 397–409.
20. Govan L. The prevention of complication may explain the survival benefit of organized (stroke unit) care: a secondary analysis of a systematic review / L. Govan, P. Langhorne, C. Weir // Cerebro-vasc. Dis. Abstracts 15th European Stroke Conference. – 2006. – V. 21. – P. 52.
21. Secades J. Citicoline: Pharmacological and Clinical Review, 2006 Update Methods Find Exp / J. Secades, J. Lorenzo // Clin Pharmacol. – 2006. – V. 27 (Suppl. B). – P. 52–56.

Н. О. Семененко, Г. И. Степанюк, О. А. Ходаковский, И. Л. Черешнюк, А. И. Семененко, О. Ю. Воскобойник, С. И. Коваленко

Влияние производного (3-R-2-оксо-2Н- [1,2,4]тріазино [2,3-С] хіназолін-6-іл) карбоновых кислот (соединения DSK-38) на интенсивность нейродеструктивных изменений при экспериментальном нарушении мозгового кровообращения

На двух моделях острого ишемического нарушения мозгового кровообращения (40-мин билатеральная окклюзия внутренних сонных артерий с последующей реперфузией у крыс и односторонняя необратимая окклюзия внутренней сонной артерии у котов) установлено, что лечебное введение

ние производного (3-R-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино [2,3-с]хиназолин-6-ил) карбоновых кислот, соединения DSK-38 (10 мг/кг в/б и в/в), подобно цитиколину (250 мг/кг в/б) и винпоцетину (5 мг/кг в/в) уменьшает фрагментацию ДНК ядер нейронов (нейроапоптоз) головного мозга и снижает степень выраженности нейродегенеративных изменений в этих условиях. Наличие у исследуемого соединения положительного модулирующего эффекта на процессы нейродеструкции при острой церебральной ишемии может лежать в основе его церебропротекторного действия.

Ключевые слова: острое нарушение мозгового кровообращения, производное (3-R-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино [2,3-с] хиназолин-6-ил) карбоновых кислот, цитиколин, нейроапоптоз

**Semenenko N. O., Stepaniuc H. I., Khodakivskiy O. A., Cheresnnyuk I. L.,
Semenenko A. I., Voskoboynik O. Y., Kovalenko S. I.**

Influence of derivate of (3-R-2-oxo-2H- [1,2,4] triazyno [2,3-c] chinazolin-6-il) carbonic acids (compound DSK-38) on the intensity of neurodestructive processes in experimental disorders of cerebral circulation

On two models of acute ischemic disorder of cerebral circulation (40 minutes bilateral occlusion of internal carotid arteries with further reperfusion in the rats and one-sided irreversible occlusion of internal carotid artery in the cats) was established that treatment introduction of derivate of (3-R-2-oxo-2H-[1,2,4] triazyno [2,3-c] chinazolin-6-il) carbonic acids, compounds DSK-38, (10 mg/kg intraabdominal or intravenous) reduces of nuclei DNA fragmentation neurons (neuroapoptosis) and decreases levels of intensity of neurodegenerative changes under these conditions. Modulating effect of investigated compound on processes of neurodestruction may be the basis of its cerebroprotective activity.

Key words: acute disorder of cerebral circulation, derivate of (3-R-2-oxo-2H- [1,2,4] triazyno [2,3-c] chinazolin-6-il) carbonic acids, cytikolin, neuroapoptosis

Надійшла: 28.11.2012 р.

Контактна особа: Степанюк Г. І., доктор медичних наук, професор, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018.
Тел.: + 38 (0432) 61-14-00.

К. Г. Щокіна

Експериментальне вивчення антидепресивних та анксиолітичних властивостей рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: рекомбінантний антагоніст
рецепторів інтерлейкіну-1 (АРІЛ-1),
антидепресивна, анксиолітична дія

Характерними складовими існування людства в третьому тисячолітті є складні соціально-економічні умови, прискорення темпу життя, постійна психоемоційна напруга, невпевненість у майбутньому [9]. Вплив цього складного комплексу негативних факторів на організм людини протягом тривалого часу сприяє розвитку невротичних розладів, що часто супроводжуються пригніченням настроєм, втратою цікавості до життя, підвищеною втомлюваністю, зниженням працездатності, дратівливістю, неспокоєм, немотивованими страхами [3]. Саме тому депресія та невроз сьогодні є одними з найпоширеніших захворювань. Згідно з даними ВООЗ, понад 5 % населення планети (близько 200 млн) страждає на депресії, і ця кількість збільшується з кожним роком [1, 11].

Емоційна лабільність притаманна психоорганічному синдрому, що розвивається в результаті нейротравми, нейроінфекції, токсичних та інших уражень головного мозку [2, 9, 13]. Тому існує значна потреба в лікарських препаратах, які покращують пам'ять та чинять анксиолітичну, стреспротекторну та антидепресивну дію. Отже, створення нових препаратів із подібною фармакологічною активністю є актуальним завданням медицини та фармації.

Останніми роками значного розвитку набув напрям досліджень, пов'язаний із вивченням взаємодії імунної, нервової та ендокринної систем. Доведено, що цитокіни, як-от інтерлей-

кін-1 (ІЛ-1), інтерлейкін-2, інтерлейкін-6, фактор некрозу пухлини здатні регулювати функції ЦНС [5–7, 14]. Встановлено, що на мембрані нейронів у різних структурах мозку знаходяться рецептори до ІЛ-1, а це свідчить про його участь у здійсненні інтегративної функції ЦНС [6, 16, 18]. Відомо також, що в стресовій ситуації рівень ІЛ-1 у різних структурах головного мозку збільшується, а це свідчить про його участь у розвитку депресивних станів [6, 7, 17].

Мета дослідження – експериментальне вивчення антидепресивних та анксиолітичних властивостей рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 (АРІЛ-1). Як об'єкт дослідження використано рекомбінантний антагоніст рецепторів інтерлейкіну-1 (АРІЛ-1), отриманий у Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП.

Матеріали та методи. Дослідження антидепресивної дії АРІЛ-1 на моделі резерпінової депресії в щурів, яку відтворювали шляхом одноразового внутрішньочеревинного введення резерпіну в дозі 4 мг/кг. Депресивні ефекти резерпіну оцінювали через 7 год після його введення за наступними показниками: блефароптоз та зниження температури тіла тварин. Блефароптоз оцінювали в балах, гіпотермію визначали за допомогою електротермометра в прямій кишці [10].

АРІЛ-1 вводили підшкірно в дозі 15 мг/кг. Як препарат порівняння обрано антидепресант іміпрамін у дозі 25 мг/кг [10, 12] Досліджувані речовини вводили в профілактичному режимі протягом трьох діб, останнє введення – за 30 хв перед введенням резерпіну.

Дослідження анксиолітичної активності АРІЛ-1 проводили за тестами піднесеного хрестоподібного лабіринту на інтактних білих мишах-самцях масою 15–22 г. Як препарат порівняння обрано еталонний анксиолітик – діазепам [8, 10]. АРІЛ-1 вводили підшкірно у вигляді ін'єкційного розчину в дозах 5 мг/кг та 15 мг/кг, діазепам – внутрішньом'язово в дозі 10 мг/кг.

Вплив АРІЛ-1 на тривожність піддослідних тварин досліджували за тестом піднесеного хрестоподібного лабіринту. Його розміщували на висоті 1 м над підлогою, центральний майданчик освітлювали. Стан тривожності тварин оцінювали упродовж 5 хв за наступними показниками: тривалість латентного періоду входу до темної камери, загальний час перебування у світлих та темних відсіках, кількість переходів із відсіку до відсіку, кількість фекальних болюсів та уринацій [10]. Перед спостереженням мишей кілька хвилин витримували в темряві.

Вплив АРІЛ-1 на м'язовий тонус та координацію рухів досліджували за тестом стрижня, що обертається, оскільки відомо, що анксиолітики, зокрема, діазепам, виявляють виражену міорелаксантну дію. Вплив препаратів на тонус м'язів та координацію рухів визначали за кількістю мишей, що за певні проміжки часу впали зі стрижня діаметром 2 см, який обертається зі швидкістю 10 об/хв [4].

Для подальшої оцінки спектра психотропної дії АРІЛ-1 вивчали поведінку тварин у тесті відкритого поля, що дозволяло оцінити локомоторну та дослідницьку активність, вегетативний супровід емоційних реакцій під впливом досліджуваної речовини.

Для статистичної обробки використували t-критерій Ст'юдента та кореляційний аналіз Спірмена за допомогою програми статистичної обробки StatPlus 2009. Статистичну достовірність міжгрупових відмінностей розраховували за t-критерієм Ст'юдента, внутрішньогрупових – за парним критерієм Вілкоксона.

Результати та їх обговорення. Кількісні результати досліджень наведено в таблицях 1–3.

Вихідна температура тіла щурів у всіх групах була приблизно однаковою та становила в середньому 37,1 °С. Уведення резерпіну призвело до достовірного зниження температури тіла щурів у групі контрольної патології в середньому на 1,3 °С, що відповідає 3,6 %. Профілактичне введення досліджуваних препаратів сприяло достовірному зменшенню гіпотермії. Так, під дією АРІЛ-1 температура знизилась на 0,4 °С (1,2 %), під впливом іміпраміну – на 0,9 °С (2,3 %). За впливом на гіпотермію АРІЛ-1 достовірно переважає дію референс-препарату.

Уведення резерпіну експериментальним тваринам також сприяло розвитку блефароптозу, який у групі контрольної патології становив 2,43 бала. Під впливом АРІЛ-1 достовірно знизився до 1,71 бала, під дією іміпраміну – до 1,33 бала. Достовірних відмінностей показників блефароптозу в групах досліджуваних препаратів не зафіксовано.

Аналіз результатів, наведених у таблиці 2, свідчить, що введення АРІЛ-1 в обох дозах сприяло помірному збільшенню латентного періоду входу тварин до темного відсіку (до 226–296 %), часу перебування у світлих рукавах лабіринту (до 139–157 %), що свідчить про зменшення тривожності. Але при цьому не спостерігали суттєвих змін показників вегетативного супроводу емоційних реакцій. Дещо більша анксиолітична дія виявлялася в дозі 5 мг/кг. Діазепам значно збільшував латентний період входу тварин до темного відсіку (до 1581 %) та час перебування в світлих рукавах лабіринту (до 159 %). На відміну від АРІЛ-1, він зменшував кількість переходів, тобто пригнічував локомоторну активність, а також редукував вегетативні компоненти емоційних реакцій – кількість фекальних болюсів та уринацій.

Результати тесту стрижня, що обертається, наведені в таблиці 1, свідчать, що АРІЛ-1 в обох дозах не викликав достовірних змін перебування експериментальних тварин на стрижні (до 30 с – 70–80 % тварин, до 1 хв – 20–30 %).

Діазепам, навпаки, скоротив час утримання експериментальних тварин

Таблиця 1

**Вплив АРІЛ-1 та іміпраміну на гіпотермію та блефароптоз на моделі
резерпінової депресії в щурів**

Група	Температура тіла, °С		Зниження темпе- ратури, °С	Блефароп- тоз, бал
	вихідна	після введення резерпіну		
Контрольна патологія (n = 7)	37,10 ± 0,03	35,70 ± 0,11*	1,3 ± 0,1	2,43 ± 0,28
АРІЛ-1 15 мг/кг (n = 7)	37,10 ± 0,03	36,60 ± 0,10*/**	0,4 ± 0,1**/®	1,71 ± 0,28**
Іміпрамін 25 мг/кг (n = 6)	37,10 ± 0,03	36,20 ± 0,19*/**	0,9 ± 0,1**	1,33 ± 0,16**

Примітка. Статистично значущі відмінності ($P \leq 0,05$): *до вихідного фону;

**до контрольної патології; ®до іміпраміну.

Таблиця 2

**Вплив АРІЛ-1 та діазепаму на поведінку в тесті піднесеного
хрестоподібного лабіринту та на м'язовий тонус і координацію рухів
за тестом стрижня, що обертається**

Показники	АРІЛ-1			Діазепам (10 мг/кг)	
	Контроль (n = 16)	5 мг/кг (n = 16)	15 мг/кг (n = 16)	контроль (n = 12)	дослід (n = 13)
Латентний період входу до темного відсіку, с	9,8 ± 6,3	22,1 ± 3,5	29,0 ± 6,4*	5,8 ± 2,5	97,5 ± 10,1*
Загальний час перебування у світлих відсіках, с	60,2 ± 12,7	94,6 ± 9,4*	83,5 ± 10,8	82,9 ± 24,0	215,0 ± 34,0*
Час перебування у темних відсіках, с	240,4 ± 12,7	205,4 ± 9,6*	212,4 ± 10,8	216,0 ± 23,0	86,9 ± 33,8*
Кількість переходів	1,9 ± 0,6	1,9 ± 0,4	3,3 ± 0,6	10,2 ± 2,7	2,3 ± 0,4*
Кількість фекальних болюсів та уринацій	1,2 ± 0,3	1,8 ± 0,3	1,1 ± 0,2	1,4 ± 0,4	0,3 ± 0,1*
Кількість мишей, які впали зі стрижня, що обертається (абс/%)					
Час утримання на стрижні	n = 10	n = 10	n = 10	n = 7	n = 7
До 30 с	8/80 %	7/70 %	8/80 %	1/14 %	5/71 %**
До 1 хв	2/20 %	3/30 %	2/20 %	2/28 %	5/71 %
До 2 хв	0	1/10%	0	2/28 %	5/71 %
До 5 хв	0	0	0	3/43 %	7/100 %**
До 10 хв	0	0	0	4/57 %	7/100 %**

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

** достовірно відносно групи вихідного контролю ($P < 0,01$).

Таблиця 3

Вплив АРІЛ-1 на поведінку мишей у тесті відкритого поля

Показник	Інтактний контроль (n = 16)	АРІЛ-1	
		5 мг/кг (n = 10)	15 мг/кг (n = 16)
Кількість:			
– перетнутих квадратів	46,9 ± 3,8	47,4 ± 3,4	59,2 ± 4,1*
– вертикальних стійок	9,1 ± 1,1	13,6 ± 1,0*	14,4 ± 2,1*
Кількість обстежених отворів	25,7 ± 1,8	25,7 ± 1,6	26,0 ± 1,5
Емоційні та вегетативні реакції:			
– грумінг	1,3 ± 0,2	0,4 ± 0,2*	0,6 ± 0,1
– фекальні болюси	0,6 ± 0,1	0,8 ± 0,3	0,9 ± 0,2
– уринації	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1
– сума показників	2,1 ± 0,3	1,3 ± 0,2	1,6 ± 0,4
Сума всіх активностей	83,8 ± 4,4	88,0 ± 5,0	101,2 ± 6,5*

Примітка. *Достовірно відносно інтактного контролю ($P \leq 0,05$).

на стрижні, що обертається (до 30 с – у 5 разів, до 1 та 2 хв – у 2,5 разу, до 5 хв – у 2,3 разу, до 10 хв – у 1,8 разу). Це свідчить про достовірне зниження тонуусу скелетних м'язів та погіршення координації рухів піддослідних тварин під дією діазепаму.

Аналіз даних таблиці 3 свідчить, що в тесті відкритого поля АРІЛ-1 у дозах 5 мг/кг та особливо 15 мг/кг сприяв достовірному підвищенню локомоторної активності, не пригнічував дослідницьку поведінку та не змінював інші показники емоційного стану інтактних тварин, за виключенням достовірного зниження кількості активів ґрумінгу в дозі 5 мг/кг. Останнє підтверджує протитривожну дію, що її виявлено в тесті піднесеного хрестоподібного лабіринту. АРІЛ-1 у дозі 15 мг/кг достовірно підвищував суму всіх активностей у 1,2 разу, тобто сприяв психомоторній активності. Отже, дію АРІЛ-1 можна вважати достатньо анкіоселективною. Цим вона вигідно відрізняється від ефекту діазепаму, хоча й дещо поступається йому за силою.

Висновки

Результати свідчать, що за антидепресивною дією на моделі резерпінової депресії рекомбінантний антагоніст рецепторів інтерлейкіну-1 (АРІЛ-1) не поступається іміпраміну за впливом на блефароптоз та достовірно переважає його за впливом на гіпотермію, тобто діє на рівні референс-препарату.

За тестами піднесеного хрестоподібного лабіринту та відкритого поля АРІЛ-1, хоча й поступається діазепаму за протитривожною активністю, на відміну від останнього виявляє селективну анкіолітичну дію без пригнічення ЦНС. Останнє підтверджується результатами тесту стрижня, що обертається, в якому АРІЛ-1 не погіршує м'язовий тонус та координацію рухів на відміну від діазепаму. Отже, дію АРІЛ-1 можна вважати достатньо анкіоселективною.

Таким чином, доведено, що рекомбінантний антагоніст рецепторів інтерлейкіну-1 АРІЛ-1 має виражену психотропну дію, що підтверджує перспективність вивчення АРІЛ-1 з метою подальшого застосування як анкіолітичного та антидепресивного засобу.

1. Андреев Б. В. Антидепрессанты. Состояние проблемы и современный фармацевтический рынок / Андреев Б. В. // Мир Медицины. – 1998. – № 1–2. – С. 22–24.
2. Арушанян Э. Б. Влияние антидепрессантов на содержание катехоламинов в гипоталамусе и надпочечниках крыс / Э. Б. Арушанян, К. С. Эбелькьян // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 1995. – № 6, Т. 58. – С. 14–16.
3. Вознесенская Т. Г. Эмоциональный стресс и профилактика его последствий / Вознесенская Т. Г. // Практикующему неврологу. – 2007. – № 2 (12). – С. 43–49.
4. Гацура В. В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ / В. В. Гацура. – М.: Медицина, 1974. – 143 с.
5. Данн А. Механизмы сигнальной трансдукции цитокинов в мозге / Данн А., Визорек М., Свиргил А. // Мат. Международ. симпозиума «Взаимодействие нервной и иммунной систем в норме и патологии», Санкт-Петербург, Россия, 16–19 июня 2009 г.
6. Катафучи Т. Нейромодулирующее действие и механизмы цитокин-индуцированной супрессии медиальных преоптических нейронов / Катафучи Т. // Мат. Международ. симпозиума «Взаимодействие нервной и иммунной систем в норме и патологии», Санкт-Петербург, Россия, 16–19 июня 2009 г.
7. Кетлинский С. А. Цитокины / С. А. Кетлинский, А. С. Симбирцев. – СПб.: ООО «Издательство Фолиант», 2008. – 552 с.
8. Малин Д. И. Побочное действие психотропных средств / Д. И. Малин. – М.: Вузовская книга, 2000. – 207 с.
9. Масштаб неврологических и психиатрических проблем в последнем десятилетии XX века и тенденции их будущего развития в свете статистическо-эпидемиологических данных ВОЗ // Журн. неврол. и психиатр. – 1999. – № 1. – С. 56–63.
10. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М., 2009. – 398 с.
11. Смулевич А. Б. Депрессии в общемедицинской практике / А. Б. Смулевич. – М., 2000. – 160 с.
12. Сучасна діагностика і лікування в неврології та психіатрії / За ред. проф. Т. С. Міщенко, проф. В. С. Підєоритова; Довідник лікаря «Невролог Психіатр». – К.: «Доктор-Медіа», 2008. – С. 624.
13. Enzymatic synthesis of adrenaline in mammalian brain / R. D. Ciaranello, R. E. Barchas, G. S. Byers [et al.] // Nature. – 1969. – V. 221 (5178). – P. 368–369.

14. Damberg M. Chronic pharmacological treatment with certain antidepressants alters the expression and DNA-binding activity of transcription factor AP-2 / M. Damberg, J. Ekblom, L. Orelund // *Life Sci.* – 2000. – Dec 29. – V. 68 (6). – P. 669–78.
15. Hallegua D. S. Potential therapeutic uses of interleukin 1 receptor antagonists in human diseases / Hallegua D. S., Weisman M. H. // *Ann Rheum Dis.* – 2002. – № 61 (11). – P. 960–967.
16. Interleukin-1 exacerbates focal cerebral ischemia and reduces ischemic brain temperature in the rat / Parry-Jones A. R., Liimatainen T., Kauppinen R. A. [et al.] // *Magn Reson Med.* – 2008. – № 59. – P. 1239–1249.
17. Torda C. Hypothalamic adrenaline synthesis after stimulation of the medial forebrain bundle / C. Torda // *Br J. Pharmacol.* – 1977. – V. 61 (1). – P. 5–8.
18. Wellen K. E. Inflammation, stress, and diabetes / Wellen K. E., Hotamisligil G. S. // *J. Clin Invest.* – 2005. – № 115. – P. 1111–1119.

Е. Г. Щекина

Экспериментальное изучение антидепрессивных и анксиолитических свойств рекомбинантного антагониста рецепторов интерлейкина-1

В статье приведены результаты экспериментального изучения антидепрессивных и анксиолитических свойств рекомбинантного антагониста рецепторов интерлейкина-1 (АРИЛ-1). При изучении антидепрессивного действия на модели резерпиновой депрессии установлено, что рекомбинантный антагонист рецепторов интерлейкина-1 (АРИЛ-1) не уступает имипрамину по влиянию на блефароптоз и достоверно превосходит его по влиянию на гипотермию, то есть действует на уровне референс-препарата. В тестах приподнятого крестообразного лабиринта и открытого поля АРИЛ-1, хоть и уступает диазепаму по противотревожной активности, в отличие от последнего проявляет селективное анксиолитическое действие без угнетения ЦНС. Последнее подтверждается результатами теста вращающегося стержня, в котором АРИЛ-1 не угнетает мышечный тонус и координацию движений в отличие от диазепама. Поэтому действие АРИЛ-1 можно считать достаточно анксиоселективным. Таким образом, доказано, что рекомбинантный антагонист рецепторов интерлейкина-1 АРИЛ-1 обладает выраженным психотропным действием, что подтверждает перспективность изучения АРИЛ-1 с целью использования в качестве анксиолитического и антидепрессивного средства.

Ключевые слова: рекомбинантный антагонист рецепторов интерлейкина-1 (АРИЛ-1), антидепрессивное, анксиолитическое действие

Е. G. Shchokina

Experimental study of the antidepressant and anxiolytic properties of the interleukin-1 receptors recombinant antagonist

The article shows the results of an experimental study of antidepressant and anxiolytic properties of the interleukin-1 receptors recombinant antagonist (ARIL-1).

On the antidepressant action study on the model of reserpine depression established that recombinant antagonist of interleukin-1 receptors (ARIL-1) is not inferior to imipramine on influence on the blepharoptosis and significantly superior its effect on hypothermia, it means it acts at the level of the reference drug.

In tests of the elevated cruciform labyrinth and open field ARIL-1, though inferior to diazepam in antianxiety activity, in contrast to the latter exhibits selective anxiolytic action without CNS depression. The last is confirmed by the rotating rod test, in which the ARIL-1 does not inhibit muscle tone and coordination, in contrast to diazepam. Thus, the effect of ARIL-1 can be considered as anxiolytic.

Thus, it is proved that recombinant antagonist of interleukin-1 ARIL-1 receptors has a strong psychoactive effect, which confirms the prospectivity of ARIL-1 study in order to use as an anxiolytic and antidepressant agent.

Key words: interleukin-1 receptors recombinant antagonist (ARIL-1), antidepressive, anxiolytic action

Надійшла: 17.12. 2012 р.

Контактна особа: Щокіна Катерина Геннадіївна, доктор фармацевтичних наук, професор, кафедра фармакології, Національний фармацевтичний університет, м. Харків.
Тел.: +38 (057) 706-30-69. Електронна пошта: asya@ukr.net

Я. Г. Бальон¹, О. В. Сімуров¹, В. А. Ховака¹, С. М. Гурєєва²

Вивчення хіміко-фармацевтичних властивостей ін'єкційного розчину інгібітора функції надниркових залоз о,п'-ДДД (хлодитану) з метою впровадження його в клінічну практику

¹ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин
імені В. П. Комісаренка НАМН України», м. Київ

²ПАТ «Фармак», м. Київ

Ключові слова: ін'єкційний розчин
о,п'-ДДД, хлодитан, кора надниркових
залоз, показники, методи контролю,
аналітична нормативна документація

Уперше створено розчинну лікарську форму інгібітора функції кори надниркових залоз (КНЗ) – о,п'-ДДД (хлодитану) для внутрішньосудинного введення при лікуванні хвороби Іценка-Кушинга та злоякісних пухлин КНЗ. Дані захворювання КНЗ належать до хвороб, що безпосередньо загрожують життю хворого. Тяжкість стану хворого пов'язана як з загальною онкологічною симптоматикою, так і з гормональною гіперфункцією, що сама може бути причиною смерті. Тому актуальною залишається проблема лікування зазначених форм патології як з метою усунення гіперфункції гормонів, так і для позбавлення хворого від пухлини та її метастазів. Доведено клінічну ефективність застосування інгібіторів функції КНЗ, які спричиняють на неї цитотоксичний вплив [1, 2]. Найбільшу адренокортиколітичну активність сьогодні проявляє орто,пара'-дихлордифенілдіхлоретан (о,п'-ДДД, Хлодитан, Мітотан, Лізодрен), який застосовують у вигляді таблеток [3]. Розроблено комбінований медикаментозно-хірургічний метод лікування даних захворювань із використанням адреналектомії та хлодитану [4, 5]. Для досягнення стійкого клінічного ефекту необхідно застосовувати хлодитан перорально протягом декількох місяців (максимальна добова доза 8–10 г), причому курси лікування необхідно повторювати. Ефект лікування

даним препаратом залежить від індивідуальної реактивності хворого, а також від морфологічного та функціонального стану КНЗ. У деяких хворих може розвиватись резистентність до хлодитану, у цих випадках без операції не обійтись. Але в понад 90 % випадків застосування препарату призводить до нормалізації функції КНЗ. При пероральному використанні високих доз хлодитану спостерігаються побічні ускладнення – нудота, блювання, свербіння шкіри, діарея, атаксія, лейкопенія, гінекомастія та ін. [6, 7]. Крім того, треба зазначити, що хлодитан завдяки ліпофільності при пероральному застосуванні має невисоку біодоступність. З метою підвищення терапевтичної ефективності хлодитану, зниження його дозування та зменшення побічної дії запропоновано розчинну лікарську форму препарату для внутрішньовенного введення, яка не має світових аналогів [8].

Слід зазначити, що за параметрами гострої токсичності розчин о,п'-ДДД для ін'єкцій є малотоксичним [9], він виявляє активність інгібітора функції КНЗ як у культурі КНЗ людини (*in vitro*), так і в собак при внутрішньовенному введенні (*in vivo*), що є визначальним для подальших клінічних досліджень даної форми препарату [10].

Мета дослідження – експериментальне визначення основних хіміко-фармацевтичних показників, необхідних для створення аналітичної нормативної документації на розчин хлодитану для ін'єкцій 50 мг/мл згідно з вимогами ДФУ [11].

Матеріали та методи. За об'єкт дослідження було обрано 5 %-й розчин о,п'-

ДДД (хлоридану) у суміші розчинників – пропіленгліколь, спирт етиловий, N,N-диметилацетамід у співвідношенні 7:2:1. Дані розчинники та їхні співвідношення застосовують для створення лікарських препаратів [12]. Специфікація на 5 %-й розчин для ін'єкцій о,п'-ДДД (хлоридану) починається з опису: органолептично встановлено, що даний розчин є прозорою безбарвною рідиною зі слабким специфічним запахом. Важливим показником розчину діючої субстанції є його ідентифікація, для якої запропоновано ультрафіолетовий спектр 0,02 %-го розчину в області від 220 до 350 нм, з максимумом поглинання при (261 ± 1) нм, (268 ± 1) нм та (275 ± 1) нм (спектрофотометр Simadzu UV 3100, Інститут органічної хімії НАН України). Якісною реакцією для розчину є характерна реакція на хлориди. Для цього сухий залишок 0,1 г після випаровування 5 мл суміші розчинників спікають із сумішшю для спікання [13] (2,5 г безводного вуглекислого натрію розтирають з 4,5 г безводного вуглекислого калію і 2,5 г нітриту калію). Отриманий продукт розчиняють в 10 мл води, фільтрують. Фільтрат дає характерну реакцію на хлориди (ДФУ, 2.3.1, с. 73).

Розчин має бути прозорим (ДФУ, 2.2.1, с. 15) і безбарвним, або забарвлення не інтенсивніше за еталон ВУ₇ (ДФУ, 2.2.2, с. 15).

Розчин випробовують на наявність механічних включень. Візуально оцінюють наявність рухомих нерозчинних часток у розчині за допомогою спеціального обладнання (ДФУ, 2.9.20, с. 166). Наявності механічних включень у ін'єкційному розчині о,п'-ДДД (хлоридану) не виявлено.

Випробування на «супровідні домішки» проводять методом тонкошарової хроматографії (ДФУ, 2.2.27, с. 41), використовуючи хроматографічні пластинки Silicagel 60 фірми «Merck» (Німеччина) на алюмінієвій основі розміром 10 × 15 см і товщиною шару 0,20 мм.

Випробуваний розчин. Ін'єкційний розчин (8 мл) препарату випаровують при температурі від 100 до 105 °С і вакуумі 2 мм рт. ст. до сухого залишку і охолоджують. До залишку додають

5 мл ацетону, ретельно перемішують протягом 2 хв скляною паличкою до повного розчинення осаду. Готують розчини порівняння.

Розчин порівняння (а). 0,2 г п,п'-ДДД розчиняють в ацетоні і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10 мл.

Розчин порівняння (б). 0,5 мл розчину порівняння (а) доводять ацетоном до об'єму 10 мл і перемішують.

Розчин порівняння (в). 5 мл розчину порівняння (б) доводять ацетоном до об'єму 10 мл і перемішують.

Розчини використовують свіжоприготованими.

На лінію старту хроматографічної пластини наносять 50 мкл (4000 мкг о,п'-ДДД) випробуваного розчину, 10 мкл (10 мкг п,п'-ДДД) розчину порівняння (б) і 10 мкл (5 мкг п,п'-ДДД) розчину порівняння (в). Пластину сушать на повітрі до зникнення запаху ацетону, поміщають у камеру з сумішшю розчинників етилацетат-гексан (5:95) і хроматографують методом вертикального елюювання. Коли фронт розчинників пройде 10 см від лінії старту, пластину виймають із камери, сушать у струмені теплого повітря та переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм.

На всіх хроматограмах на одному рівні присутні тільки плями випробуваного розчину і відповідні за розміром плями розчинів порівняння, що свідчить про відсутність супровідних домішок і відповідність зразків вимогам ДФУ (2.2.27, с. 41).

Результат аналізу вважають вірогідним, якщо на хроматограмі чітко видно пляму розчину порівняння (в).

Об'єм, що витягується, має витримувати вимоги ДФУ (2.9.17, с. 164) – у контейнері повинно міститися не менше 10,5 мл розчину.

Для одержання стерильного розчину було запропоновано стерилізацію в паровому стерилізаторі при температурі 121 °С протягом 15 хв. Перевірку придатності даного методу проводили в лабораторії мікробіологічного контролю ПАТ «Фармак». Випробування проводили в асептичних умовах (зона А, клас В) згідно з вимогами ДФУ розділ

2.6.1. Для дослідження було використано ламінарну шафу HSP 18 «Heraeus», стеритест-компакт «Millipore», інкубатори UB 12, BK 6160, «Kendro», фільтруючі системи стеритест TZHV LA 210 «Millipore». Як живильні середовища застосовували: тіогліколеве (Thio), соєво-казеїновий бульйон (TSB), розчин 1 г/л пектону казеїнового, соєво-казеїновий агар (TSA), розчин 9 г/л натрію хлориду, колумбійський агар. Посів на живильні середовища проводили методом мембранної фільтрації з використанням стерильних одноразових систем TZHV LA 210. Вміст 20 флаконів розчину для ін'єкцій 50 мг/мл по 10 мл кожний (200 мл) пропускали через 2 стерильні мембранні фільтри, попередньо зволожені стерильним розчином 1 г/л пектону казеїнового. Після закінчення фільтрації кожний мембранний фільтр відмивали п'ятьма порціями по 100 мл стерильного розчину 1 г/л пектону казеїнового.

Для перевірки придатності методики випробування в останню порцію промивної рідини об'ємом 200 мл вносили 2 мл суспензії відповідного штаму мікроорганізмів (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Clostridium sporogenes* ATCC 9404, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus niger* ATCC 16404) з концентрацією не більше 100 КУО/мл, струшували для рівномірного розподілу клітин і фільтрували крізь два мембранні фільтри стеритесту.

Після закінчення фільтрації каністри стеритесту заповнювали тіогліколевим середовищем або середовищем з соєво-казеїновим бульйоном відповідно до внесених тест-штамів мікроорганізмів, рекомендованих для кожного живильного середовища.

Для контролю експерименту крізь два мембранних фільтри стеритесту фільтрували таку саму кількість розчину 1 г/л пектону казеїнового з тією самою концентрацією відповідних тест-штамів мікроорганізмів та заповнювали живильними середовищами (позитивний контроль).

Усі посіви інкубували одночасно при відповідних температурах згідно з

вимогами ДФУ: посіви в тіогліколевому середовищі при температурі від 30 до 35 °С; посіви в соєво-казеїновому середовищі при температурі від 20 до 25 °С. Тривалість інкубації становила не більше 5 діб для всіх посівів. Придатність методики визначали при порівняльній оцінці інтенсивності росту тест-культур у випробуваннях з препаратом та без нього.

Оцінку біологічної чистоти препарату проводили за кількістю бактеріальних ендотоксинів, уміст яких подається в міжнародних одиницях (МО) і аналізується методом «Гелеутворення: граничне випробування» згідно з вимогами ДФУ (2.6.14, с. 127 метод А-В). У досліджах використовували реактиви та стандарти фірми «Assoc/ of Cape Cod Incorp», лізат амебоцитів (Pyrotell) з чутливістю 0,03 ЕО/мл, розведений на буфері 0,2 М трис(гідрокси-метиламінометан)гідрохлориду. Виявлено, що дослідні зразки 5 % розчину для ін'єкцій о,п'-ДДД (хлоритану) у максимально допустимому розведенні не містять факторів, здатних впливати на кінетику взаємодії гідролізату амебоцитів та ліпополісахаридного компонента ендотоксинів. Крім того, було встановлено, що фактичний уміст ендотоксинів у аналізованих зразках препарату був значно нижчий від граничної концентрації, обчисленої теоретично (3,5 МО/мл). На підставі проведених досліджень розділ «бактеріальні ендотоксини» згідно з вимогами ДФУ (2.6.14, с.127) подано в такій редакції – Гранична концентрація ендотоксинів не повинна перевищувати 3,5 МО/мл.

Аномальну токсичність визначали згідно з вимогами ДФУ (2.6.9, с. 109). Кожній з 5 здорових мишей внутрішньочеревинно вводили по 1 мл ін'єкційного розчину о,п'-ДДД, а контрольній групі – по 1 мл стерильного фізіологічного розчину. За станом тварин спостерігали сім діб. За цей час усі миші залишилися живими, і в них не спостерігали ознак зміни рухливості, споживання їжі та води. Це свідчить про те, що даний розчин є нетоксичним, і тест-доза при аномальній токсичності складає 50 мг о,п'-ДДД в 1 мл на 1 мишу.

Кількісне визначення діючої субстанції в розчині проводили згідно з вимогами ДФУ (5.3.1, с. 67) методом газової хроматографії на хроматографі «Хром-5» (Чехія) з полум'яно-іонізаційним детектором за таких умов: колонка з нержавіючої сталі довжиною 1,5 м і діаметром 3 мм, нерухома фаза – 5 % SE-30 на хроматоні N-AW, зернистість від 0,125 до 0,160 мм, газ-носіє – гелій, швидкість газу-носія 50 мл/хв, температура термостата – 190 °С, температура випаровувача – 270 °С, об'єм проби, що вводився – 10 мкл, розчин порівняння – 5 % розчин п,п'-ДДД.

Для отримання розчину порівняння спочатку готували суміш розчинників – 70 % пропіленгліколю, 20 % етанолу і 10 % N,N-диметгладетаміду. Далі в мірну колбу на 100 мл додавали ($5 \pm 0,01$) г п,п'-ДДД (стандарт), 50 мл суміші розчинників, енергійно струшували до повного розчинення та доводили об'єм до мітки.

Попеременно хроматографували 1 мкл випробуваного розчину і 1 мкл розчину порівняння не менше, ніж 5 разів. Сумарний сигнал розчинників, який з'являвся на початку хроматографування не брали до уваги, а площі всіх отриманих піків сумували та знаходили їхню середню величину – $S_{\text{ст}}$ і S_x . За отриманими даними визначали вміст о,п'-ДДД у 1 мл розчину за формулою:

$$m_x = S_x \cdot m_{\text{ст}} / S_{\text{ст}},$$

де: S_x – середнє значення площі піків досліджуваного зразка,

$S_{\text{ст}}$ – середнє значення площі піків стандарту,

$m_{\text{ст}}$ – маса (г) наважки стандарту в 1 мл розчину,

m_x – маса (г) діючої субстанції в 1 мл розчину.

Відносне стандартне відхилення площі піків о,п'-ДДД не повинно перевищувати 2 %.

Уміст о,п'-ДДД в 1 мл розчину повинен бути від 0,049 до 0,051 г.

П'ять контейнерів розчину для ін'єкцій 50 мг/мл по 10 мл кожний зберігали в холодильнику і п'ять – при температурі від 15 до 25 °С. При зберіганні в холодильнику в двох контейнерах діюча субстанція випала в осад,

тому розділ зберігання подано в такій редакції – у захищеному від сонця місці при температурі від 15 до 25 °С.

Стерильний 5 % -й розчин о,п'-ДДД було закладено на початку 2009 р. для визначення його терміну придатності. При закладанні розчин був прозорий, безбарвний, без механічних включень. Через кожні три місяці зберігання проводили візуальне обстеження зразків (прозорість, кольоровість), дослідження на наявність механічних включень, супровідних домішок, стерильність, кількісне визначення діючої субстанції в розчині, ідентичність розчину доказувалася якісною реакцією на хлориди та УФ-спектроскопією. Протягом 3 років зберігання жодних змін розчину не було зареєстровано. Визначення терміну придатності ін'єкційного розчину о,п'-ДДД триває.

Результати та їх обговорення. Для ідентифікації розчину було запропоновано характерну реакцію на хлориди із застосуванням суміші для спікання, яку наведено в фармакопеї РФ [13], на жаль, вона відсутня в ДФУ, хоча її наявність очевидна. Теоретично при стерилізації розчину в паровому стерилізаторі при 121 °С можуть утворюватися етерні сполуки, продукт дегідрохлорування – 1-(о-хлорфеніл)-1-(п-хлорфеніл)-2-хлоретиле́н або продукт гідролізу дихлорметильної групи – 2-(о-хлорфеніл)-2-(п-хлорфеніл)оцтовий альдегід. Комплексними дослідженнями (УФ-спектроскопія, мас-спектрометрія, тонкошарова і газова хроматографії) було доведено, що розчин за цих умов не зазнає жодних змін. Було проведено перевірку даного способу стерилізації методом мембранної фільтрації, результати проведених досліджень наведено в таблицях 1–3.

Слід відзначити, що препарат за умов проведення випробування проявив антимікробну дію, яка для тестштамів *Candida albicans* ATCC 10231 та *Bacillus subtilis* ATCC 6633 не була нейтралізована промиванням фільтру п'ятьма порціями по 100 мл стерильного розчину 1 г/л пектону казеїнового. Відповідно до вимог ДФУ [11] розділ 2.6.1, загальний об'єм промивної рідини не має перевищувати п'яти порцій

Таблиця 1

Визначення концентрації інокуляту

Тест-штами мікроорганізмів	Середовище	Кількість КУО на кожній з 2 чашок	Концентрація інокуляту (середнє з 2 ч.)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	TSA	37 ; 44	42
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	TSA	62 ; 63	63
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 19404	Колумб. агар	60 ; 75	72
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	TSA	20 ; 29	25
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	TSA	85 ; 79	82
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	TSA	30 ; 34	32

Таблиця 2

Визначення кількості мікроорганізмів у суспензії для інокуляції

Тест-штами мікроорганізмів	Середовище	Температура інкубації, °C	Облік результатів	
			Кількість КУО на кожній з 2 чашок	Посівна доза
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	TSA	32,5	37 ; 44	42
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ACC 9027	TSA	32,5	62 ; 63	63
<i>Clstridium sporogenes</i> ATCC 19404	Колумб. агар	32,5	60 ; 75	72
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	TSA	32,5	20 ; 29	25
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	TSA	22,5	85 ; 79	82
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	TSA	22,5	30 ; 34	32

Таблиця 3

Результати перевірки придатності методики випробування на стерильність

Тест-штами мікроорганізмів	Сере-довище	Наявність та інтенсивність росту тест-культур (р), +		
		Темпера-тура інку-бації, °C	З препаратом. Відмивання 5 порціями по 100 мл	Без препарату (позитивний контроль)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Thio	32,5	P +++	P +++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Thio	32,5	P +++	P +++
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 19404	Thio	32,5	P +++	P +++
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	TSB	32,5	н/р [*]	P +++
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	TSB	22,5	н/р [*]	P +++
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	TSB	22,5	P +++	P +++

Примітка. *Відповідно до вимог ДФУ 2.6.1 загальний об'єм промивної рідини не має перевищувати 5 порцій по 200 мл.

по 200 мл, навіть у тому разі, коли при перевірці придатності методики встановлено, що такий режим відмивання мембранних фільтрів не дозволяє повністю усунути антимікробну активність лікарського засобу. Усі живильні середовища й рідини були перевірені на стерильність і наявність ростових властивостей, а в тест-штамах мікроорганізмів визначена концентрація інокуляту (табл. 1).

Кількість мікроорганізмів у суспензії для інокуляції наведено в таблиці 2. Результати перевірки методики випро-

бування на стерильність наведені в таблиці 3. Слід відзначити, що протягом 14 діб як у тіогліколевому середовищі, так і середовищі соєво-казеїнового бульйону спостерігали відсутність бактеріостатичної та фунгістатичної дії препарату. Інтенсивність росту мікроорганізмів у присутності препарату та за його відсутності була однаковою.

На основі проведених хіміко-фармацевтичних досліджень створено аналітичну нормативну документацію на о,п'-ДДД – розчин для ін'єкцій 50 мг/мл із наступною специфікацією.

Пункт	Назва показника	Допустимі межі	Методи контролю
1	Опис	Прозора безбарвна рідина зі слабким специфічним запахом	За п.1 ДФУ* органолептично
2	Ідентифікація	УФ-спектр 0,02 % розчину в області від 220 до 350 нм має максимуми поглинання при (261 ± 1) нм, (268 ± 1) нм, (275 ± 1) нм. 5 мл розчину препарату випаровують до утворення сухого залишку. 0,1 г отриманої маси сплавляють з 0,5 г суміші для спікання (2,5 г безводного вуглекислого натрію, розтертого з 4,5 г безводного вуглекислого калію і 2,5 г нітриту калію). Отриманий сплав дає характерну реакцію на хлориди	За п.2, ДФУ* 2.2.25 За п.2, ДФУ* 2.3.1
3	Прозорість	Має бути прозорим	За п.3, ДФУ* 2.2.1
4	Кольоровість	Має бути безбарвним або забарвлення не інтенсивніше за еталон ВУ ₇	За п.4, ДФУ* 2.2.2, метод II
5	Механічні включення	Має відповідати вимогам	За п.5, ДФУ* 2.9.20
6	Супровідні домішки	На хроматограмі випробуваного розчину спостерігається пляма, що розміщена на рівні плями розчину порівняння	За п.6, ДФУ* 2.2.27 (метод ТШХ)
7	Об'єм, що витягується	Має відповідати вимогам	За п.7, ДФУ* 2.9.17
8	Стерильність	Препарат повинен бути стерильним	За п.8, ДФУ* 2.6.1
9	Бактеріальні ендотоксини	Гранична концентрація ендотоксинів становить 3,5 МО на 1 мл	За п.9, ДФУ* 2.6.14. метод А
10	Аномальна токсичність	Тест-доза: 50 мг о,п'-ДДД у 1 мл на 1 мишу	За п.10, ДФУ* 2.6.9
11	Кількісне визначення о,п'-ДДД	Від 0,049 до 0,051 г у 1 мл препарату	За п.11 (метод газової хроматографії)
12	Зберігання	У щільно закупореному контейнері, у захищеному від світла місці при температурі від 15 до 25 °С	

Примітка. *Діюче видання.

Висновок

Досліджено хіміко-фармацевтичні властивості 5 %-го розчину для ін'єкцій інгібітора функції надниркових залоз о,п'-ДДД (хлодитану), що включають наступні показники: опис, ідентифікацію, прозорість, кольоровість, механічні включення, супровідні домішки, об'єм, що витягується, стерильність, бактеріаль-

ні ендотоксини, аномальну токсичність, кількісне визначення діючої субстанції, умови зберігання та термін придатності. Названі показники досліджували згідно з вимогами Державної фармакопеї України (ДФУ) для створення аналітичної нормативної документації на ін'єкційний розчин о,п'-ДДД (хлодитану), необхідної для проведення клінічних випробувань.

1. Комиссаренко В. П. Ингибиторы функции надпочечных желез / В. П. Комиссаренко, А. Г. Резников. – К.: Здоров'я, 1972. – 374 с.
2. Тронько М. Д., Комиссаренко І. В., Бальон Я. Г. [та ін.] // Журн. АМН України. – 2010. – Т. 16, № 2. – С. 271–287.
3. Комиссаренко В. П., Резников А. Г., Комиссаренко І. В., Бальон Я. Г. // Хим.– фарм. журн. – 1977. – Т. 11, № 9. – С. 146–149.
4. Кваченюк А. М. // Лікарська справа. – 2004. – № 8. – С. 64–67.
5. Комиссаренко І. В., Рыбаков С. И. // Фармакол. вісн. – 2000. – № 1. – С. 50–53.
6. Бальон Я. Г., Корпачев В. В. // Эндокринология. – 1996. – Т. 1, № 1. – С. 25–31.
7. Машковский М. Д. Лекарственные средства (хлодитан) / М. Д. Машковский. – М.: Новая волна, 2005. – 1200 с.
8. Бальон Я. Г., Резников А. Г., Тронько М. Д., Сімуров О. В. [та ін.] Патент України на винахід № 94543 (10.05.2011) «Спосіб одержання ін'єкційного розчину 1-(орто-феніл)-1-(пара-феніл)-2,2-дихлоретану (хлодитану), який є інгібітором функції кори надниркових залоз» Україна (19) UA (11) 94543 (13) C2 (51) МПК (2011.01) A61K 9/08 (2006.01) A61K 31/03 (2006.01) A61P 5/00.
9. Бальон Я. Г., Ховака В. В., Сімуров О. В. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2010. – № 3 (16). – С. 12–16.
10. Бальон Я. Г., Резніков О. Г., Тронько М. Д. [та ін.] // ДАН України. – 2011. – № 11. – С. 154–159.
11. Державна фармакопея України. 1-е видання. – Харків: РИПЕГ, 2001. – 556 с.
12. Технология и стандартизация лекарств: под ред. В. П. Георгиевского. – Харьков: РИПЕГ, 2005. – 779 с.
13. XII Государственная фармакопея Российской Федерации. Часть I. – Москва: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2008. – 704 с.

Я. Г. Бальон, А. А. Сімуров, В. В. Ховака, С. М. Гуреева

Исследование химико-фармацевтических свойств инъекционного раствора ингибитора функции надпочечных желез о,п'-ДДД (хлодитана) с целью внедрения его в клиническую практику

Исследованы химико-фармацевтические свойства 5 %-го раствора для инъекций ингибитора гормонообразования в надпочечных железах о,п'-ДДД (хлодитана), которые регламентируют следующие показатели: описание, подлинность, прозрачность, цветность, механические включения, сопровождающие примеси, объем, который вытягивается, стерильность, бактериальные эндотоксины, аномальная токсичность, количественное определение действующей субстанции, условия хранения и срок хранения. Эти показатели исследовали согласно требований Государственной фармакопеи Украины (ГФУ) для создания аналитической нормативной документации на инъекционный раствор о,п'-ДДД (хлодитана), которая необходима для проведения клинических испытаний.

Ключевые слова: инъекционный раствор о,п'-ДДД, хлодитан, кора надпочечных желез, показатели, методы контроля, аналитическая нормативная документация

Ya. G. Bal'on, A. V. Simurov, V. V. Khovaka, S. N. Gureeva

Investigation of chemical and pharmaceutical properties of the inhibitor adrenal glands function о,р'-DDD (chloditan) solution for injection in order to implement in clinical practice

There were studied chemical and pharmaceutical properties of an inhibitor of adrenal gland function о,р'-DDD (chloditan) 5 % solution for injection, which regulate the following indicators: description, identification, transparency, color, solid particles, associated impurities, the amount of which is extended, sterility, bacterial endotoxins, abnormal toxicity, quantification, storage conditions and expiry date. These parameters were investigated in accordance with the requirements of State Pharmacopoeia of Ukraine (SPU) and were used to create an analytical standard documentation for injectable о,р'-DDD (chloditan).

Key words: injectable о,р'-DDD, chloditan, adrenal cortex, the indicators, methods of control, analytical normative documentation

Надійшла: 14.11.2012 р.

Контактна особа: Бальон Ярослав Григорович, доктор хімічних наук, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В. П. Комісаренка НАМН України», буд. 69, вул. Вишгородська, м. Київ.
Тел.: +38 (044) 431-02-19.

Дія мексидолу на постстресорну активацію еритро- та грануломоноцитопоезу в кістковому мозку щурів

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Ключові слова: мексидол, стрес, кістковий мозок, еритропоез, грануломоноцитопоез

Одним із препаратів, що вийшли на фармацевтичний ринок, але дослідження продовжують інтенсивно розвиватися, є синтетичний антиоксидант 2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинат, або мексидол [1]. Його численні ефекти (анксіолітичний, ноотропний, церебропротективний, антигіпоксичний та інші) зумовили впровадження мексидолу в клініку у вигляді різних лікарських форм для загального та місцевого застосування [1, 2]. Водночас вплив мексидолу на систему крові досліджений недостатньо. Відомо лише окремі факти, що свідчать про можливість застосування цього засобу при ушкодженнях кісткового мозку радіаційного та токсичного генезу [3, 4]. При стресі мексидол здатний регулювати міграцію лейкоцитів, у тому числі до кісткового мозку [5]. Він також попереджує зміни загальної кількості еритроцитів, викликані іммобілізацією тварин [6], але вплив препарату безпосередньо на клітинні показники кісткового мозку в різні стадії стрес-синдрому практично не вивчений.

Мета дослідження – вивчення дії мексидолу на клітинний склад кісткового мозку в динаміці стрес-синдрому, зумовленого гострою іммобілізацією експериментальних тварин.

Матеріали та методи. Експерименти виконано на 91 білому щурі-самці Вістар. Вони не викликали заперечень комісії з питань біоетики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія». Гострий іммобілізаційний стрес за класичною моделлю нервово-м'язового напруження за Н. Selye

(1936 р.) відтворювали шляхом іммобілізації щурів на спині протягом 3 год [7]. Мексидол (2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинат) (ООО «Медицинский центр «Эллара», РФ), вводили інтраперитонеально в ефективній дозі 100 мг/кг за 30 хв перед початком стресорного впливу. Одночасно мексидол вводили інтактним білим щурам. Через 3, 24 та 48 год, а також через 5 діб від початку стресорного впливу щурів піддавали евтаназії під тіопенталовим наркозом, забираючи кров із серця до його зупинки. Тварин, що отримували мексидол за умов непорушеного гомеостазу, виводили з експерименту аналогічно. Інтактні щури на початку експерименту (об'єднана група для всіх серій дослідів) були контролем. Гострий стрес без фармакологічної корекції розглядали як контрольну патологію.

Загальну кількість каріоцитів (цитоз) у кістковому мозку стегнової кістки щурів досліджували за методом П. Д. Горизонтова і співавторів (1983 р.), використовуючи весь орган, гомогенізований у 5 % розчині оцтової кислоти, і підраховуючи каріоцити в камері Горяєва [7]. Мазки кісткового мозку фіксували та фарбували за Паппенгеймом [8], після чого вивчали мієлограму, звертаючи основну увагу на вміст клітин еритроїдного ряду, які ідентифікували за їхніми морфологічними ознаками [9]. Одержаний цифровий матеріал статистично обробляли за допомогою стандартних комп'ютерних програм Microsoft Excel.

Результати та їх обговорення. У ході відтворення контрольної патології було встановлено, що через 3 год від початку дії стресорного фактора загальна кількість каріоцитів у кістковому мозку

стегнової кістки білих щурів не відрізняється від контролю (табл. 1). На рівні показників інтактних тварин знаходиться кількість еритробластів та нормобластів, а число пронормобластів зростає в 1,3 разу ($P < 0,001$). При цьому сума всіх еритроїдних клітин суттєво не змінилася.

Через 24 год від початку дії стресорного фактора загальна кількість мієлокаріоцитів була підвищеною ($P < 0,001$) порівняно з вихідними показниками (табл. 1). У кістковому мозку спостерігали високий вміст лімфоїдних елементів ($89,2 \pm 5,0$) $\cdot 10^6$ клітин порівняно з таким у контролі ($42,3 \pm 3,7$) $\cdot 10^6$ клітин ($P < 0,001$). На цьому фоні зростає як кількість еритробластів і пронормобластів ($P < 0,001$), так і сукупна чисельність усіх еритроїдних елементів ($P < 0,05$).

Через 48 год від початку стресу загальна кількість мієлокаріоцитів знижується й наближується до початкового рівня (табл. 1), однак у мієлограмах зберігається підвищення кількості ери-

тробластів у 1,7 разу ($P < 0,05$), пронормобластів – у 1,7 разу ($P < 0,001$) та загальної кількості еритроїдних клітин – у 1,2 разу ($P < 0,05$) порівняно з аналогічними показниками в контролі.

Через 5 діб загальна кількість каріоцитів у кістковому мозку щурів перевищує початковий рівень у 1,4 разу ($P < 0,001$) (табл. 1). Має місце суттєве зростання як сукупної кількості еритроїдних клітин у 1,8 разу ($P < 0,001$), так і окремих їхніх видів, зокрема, кількість еритробластів збільшується в 3,4 разу ($P < 0,001$), пронормобластів – у 2,4 разу ($P < 0,001$), нормобластів – у 1,7 разу ($P < 0,001$) порівняно з контролем. Зазначені процеси відбуваються одночасно з активацією гранулоцитарного ростка, про що свідчить висока кількість бластних ($15,2 \pm 0,4$) $\cdot 10^6$ клітин юних ($20,3 \pm 1,2$) $\cdot 10^6$ клітин та зрілих клітин цього ряду ($56,4 \pm 3,3$) $\cdot 10^6$ порівняно з контролем, де зазначені показники відповідно становлять ($10,0 \pm 0,7$) $\cdot 10^6$ клітин, ($9,9 \pm 0,6$) $\cdot 10^6$ клітин та ($38,3 \pm 1,8$) $\cdot 10^6$ клітин.

Таблиця 1

Загальна кількість каріоцитів і клітинний склад кісткового мозку стегнової кістки щурів при корекції мексидолом гострого іммобілізаційного стресу ($M \pm m$)

Термін спостережень	Характер впливу	Кількість каріоцитів, 10^6 клітин					
		мієлокаріоцити (усього)	еритробласти	пронормобласти	нормобласти	еритроїдні клітини	інші клітини
Початок	Інтактні (15)	150,5 $\pm 4,8$	0,6 $\pm 0,1$	3,3 $\pm 0,1$	34,9 $\pm 2,0$	38,8 $\pm 2,2$	111,7 $\pm 4,6$
3 год	Стрес (8)	142,5 $\pm 11,3$	0,5 $\pm 0,1$	4,3 $\pm 0,2^*$	28,0 $\pm 2,9$	32,6 $\pm 2,9$	109,7 $\pm 9,8$
	Стрес + мексидол (8)	113,2 $\pm 3,0^{**}$	0,5 $\pm 0,1$	4,1 $\pm 0,2$	23,9 $\pm 1,2$	28,6 $\pm 1,4$	84,7 $\pm 2,8^{**}$
24 год	Стрес (7)	196,1 $\pm 5,7^*$	0,9 $\pm 0,1^*$	5,1 $\pm 0,2^*$	39,1 $\pm 1,4$	45,1 $\pm 1,5^*$	151,0 $\pm 5,7^*$
	Стрес + мексидол (7)	166,1 $\pm 4,0^{**}$	0,6 $\pm 0,1^{**}$	3,7 $\pm 0,2^{**}$	32,3 $\pm 0,8^{**}$	36,6 $\pm 1,0^{**}$	129,5 $\pm 3,8^{**}$
48 год	Стрес (6)	155,8 $\pm 4,5$	1,0 $\pm 0,1^*$	5,1 $\pm 0,2^*$	39,1 $\pm 1,5$	45,2 $\pm 1,6^*$	110,6 $\pm 4,4$
	Стрес + мексидол (6)	130,8 $\pm 3,1^{**}$	0,6 $\pm 0,1^{**}$	4,0 $\pm 0,2^{**}$	34,6 $\pm 1,6^{**}$	39,2 $\pm 1,7^{**}$	91,6 $\pm 3,3^{**}$
5 діб	Стрес (6)	213,3 $\pm 6,1^*$	2,0 $\pm 0,25^*$	7,8 $\pm 0,5^*$	58,8 $\pm 2,8^*$	68,6 $\pm 3,5^*$	144,7 $\pm 5,9^*$
	Стрес + мексидол (6)	151,3 $\pm 4,0^{**}$	0,8 $\pm 0,07^{**}$	3,7 $\pm 0,2^{**}$	29,7 $\pm 1,2^{**}$	34,2 $\pm 1,4^{**}$	117,1 $\pm 4,2^{**}$

Примітка. Тут і в табл. 2: 1) У дужках наведено кількість спостережень; 2) $^*P < 0,05$ порівняно з контролем (інтактні тварини); $^{**}P < 0,05$ порівняно з контрольною патологією.

На фоні введення мексидолу через 3 год від початку стресу загальна кількість мієлокаріоцитів знижується в 1,3 разу ($P < 0,05$) порівняно зі стресом без введення препарату (табл. 1). Це зменшення цитозу кісткового мозку стегнової кістки білих щурів не позначається на кількості еритроїдних клітин і виникає за рахунок зменшення кількості лімфоцитів та інших лімфоїдних елементів, число яких становить $(18,2 \pm 2,5) \cdot 10^6$ клітин порівняно з $(40,6 \pm 6,4) \cdot 10^6$ клітин при стресі без фармакокорекції ($P < 0,05$).

Через 24 год мексидол викликає зниження цитозу кісткового мозку в 1,2 разу ($P < 0,001$) порівняно з патологічним фоном, що супроводжується зменшенням кількості еритробластів ($P < 0,01$), пронормобластів ($P < 0,001$), нормобластів ($P < 0,01$) та їх сукупної кількості ($P < 0,05$) (табл. 1). Під впливом препарату в термін 48 год від початку стресу зміни цитозу й клітинного складу кісткового мозку аналогічні таким у попередній термін спостережень.

Після введення мексидолу стан кісткового мозку тварин через 5 діб розвитку стрес-синдрому характеризується нижчим у 1,4 разу ($P < 0,001$) цитозом порівняно зі стресом без фармакокорекції (табл. 1). При цьому кількість еритробластів, пронормобластів і нормобластів менші за такі при контрольній патології в 2,7 разу ($P < 0,001$), 2,1 разу ($P < 0,001$) та 2 рази ($P < 0,001$) відповідно, а сукупна кількість еритро-

їдних клітин удвічі нижча за таку в групі зі стресом без фармакокорекції ($P < 0,001$).

Аналогічним чином препарат діє й на гранулоцитопоез. При його застосуванні в термін 5 діб кількість бластних, юних та зрілих клітин гранулоцитарно-моноцитарного ряду відповідно становить $(8,4 \pm 0,2) \cdot 10^6$ клітин, $(9,9 \pm 0,4) \cdot 10^6$ клітин та $(47,3 \pm 1,1) \cdot 10^6$ клітин на відміну від $(15,2 \pm 0,4) \cdot 10^6$ клітин, $(20,3 \pm 1,2) \cdot 10^6$ клітин та $(56,4 \pm 3,3) \cdot 10^6$ клітин при стресі без фармакологічної корекції ($P < 0,001$). Виявлений розвиток процесів свідчить, що мексидол запобігає активації медулярного еритропоезу та грануломоноцитопоезу в постстресорному періоді.

Після введення мексидолу інтактним щурам також спостерігається певна реакція мієлоїдної тканини. Зокрема, через 3 год після введення мексидолу в кістковому мозку білих щурів зменшується представництво нормобластів ($P < 0,05$) порівняно з контролем (табл. 2). Через 24 год після ін'єкції препарату зростає загальна кількість каріоцитів у кістковому мозку тварин на 13 % ($P < 0,05$), але сукупна кількість еритроїдних клітин та їхніх окремих видів лишається на рівні контролю. У наступний термін спостережень цитоз кісткового мозку на 14 % менший за контроль ($P < 0,05$), що супроводжується вірогідним зниженням суми еритроїдних клітин. Зазначене спрямування змін кількості клітин еритроїдного ряду зберігається

Таблиця 2

Загальна кількість каріоцитів і клітинний склад кісткового мозку стегнової кістки при введенні мексидолу інтактним щурам ($M \pm m$)

Термін спостережень	Характер впливу	Кількість каріоцитів, 10^6 клітин					
		мієлокаріоцити (усього)	еритробласти	пронормобласти	нормобласти	еритроїдні клітини (усього)	інші клітини
Початок	Інтактні (15)	150,5 $\pm 4,8$	0,6 $\pm 0,1$	3,3 $\pm 0,1$	34,9 $\pm 2,0$	38,8 $\pm 2,2$	111,7 $\pm 10,4$
3 год	Мексидол (6)	135,0 $\pm 14,2$	0,5 $\pm 0,1$	3,1 $\pm 0,2$	28,0 $\pm 2,6^*$	31,6 $\pm 2,8$	103,4 $\pm 13,6$
24 год	Мексидол (7)	170,4 $\pm 5,5^*$	0,6 $\pm 0,1$	3,4 $\pm 0,2$	34,1 $\pm 1,3$	38,2 $\pm 1,4$	132,2 $\pm 7,6$
48 год	Мексидол (5)	131,7 $\pm 6,4^*$	0,5 $\pm 0,1$	3,0 $\pm 0,1$	30,3 $\pm 0,9$	33,4 $\pm 0,9^*$	97,9 $\pm 11,0$
5 діб	Мексидол (5)	130,5 $\pm 10,4$	0,5 $\pm 0,1$	3,0 $\pm 0,2$	28,5 $\pm 1,4^*$	31,5 $\pm 2,5^*$	101,5 $\pm 9,8$

й через 5 діб після введення препарату (табл. 2). Таким чином, одноразове введення мексидолу інтактним щурам протягом наступних 5 діб викликає певні зміни цитозу кісткового мозку (через 24–48 год) та зменшує кількість еритроїдних клітин та/або нормобластів в окремі терміни експерименту (через 3 год, 48 год та 5 діб), але ці зрушення значно менші (не виходять за межі 20 %) за ефект препарату при гострому іммобілізаційному стресі.

Як бачимо, мексидол запобігає пост-стресорній активації еритро-грануло-моноцитопоезу в кістковому мозку, що є особливо виразним через 5 діб після іммобілізації тварин, коли має місце стадія резистентності загального адаптаційного синдрому для даної моделі стресу [7]. Це пояснює раніше описані нами дані про те, що профілактичне введення мексидолу сприяє підтриманню нормальної кількості еритроцитів та гемоглобіну за цих умов [6]. Виходячи з сучасних уявлень про регуляцію еритропоезу [10], можна припустити, що досліджений препарат при іммобілізаційному стресі зменшує гіпоксію та гіперкатехолемію за рахунок своєї антиоксидантної, антигіпоксикантної та анксиолітичної дії [5, 11], що, у свою чергу, знижує рівень фактора, який індукується гіпоксією (HIF-1 α), та активацію β -адренорецепторів еритропоетин-синтезуючих клітин нирок і, відповідно, гальмує зазначені шляхи трансдукції еритропоетину [12]. Важливим компонентом запобіжного впли-

ву мексидолу стосовно постстресорної активації гемопоезу може бути гальмування ним «лімфоїдного піка» у кістковому мозку в стадії тривоги стрес-синдрому за рахунок зниження рівня гормонів стресу, а також дія на гемопоез-індукуюче мікрооточення, пов'язана з елімінацією активних метаболітів кисню в мієлоїдній тканині. Привертає увагу наявність у мексидолу певного впливу на кістковий мозок інтактних тварин, що, імовірно, опосередковане антирадикальними властивостями та потребує подальшого дослідження.

Висновки

1. Мексидол (100 мг/кг) при гострому іммобілізаційному стресі запобігає посиленню медулярного еритро- та грануломоноцитопоезу, що підтверджується меншими значеннями загальної кількості каріоцитів протягом 5 діб постстресорного періоду, представництва еритроїдних клітин різного ступеня зрілості, починаючи з 24 год, та клітин грануло-моноцитарного ряду через 5 діб після стресу порівняно з контрольною патологією.

2. Одноразове введення мексидолу (100 мг/кг) інтактним щурам протягом наступних 5 діб викликає зміни показників цитозу кісткового мозку (через 24–48 год) та зменшує кількість еритроїдних клітин та/або нормобластів в окремі терміни експерименту, що за виразністю та закономірністю свого прояву поступається ефектам препарату при гострому іммобілізаційному стресі.

1. Воронина Т. А. Мексидол. Основные эффекты, механизм действия, применение / Т. А. Воронина. – М., 2005. – 20 с.
2. Клебанов Г. И. Антиоксидантная активность ингибиторов свободно-радикальных реакций, используемых в перевязочном материале для лечения ран / Г. И. Клебанов, О. Б. Любичкий, С. Е. Ильина // Биомедицинская химия. – 2006. – Т. 52, № 1. – С. 69–82.
3. Влияние мексидола на пострадикационное восстановление кроветворной системы / Б. Б. Мороз, Ю. Б. Дешевой, Г. В. Сукоян [и др.] // Радиационная биология. Радиозекология. – 2009. – Т. 49, № 1. – С. 90–96.
4. Влияние мексидола на миелосупрессивную токсичность, а также на противоопухолевую и антиметастатическую эффективность циклофосфана / А. В. Сипров, В. И. Инчина, А. С. Кинзирский [и др.] // Вопросы онкологии. – 2007. – Т. 53, № 6. – С. 711–714.
5. Важничая Е. М. Ноотропы и система крови в условиях стресса / Е. М. Важничая, Т. А. Девяткина. – Полтава: Полимет, 2002. – 160 с.
6. Девяткина Т. А. Регуляторное действие мексидола на уровень гемоглобина при остром стрессе / Т. А. Девяткина, Е. М. Важничая, Н. А. Олейник // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2007. – Т. 70, № 5. – С. 24–26.
7. Горизонтов П. Д. Стресс и система крови / П. Д. Горизонтов, О. И. Белоусова, М. И. Федотова. – М.: Медицина, 1983. – 240 с.

8. Руководство к практическим занятиям по клинической лабораторной диагностике / [М. А. Базарнова, В. Т. Морозова, И. Н. Заика и др.]; под. ред. М. А. Базарновой, В. Т. Морозовой. – К.: Выш. шк., 1988. – 318 с.
9. Гаврилов О. К. Клетки костного мозга и периферической крови / О. К. Гаврилов, Г. И. Козинец, Н. Б. Черняк – М.: Медицина, 1985. – 286 с.
10. Franklin Bunn H. New agents that stimulate erythropoiesis / H. Franklin Bunn // Blood. – 2007. – V. 109, № 3. – P. 868–873.
11. Яснецов В. В. Исследование противогипоксических и антиамнестических свойств мексидола и семакса / В. В. Яснецов, Т. А. Воронина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2010. – Т. 73, № 4. – С. 2–7.
12. Regulation of iron homeostasis by the hypoxia-inducible transcription factors (HIFs) / C. Peyssonnaud, A. S. Zinkernagel, R.A. Schuepbach [et al.] // J. Clin. Invest. – 2007. – V. 117, № 7. – P. 1926–1932.

Н. А. Власенко

Действие мексидола на постстрессорную активацию эритро- и грануломоноцитопоза в костном мозге крыс

В экспериментах на белых крысах-самцах моделировали острый иммобилизационный стресс по Н. Селье. 2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат (мексидол) в дозе 100 мг/кг вводили животным внутривенно за 30 мин до стрессорного воздействия. В динамике постстрессорного периода определяли общее количество кариоцитов (цитоз) и содержание их отдельных популяций в костном мозге. Показано, что мексидол предупреждает усиление медулярного эритро-грануло-моноцитопоза, что характеризуется меньшими значениями цитоза на протяжении 5 суток постстрессорного периода, числа эритроидных клеток разной степени зрелости, начиная с 24 ч, и клеток грануломоноцитарного ряда через 5 суток после стресса. Введение препарата intactным крысам вызывает изменения цитоза костного мозга (через 24–48 ч) и уменьшает количество эритроидных клеток и/или нормобластов в отдельные сроки эксперимента, что по выраженности уступает эффектам мексидола при остром иммобилизационном стрессе.

Ключевые слова: мексидол, стресс, костный мозг, эритропоз, грануломоноцитопоз

N. O. Vlasenko

Mexidol's action on post stress activation of erythro- and granulomonocytopoiesis in rat's bone marrow

Acute immobilization stress by H. Selye was modeled in experiments on albino male rats. 2-ethyl-6-methyl-3-oxypyridine succinate (mexidol) was administered to animals in a dose 100 mg/kg intraperitoneally 30 min before stress exposure. During the dynamics of post-stress period common count of caryocytes (cytosis) and content of some their populations were determined in bone marrow. It is shown that mexidol prevents the activation of medullary erythro-granulo-monocytopoiesis that characterized by lower means of cytosis during 5 days of post-stress period as well as decreased amounts of erythroid cells of different degree of maturity later than 24 hrs and cells of granulo-monocytic line 5 days after the stress. Drug's administration to intact rats produces fluctuations of bone marrow cytosis (24–48 hrs after the injection) and diminishes the amount of all erythroid cells and/or normoblasts in some terms of the experiment that concedes in its expressiveness mexidol's effects in acute immobilization stress.

Key words: mexidol, stress, bone marrow, erythropoiesis, granulo-monocytopoiesis

Надійшла: 26.12.2012 р.

Контактна особа: Власенко Наталія Олександрівна, асистент, кафедра експериментальної та клінічної фармакології, ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», вул. Шевченка, буд. 23, м. Полтава, 36024. Тел.: + 38 (0532) 56-20-59. Електронна пошта: vazhnychaya@ukr.net

Н. І. Волощук, Д. В. Дмитрієв

Гендерні відмінності аналгезуючої дії кеторолаку та трамадолу в експерименті та клініці

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова

Ключові слова: полові відмінності, аналгезія, трамадол, кеторолак

Персоніфікована фармакотерапія больового синдрому потребує врахування як екзо-, так і ендогенних чинників, що формують відповідь організму на лікарський засіб. Статевий диморфізм займає важливе місце в низці цих факторів. У літературі описано існування гендерних відмінностей як у сприйнятті больового відчуття, реакції організму на біль, а також і в ефекті знеболювальних лікарських засобів із різними механізмами дії [8, 10, 14]. Раніше нами також було показано існування статевої різниці у фармакодинаміці багатьох нестероїдних протизапальних засобів із переважанням величини та тривалості знеболюючого ефекту в самок щурів порівняно із самцями [2]. Однак питання, чи існують статеві відмінності для аналгезуючих препаратів з іншими механізмами дії, у тому числі з впливом на опіоїдні рецептори, залишається до кінця не з'ясованим. Невідомо також, чи зіставляються результати експериментальних досліджень на лабораторних тваринах (щурах) із такими в клініці, оскільки дослідження гендерних відмінностей у дії препаратів за клінічних умов супроводжуються значними труднощами, як суто медичного, так і етичного та психологічного характеру.

Мета дослідження – вивчити статеву різницю аналгезуючого ефекту кеторолаку та трамадолу в експериментах на щурах, та зіставити отримані дані із результатами дослідження відмінностей у знеболювальній дії цих лікарських засобів у пацієнтів різної статі після оперативних втручань.

Матеріали та методи. Експериментальну частину дослідження виконано

на 42 самцях і самках білих статевозрілих щурів, отриманих із науково-експериментальної клініки Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова. Усі етапи дослідження проводили згідно з правилами гуманного відношення до експериментальних тварин. Тварин утримували в стандартних умовах (12 годинний світло-тіньовий режим та вільний доступ до води та їжі), згідно з передбаченими нормами. Аналгезуючу дію визначали на моделі електричного подразнення слизової оболонки прямої кишки [3]. За поріг больової чутливості (ПБЧ) приймали таку напругу електричного струму, яка викликала ноцицептивну реакцію в щурів. Порівнювали вихідні значення ПБЧ (перед уведенням) та зміни його через 1, 2, 4 та 6 год після введення препаратів. Тваринам дослідних груп одноразово внутрішньочеревинно вводили неопіоїдний аналгетик кеторолак («Кетанов», «Ranbaxy Laboratories Limited»), 10 мг/кг, та агоніст опіоїдних рецепторів, трамадол (АО «Словакофарма»), 15 мг/кг. Контрольні щури отримували еквівалентну кількість дистильованої води.

Клінічну частину роботи проведено у вигляді наглядного спостереження, до якого було залучено 60 хворих пубертатного віку 14–16 років (середній вік $15,3 \pm 1,2$ роки). З них дівчаток – 29 та хлопчиків – 31. Усі пацієнти знаходилися на лікуванні у Вінницькій обласній дитячій клінічній лікарні. Усі хворі були поінформовані щодо мети проведення анестезії препаратами та об'єму біохімічних досліджень, було отримано їхню згоду та згоду батьків. Хворі прооперовані за умов загальної анестезії. Групи пацієнтів суттєво не відрізнялися за кількістю, важкістю стану, за віковими, клінічними показниками та ступенем анестезіологічного

ризик за шкалою Американської спілки анестезіологів (ASA), яка відповідає 2 ступеню (у середньому 1,7 бала).

Премедикацію проводили за 30–40 хв до початку операції, у всіх випадках внутрішньом'язово вводили діазепам та атропін у стандартних дозуваннях. Оперативні втручання проводили з використанням пропофолу, дозу якого розраховували відповідно до віку. Препарат вводили повільно (за 30–40 с) у периферичну вену верхньої кінцівки. Підтримка анестезії здійснювалася безперервною інфузією пропофолу за схемою «step-down» [4]. Для забезпечення адекватної анестезіологічної підтримки в післяопераційному періоді всім хворим, згідно з клінічними протоколами, було призначено анальгетичні препарати. Одна група пацієнтів (15 дівчаток та 17 хлопчиків) отримувала на першу добу – кеторолак по 30 мг в/м 2 рази на добу через 1 та 12 год після операції, на другу добу – 30 мг в/м одноразово. У випадку недостатнього рівня анальгезії призначали премодел. Хворі другої групи (14 дівчаток та 15 хлопчиків) в аналогічні терміни для післяопераційного знеболення отримували трамадол (50 мг в/м). Інтенсивність больового синдрому та адекватність анальгезії оцінювали відразу після екстубації трахеї та протягом 3-х діб після операції кожні 4 год за 5-бальною вербальною шкалою (ВШ): 0 – відсутність болю; 1 – слабкий біль при кашлі та глибокому вдиху, відсутність болю в спокої; 2 – помірний біль при кашлі та глибокому вдиху, слабкий біль у спокої; 3 – помірний біль при кашлі та глибокому вдиху; 4 – сильний біль при кашлі та глибокому вдиху, сильний

біль у спокої. Знеболюючу дію оцінювали також за 10-бальною візуально-аналоговою шкалою (ВАШ) (рис. 1). Оцінку за шкалами проводили в спокої та при кашлі [5]. Додаткові докази адекватності анальгезії отримували при дослідженні рівня глікемії, який визначали глюкозооксидазним методом.

Статистичну обробку отриманих даних проводили із застосуванням методів варіаційної статистики з використанням критерію Ст'юдента. Вірогідними вважали відмінності при $P \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. Дослідження знеболюючого ефекту кеторолаку та трамадолу у тварин різної статі, результати яких представлені в таблиці 1, показали, що самки щурів виявились більш чутливими, ніж самці до анальгезуючої дії як ненаркотичного анальгетика кеторолака, так і агоніста опіоїдних рецепторів трамадолу. Так, через 1, 2, 4 та 6 год після введення кеторолаку, антиноцицептивний ефект у самок був більшим, ніж у самців у 1,6, 1,5, 1,6 та 2,2 разу ($P < 0,05$) відповідно. Подібна тенденція зареєстрована й щодо трамадолу: ступінь знеболюючої дії цього препарату в самок в аналогічні терміни дослідження був в 1,6, 1,7, 2,1 і 1,9 разу більшим ($P < 0,05$), ніж у тварин протилежної статі. Переважання антиноцицептивної дії в самок щурів ставало більшим зі збільшенням терміну дослідження. Тобто, знеболюючий ефект цих препаратів у самок був не тільки більш сильним, але й більш тривалим, ніж у тварин протилежної статі.

Клінічні спостереження в дітей пубертатного віку підтвердили дані щодо переважання анальгезуючої дії

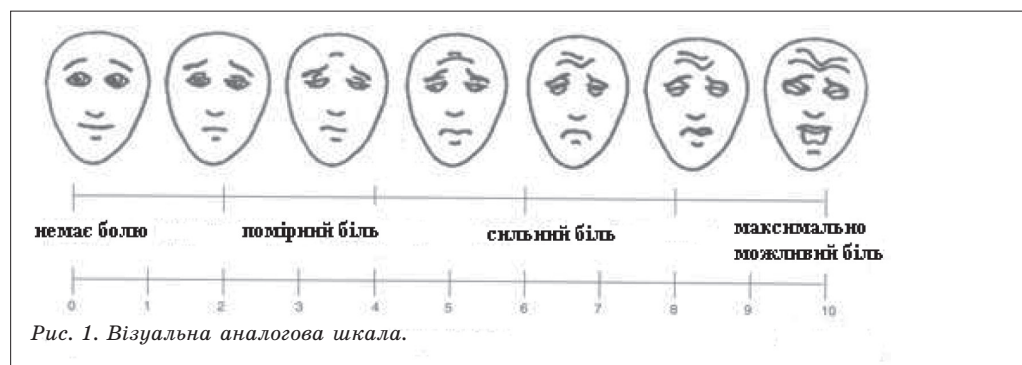


Рис. 1. Візуальна аналогова шкала.

Поріг больової чутливості (ПБЧ) у самців і самок щурів при електричному подразненні прямої кишки під впливом аналгезуючих засобів (% від вихідного рівня), $M \pm t$

Експериментальні групи	Час після введення препарату			
	1 год	2 год	4 год	6 год
Контроль n=7				
Самці	2,2±0,4	1,0±0,2	0,0±0,0	1,19±1,19
Самки	0,90±0,89	0,0±0,0	0,90±0,89	1,20±1,19
Кеторолак (10 мг/кг внутрішньоочеревинно), n = 15				
Самці	21,50±3,20	27,80±3,53	28,00±3,24	9,50±0,65
Самки	35,10±4,21*	42,40±5,14*	43,60±4,46*	20,70±4,38*
Трамадол (15 мг/кг внутрішньоочеревинно), n = 20				
Самці	27,90±2,50	27,30±3,92	15,20±3,68	8,90±1,54
Самки	45,20±8,10*	45,80±7,41*	31,60±5,86*	17,30±2,45*

Примітка. *Статистично вірогідні відмінності ($P < 0,05$) між самцями та самками.

препаратів у осіб жіночої статі. Встановлено, що до початку введення препаратів ступінь больової перцепції в хлопчиків був більшим, ніж у дівчат у 1,3 разу, і становив у середньому за шкалою ВАШ 8,1 проти 6,3 бала, а за шкалою ВШ – у середньому 4,3 бала в хлопчиків та 3,8 бала в дівчат. Призначення в післяопераційному періоді кеторолаку зменшувало інтенсивність больового синдрому в стані спокою та при кашлі в осіб обох статей, однак більш виразна аналгезія відмічена в дівчат. Так, за шкалою ВАШ, інтенсивність больового синдрому на 1, 4, 12, 24 та 48 год після введення препарату в дівчат була меншою від вихідного рівня на 46,0, 50,7, 41,6, 39,7 та 31,7 % відповідно, тоді як у хлопчиків цей показник в аналогічні терміни дослідження зменшувався лише на

33,3, 23,5, 19,8, 17,3 та 11,1 % відповідно (рис. 2).

За показником ВШ, переважання аналгезії, викликаной кеторолаком, у осіб жіночої статі у вищезазначені терміни дослідження становило 1,7, 2,0, 2,5, 2,7 та 2,7 разу (рис. 3).

Протягом першої доби спостереження додаткового введення промедолу потребували 12 % дівчат та 26 % хлопчиків, а на 2 добу – 28 % дівчат та 38 % хлопчиків із групи пацієнтів, які отримували кеторолак.

При післяопераційному знеболенні трамаолом була зареєстрована подібна закономірність. Опіодний аналгетик викликав більш виразну та тривалу антиноцицепцію в осіб жіночої статі. Так, через 1, 4, 12, 24 та 48 год після введення трамадолу інтенсивність болю в осіб чоловічої статі була в 1,76, 1,88,

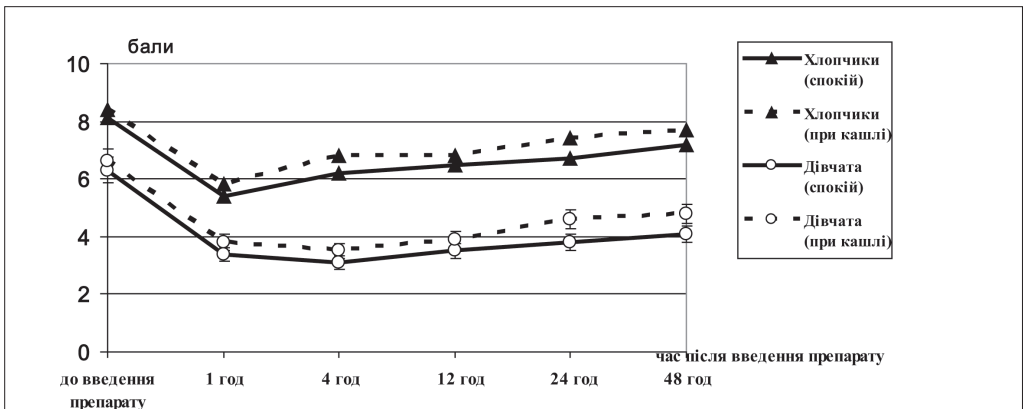


Рис. 2. Динаміка аналгезуючої дії кеторолаку в хлопчиків та дівчат у післяопераційному періоді (інтенсивність больового синдрому за ВАШ).

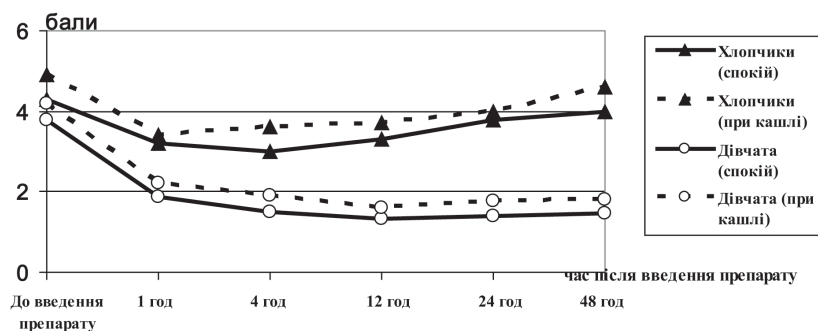


Рис. 3. Динаміка анальгезуючої дії кеторолаку в хлопчиків та дівчат у післяопераційному періоді (інтенсивність больового синдрому за ВШ).

2,75, 2,9 та 1,86 разу більшою, ніж у жіночої (рис. 4). За вербальною шкалою в аналогічні терміни дослідження це переважання становило 2,5, 2,0, 2,5, 2,6, та 2,6 разу відповідно (рис. 5).

Призначення промедолу для досягнення адекватного знеболення потребували 20 % і 28 % хлопчиків відповідно у першу та другу добач спостереження, і лише 18 % та 21 % дівчат.

Додаткові докази більш виразної знеболюючої дії досліджуваних препаратів у осіб жіночої статі отримано при

визначенні рівнів гіперглікемії, що є одним з показників стресової реакції, у тому числі й больової. Виявилося, що зростання рівня глікемії як віддзеркалення больової перцепції внаслідок зменшення анальгезуючого ефекту лікарських засобів було більш виразним у хворих чоловічої статі порівняно з хворими жіночої. Це спостерігалось як при застосуванні опіоїдного, так і неопіоїдного аналгетика. Так, після знеболення кеторолаком не було виявлено вірогідного зростання рівня глю-

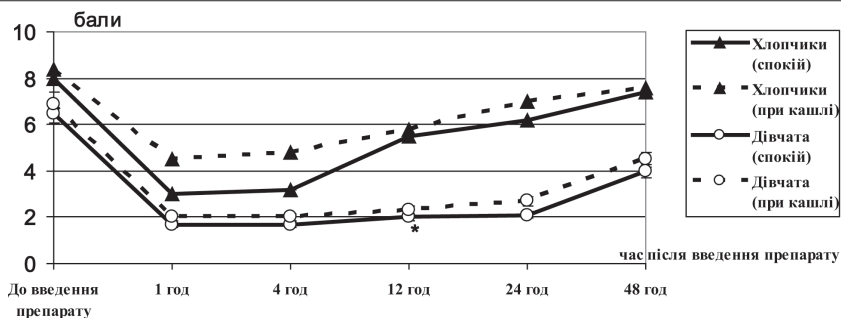


Рис. 4. Динаміка анальгезуючої дії трамадолу в хлопчиків та дівчат у післяопераційному періоді (інтенсивність больового синдрому за ВАШ).

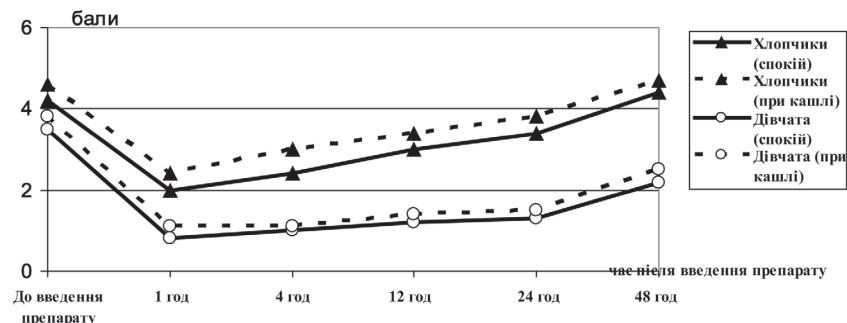


Рис. 5. Динаміка анальгезуючої дії трамадолу в хлопчиків та дівчат у післяопераційному періоді (інтенсивність больового синдрому за ВШ).

Рівень глюкози (ммоль/л) у хлопчиків та дівчаток у перед- та післяопераційному періоді ($M \pm m$)

	До операції	Час після операції, год				
		1	4	12	24	48
Знеболення кеторолаком						
Хлопчики	5,0±0,3	5,1±0,5	5,4±0,2	6,0±0,4*	7,4±0,4*	7,8±0,2*
Дівчатка	5,2±0,2	5,1±0,3	5,0±0,5	5,4±0,2	6,0±0,2*	6,1±0,4*
Знеболення трамадолом						
Хлопчики	5,5±0,1	5,2±0,2	5,8±0,4	6,1±0,2*	6,7±0,2*	7,1±0,4*
Дівчатка	5,4±0,3	5,0±0,2	5,1±0,3	5,5±0,2	5,9±0,5	6,7±0,3*

Примітка.* $P \leq 0,05$ порівняно з доопераційним рівнем у пацієнтів відповідної статі.

кози відносно доопераційного рівня в дівчат протягом перших термінів дослідження. І лише через 24 та 48 год досліджуваний показник зростав на 15,4 та 17,3 %, відповідно. На противагу цьому, спостерігали вірогідне зростання середніх рівнів глюкози крові хлопчиків через 12, 24 та 48 год на 20,0, 48,0 та 56,0 % відповідно порівняно з доопераційним рівнем (табл. 2). Застосування трамадолу для післяопераційного знеболювання супроводжувалося зростанням біохімічного стрес-маркера на 9,3 та 12,9 % на 24 та 48 год у дівчаток, у хлопчиків це зростання починалося з 12 год і було більшим (10,9, 21,8 та 29,1 % відповідно).

Виявлені гендерні відмінності сили та тривалості антиноцицептивної дії неопіоїдного аналгетика кеторолака, переважання його фармакологічного ефекту в особин жіночої статі пов'язано, головним чином, із статевою різницею процесів його біотрансформації, зокрема, більшої активності в особин цієї статі ферментних систем підроддини цитохрому CYP2C9/CYP2C19, які забезпечують метаболічні перетворення препарату в печінці тварин і людей [1, 9, 11].

Стосовно наркотичного аналгетика трамадолу, на нашу думку, процеси біотрансформації не відіграють вирішальної ролі у формуванні статевих відмінностей дії цього препарату: більш

висока активність у печінці жінок CYP2D6 (головного метаболізатора трамадолу [6, 12]) практично нівелюється більш активним процесом деметилування трамадолу та накопичення його активного метаболіту О-деметилтрамадолу в печінці особин чоловічої статі [13]. Більш виразна дія його в жіночому організмі може бути наслідком більшої кількості опіоїдних рецепторів у головному мозку жінок, як це було показано W. M. Davis [7].

Таким чином, комплексне вивчення індивідуальних реакцій больової поведінки, лабораторних стресових тестів показало, що аналгетична дія опіоїдних та неопіоїдних лікарських засобів (трамадолу та кеторолаку) є більш виразною в осіб жіночої статі, ніж чоловічої, що підтверджується зникненням стресової післяопераційної реакції в дівчаток пубертатного віку (стабілізація рівня глюкози та менш виразні реакції больової поведінки) на всіх етапах дослідження. Ці результати відповідають характеру гендерних відмінностей аналгезуючої дії досліджуваних препаратів у тварин. Подальші експериментальні дослідження на лабораторних щурах можуть бути використані для визначення гендерних особливостей фармакодинаміки та фармакокінетики препаратів зі знеболюючим ефектом.

1. Волощук Н. И. Половые различия антиноцицептивного эффекта некоторых ненаркотических анальгетиков у крыс: роль биотрансформации / Н. И. Волощук, А. А. Пентюк, А. Н. Дурнев // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2005. – № 4. – С. 56–60.
2. Волощук Н. И. Залежність фармакологічного ефекту та гастротоксичності нестероїдних протизапальних препаратів від рівня статевих гормонів у щурів / Н. И. Волощук // Фармакологія та лікарська токсикологія – 2009. – № 6 (13). – С. 32–39.
3. Гацура В. В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ / В. В. Гацура. – М.: Медицина, 1974. – 142 с.

4. Лекманов А. У. Тотальная внутривенная анестезия на основе пропофола в педиатрической анестезиологии / А. У. Лекманов, Е. М. Розанов // Вестник интенсивной терапии.– 1999.– № 4.– С 44–48.
5. Assessment of pain / H. Breivik, P. C. Borchgrevink, S. M. Allen [et al.] // British Journal of Anaesthesia.– 2008.– V. 101, № 1.– P. 17–24.
6. Concordance between tramadol and dextromethorphan parent/metabolite ratios: the influence of CYP2D6 and non-CYP2D6 pathways on biotransformation / S. M. Abdel-Rahman, J. S. Leeder, J. T. Wilson [et al.] // J. Clin. Pharmacol.– 2002.– V. 42, № 1.– P. 24–29.
7. Davis W. M. Impact of gender on drug responses / W. M. Davis, B. S. Pharm // Drug topics.– 1998.– P. 91–101.
8. Gender role affects experimental pain responses: A systematic review with meta-analysis / O. A. Alabas, O. A. Tashani, G. Tabasam [et al.] // Eur. J. Pain.– 2012.– P. 1532–2149.
9. Goldstein J. A. Clinical relevance of genetic polymorphisms in the human CYP2C subfamily / J. A. Goldstein // Br. J. Clin. Pharmacol.– 2001.– V. 52, № 4.– P. 349–355.
10. Miyazaki R. Sex and/or gender differences in pain / R. Miyazaki, T. Yamamoto // Masui.– 2009.– V. 58, № 1.– P. 34–39.
11. Orme M. L. The relationship between the plasma concentration of non-steroidal anti-inflammatory drugs and their therapeutic effects / M. L. Orme // Agents Actions Suppl.– 1985.– V. 17.– P. 151–155.
12. Pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling of the antinociceptive effects of (+)-tramadol in the rat: role of cytochrome P450 2D activity / M. J. Garrido, O. Sayar, C. Segura [et al.] // J. Pharmacol. Exp. Ther.– 2003.– V. 305, № 2.– P. 710–718.
13. Pharmacokinetics of the enantiomers of trans-tramadol and its active metabolite, trans-O-demethyltramadol, in healthy male and female chinese volunteers / L. Hui-Chen, Y. Yang, W. Na [et al.] // Chirality.– 2004.– V. 16, № 2.– P. 112–118.
14. The influence of age, gender and socio-economic status on multimorbidity patterns in primary care. First results from the multicare cohort study / I. Schafer, H. Hansen, G. Schon [et al.] // BMC Health Serv. Res.– 2012.– V. 3.– P. 12–89.

Н. И. Волощук, Д. В. Дмитриев

Гендерные различия анальгезирующего действия кеторолака и трамадола в эксперименте и клинике

В экспериментах на модели электрического раздражения установлено, что у самок крыс по сравнению с самцами более выражен анальгезирующий эффект кеторолака и трамадола. Подобный профиль гендерных различий был установлен также при послеоперационном обезболивании исследуемыми препаратами у пациентов, что подтверждается как лабораторными стресс-тестами (стабилизация уровня глюкозы), так и индивидуальными реакциями болевого поведения (визуально-аналоговой и вербальной шкалой).

Ключевые слова: половые различия, анальгезия, трамадол, кеторолак

N. I. Voloshchuk, D. V. Dmytriiev

Gender differences of analgesic effect of ketorolac and tramadol in experiment and clinic

In experiments on model of electric irritation was established more intensive analgesic effects of ketorolac and tramadol for females rats in comparison with males. The similar profile of gender differences has been established also at postoperative anaesthesia on patients that confirms by laboratory stresses-tests (stabilization of glucose's level), and individual reactions of painful behaviour (visual analogue and verbal scales).

Key words: gender differences, analgesic effect, tramadol, ketorolac

Надійшла: 22.10.2012 р.

Контактна особа: Волощук Наталія Іванівна, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, вул. Пирогова, буд. 56, м. Вінниця, 21018. Тел.: +38 (0432) 61-14-00. Електронна пошта: voloshchukn@rambler.ru

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

Порівняльне вивчення репаративної активності комбінованих мазей для лікування ран

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: мазі, лікування ран, ранозагоювальна активність

У комплексному лікуванні ран велике значення має місцеве лікування ран під пов'язкою з використанням мазей [1, 8]. На сучасному фармацевтичному ринку України представлено широкий вибір мазей для лікування ран. Проведений аналіз асортименту мазей показав, що мазі вітчизняного виробництва складають 42 %, імпортного – 58 %; комбіновані мазі складають – 39 %, монокомпонентні – 61 %. Отже, більшість препаратів має односпрямовану дію. Також слід зазначити, що більшість мазей виготовлено на жировій основі. Це не дає можливості змішуватися мазям із рановим ексудатом і поглинати його, проникати вглиб рани діючим речовинам та сприяти загоєнню ран. Тому, доцільним є використання комбінованих мазей на гідрофільній основі, які впливають на більшість ланок ранового процесу та мають протимікробні, протизапальні, знеболюючі та репаративні властивості [3, 7]. Виходячи із цього, перед хірургом стає проблема вибору ефективного препарату, який би зменшував ризик ускладнень, прискорював процес загоєння ран та знижував економічні витрати на лікування.

Мета дослідження – порівняльне вивчення ранозагоювальної дії обраних комбінованих мазей на ранах, що загоюються первинним натягом (післяопераційні рани) та вторинним натягом (рвані рани), а також оцінка їх впливу на швидкість утворення грануляційної та рубцевої тканини.

Матеріали та методи. Об'єктами дослідження було обрано п'ять мазей, які на даний час широко застосовують

для лікування ран (табл. 1): «Інфларакс» (ТОВ ФК «Здоров'я», м. Харків), «Левомеколь» (ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», м. Київ), «Офлокаїн-Дарниця», «Нітацид-Дарниця» (ЗАТ «ФФ «Дарниця»», м. Київ) та «Содерм А» (ООВ «Елком», м. Санкт-Петербург) [2].

Для досягнення поставленої мети використовували модель «лінійної асептичної рани» у щурів, що імітує післяопераційну рану та модель «трафаретної рани» (рваної рани) [4, 6]. Загоєння ран за цих патологій проходить шляхом первинного та вторинного натягу.

Відтворення моделей «лінійної різаної рани» та «трафаретної» рани проводили на 72 білих безпородних щурах масою 200–240 г, які були сформовані в 6 груп на кожній моделі (по 6 особин у кожній групі). Тварини 1 групи лікування не отримували (контроль патології); групи 2–6 – тварини, яким на тлі патології наносили досліджувані мазі «Інфларакс», «Левомеколь», «Офлокаїн-Дарниця», «Нітацид-Дарниця» та «Содерм А».

Для моделювання лінійної рани щурам під наркозом робили розріз довжиною 5 см та одразу накладали шви на відстані 1 см і обробляли шкіру 5 % розчином йоду. Через добу розпочинали лікування й продовжували протягом 5 днів. На 6-й день тварин декапітували та вирізали ділянку шкіри з рубцем. Випробування міцності рубця проводили на ранотензіометрі. Для цього один край шва закріплювали в стаціонарному затиску, а другий – у затиску з вантажем (посудина з водою). Рівномірно наливаючи воду в посудину, відзначали масу, при якій шов розходився. Міцність шва в контрольній та дослідних групах відповідала масі

Характеристика складу та фармакологічної дії обраних мазей

Назва препарату	Фірма-виробник	Активні компоненти та основа	Фармакологічна дія
ІНФЛАРАКС	ФК ТОВ «Здоров'я», м. Харків	Амікацину сульфат, німесулід, бензалконій хлорид, лідокаїна гідрохлорид. Основа: ПЕО-400, 1500	Протимікробна Протизапальна Знеболювальна Дегідратаційна
ЛЕВОМЕКОЛЬ	ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», м. Київ	Хлорамфенікол, метилурацил. Основа: ПЕО-400, 1500	Протимікробна Протизапальна Ранозагоювальна Дегідратаційна
ОФЛОКАЇН-ДАРНИЦЯ	ЗАТ ФФ «Дарниця», м. Київ	Офлоксацин, лідокаїна гідрохлорид. Основа: ПЕО- 400, 1500, 6000, проксанол-268, пропіленгліколь	Протимікробна Протизапальна Дегідратаційна Знеболювальна
НІТАЦИД-ДАРНИЦЯ	ЗАТ ФФ «Дарниця», м. Київ	Сульфаніламид, амінітрозол. Основа: Проксанол-268, ПЕО-400, пропіленгліколь	Протимікробна Протизапальна Дегідратаційна
СОДЕРМ А	ООВ «Елком», м. Санкт-Петербург	Кластерне срібло, Супероксиддисмутаза. Основа: ПЕО-400, 1500	Протимікробна Протизапальна Антиоксидантна

води, яка необхідна для розриву рубця. Репаративну активність розраховували за формулою 1.1:

$$PA = \frac{\Delta V_d - \Delta V_k}{\Delta V_k} \cdot 100 \%, \quad (1.1)$$

де: PA – репаративна активність, %; ΔV_d – навантаження, при якому розходився шов у щурів дослідної групи; ΔV_k – навантаження, при якому розходився шов у щурів контрольної групи.

Для відтворення трафаретної рани щурам вирізали ділянку шкіри розміром $2 \times 2 \text{ см}^2$ (400 мм²). Після оперування відразу накладали марлеву серветку з 3 % перекису водню на відкрити ранову поверхню. Наносили досліджувані мазі тонким шаром на прилягаючі до рани ділянки 1 раз на добу до повного загоєння.

Оцінку інтенсивності репаративних процесів у рані проводили в динаміці від 1 по 29 день (через день) з використанням планіметричних показників: вимірювали площу рани (мм²),

розраховували показник зміни площі рани (ΔS , %) за формулою 1.2:

$$\Delta S = \frac{S_0 - S_t}{S_0} \cdot 100 \%, \quad (1.2)$$

де: S_0 – площа рани одразу після моделювання, S_t – площа рани в день вимірювання, мм².

Для статистичної обробки результатів застосовували однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA та критерій Ньюмана-Кейлса, з урахуванням рівня значущості, $P \leq 0,05$ [5].

Результати та їх обговорення. Результати досліджень на моделі лінійної різаної рани показали, що всі мазі сприяють загоєнню ран первинним натягом, про що свідчить підвищення міцності рубця порівняно з контрольною патологією (табл. 2). Слід зазначити, що при застосуванні мазі «Левомеколь» міцність рубця була більшою порівняно з міцністю рубця нелікованих тварин у 2,5 разу, мазі «Інфларакс» – у 1,5 разу, мазі «Нітацид» – у 1,4 разу, мазі «Офлокаїн» – у 1,3 разу, мазі «Содерм А» – у 1,2 разу.

**Репаративна активність мазей на 6 добу після моделювання
лінійної асептичної рани в щурів, $n = 6$**

Умови досліджу	Показники тензіометрії, г	Репаративна активність, %
Контрольна патологія	330,0±38,7	-
Мазь «Інфларакс»	510,8±40,6*	54,8
Мазь «Левомеколь»	830,8±22,6**/**	151,8
Мазь «Офлокаїн»	416,7±28,3*	26,3
Мазь «Нітацид»	470,0±38,9*	42,4
Мазь «Содерм А»	405,5±32,3	22,7

Примітка. *Відхилення вірогідне відносно контрольної патології, $P \leq 0,05$; **відхилення вірогідне відносно мазі «Содерм А», $P \leq 0,05$; ***відхилення вірогідне відносно мазі «Офлокаїн», $P \leq 0,05$.

Порівняльний аналіз експериментальних даних показав, що найвираженішу репаративну дію має мазь «Левомеколь» (151,8 %), у мазей «Інфларакс» та «Нітацид» репаративна дія була на рівні 42,4–54,8 %, найменшу дію спостерігали при лікуванні мазями «Офлокаїн» та «Содерм А» – 22,7–26,3 % відповідно.

Динаміку планіметричних показників на моделі «трафаретної рани» у щурів наведено в таблиці 3.

Аналіз отриманих результатів показав, що площа ран у тварин групи контрольної патології на 7-й день зменшилася на 25 %, на 15-й день – на 77 % відносно вихідних даних та повне загоєння зафіксовано на 29 день (табл. 3).

Таблиця 3

**Вплив комбінованих мазей на площу раневої поверхні в щурів
з моделлю трафаретної рани, $n = 6$**

Термін спостереження	Показник	Позитивний контроль	Мазь «Інфларакс»	Мазь «Левомеколь»	Мазь «Офлокаїн»	Мазь «Нітацид»	Мазь «Содерм А»
Вихідні дані	S, мм ²	409,83 ±8,60	390,33 ±13,20	417,7 ±12,3	416,5 ±9,6	361,33 ±13,1	406,8 ±11,3
1 доба	S, мм ²	380,33 ±10,10	315,17 ±11,60	373,5 ±8,1	367,83 ±14,70	320,8 ±7,2	370,8 ±13,9
	ΔS, %	7	19	11	12	11	9
3 доба	S, мм ²	360,83 ±9,80	246,0 ±14,60*	330,2 ±9,0	319,5 ±17,3	258,67 ±11,6*	336,0 ±11,4
	ΔS, %	12	37	21	23	28	17
5 доба	S, мм ²	342,50 ±10,70	170,0 ±15,10*/#	269,7 ±9,0*	250,67 ±12,80*	213,5 ±15,6*/#	272,0 ±11,6*
	ΔS, %	16	56	35	40	41	33
7 доба	S, мм ²	306,67 ±12,80	120,5 ±13,7*/#	223,0 ±13,2*	190,0 ±14,9*	172,17 ±14,8*	225,5 ±16,5*
	ΔS, %	25	69	47	54	52	45
15 доба	S, мм ²	136,17 ±14,30	9,83 ±1,90*/#	19,67 ±3,6*/#	39,3 ±8,9*/#	35,17 ±6,3*/#	65,50 ±12,6*
	ΔS, %	67	97	95	90	90	84
Повне загоєння		29-а доба	23-я доба	23-я доба	25-а доба	25-а доба	27-а доба

Примітка. *Відхилення достовірне відносно позитивного контролю, $P \leq 0,05$; # – відхилення достовірне відносно мазі «Содерм А», $P \leq 0,05$; n – кількість тварин у групі.

Найактивніше процес епітелізації та рубцювання відбувався у тварин, лікованих мазями «Левомеколь» та «Інфларакс», площа ран яких зменшилася на 7-й день на 47 % та 69 % відповідно; на 15-й день – на 95 % та 98 % відповідно відносно вихідних даних, та повне загоєння зафіксовано на 23-й день досліджу.

У тварин, лікованих мазями «Нітацид» та «Офлокаїн» на 7-й день площа ран зменшилася на 53 % і 54 % відносно вихідних даних; на 15-й день спостерігали також майже однакове зменшення ран на 90 % і 91 % відповідно. Повне загоєння ран у даних групах тварин відбулося на 25-й день експерименту.

У групах тварин, яких лікували маззю «Содерм А» на 7-й день площа ран зменшилася на 45 % відносно вихідних даних, а на 15-й день – на 84 %. Повне загоєння зафіксовано на 27-й день досліджу.

Отже, мазі «Інфларакс» та «Левомеколь» сприяли скороченню термінів загоєння ран на 6 днів, «Нітацид» і «Офлокаїн» – на 4 дні, «Содерм А» – на 2 дні порівняно з контрольною патологією.

Таким чином, згідно з отриманими результатами дослідження на моделі трафаретної рани за вираженістю ранозагоювальної дії мазі можна розмістити в наступному порядку: «Інфларакс» = «Левомеколь» > «Нітацид» = «Офлокаїн» > «Содерм А».

Висновки

1. Проведено порівняльне дослідження репаративної активності п'яти комбінованих мазей на моделях «лінійної асептичної рани» та «трафаретної рани» у щурів.
2. Встановлено, що всі мазі сприяють загоєнню ран. За виразністю репаративної дії на моделі «лінійної рани» досліджувані мазі можна розмістити в наступному порядку: «Левомеколь» (151,8 %) > «Інфларакс» (54,8 %) > «Нітацид» (42,4 %) > «Офлокаїн» (26,3 %) > «Содерм А» (22,7 %). За виразністю ранозагоювальної дії на моделі «трафаретної рани» мазі можна розмістити в наступному порядку: «Інфларакс» = «Левомеколь» > «Нітацид» = «Офлокаїн» > «Содерм А».
3. Встановлено, що мазь «Левомеколь» найбільше сприяє утворенню міцного рубця та є препаратом вибору для лікування ран, які загоюються з утворенням рубця (післяопераційні рани), препаратами вибору для лікування ран, які загоюються вторинним натягом (рвані рани) – мазі «Інфларакс» та «Левомеколь».

1. Абаев Ю. К. Справочник хирурга. Раны и раневая инфекция / Ю. К. Абаев – Ростов н/Д: Феникс, 2006. – 427 с.
2. Компендиум 2010 – лекарственные препараты. В 2 т. / Под ред. В. Н. Коваленко, А. П. Викторова. – К.: МОРИОН, 2010. – Т. I – II. – 2270 с.
3. Лікування ран / П. Г. Кондратенко [та ін.] // Хірургія. Медицина. – Київ, 2009. – С. 835–836.
4. Яковлева Л. В. Дослідження репаративної дії мазі «Мірамеф» на моделі трафаретних ран у щурів / Л. В. Яковлева, Ю. В. Федорчук // Вісник фармації. – 2005. – № 1(41). – С. 65–68.
5. Основные методы статистической обработки результатов фармакологических экспериментов // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под. ред. В. П. Фисенко. – М.: Ремедиум, 2000. – С. 349–454.
6. Рибак В. А. Фармакологічне вивчення ранозагоювальної та репаративної дії нової комбінованої мазі «Трофепар» / В. А. Рибак, В. М. Кузнецова // Одеський мед. журнал. – 2003. – № 5. – С. 26–28.
7. Gantwerker E. A. Skin: histology and physiology of wound healing / E. A. Gantwerker, D. B. Hom // Clin. Plast. Surg. – 2012. – Jan. 39 (1). – P. 85–97.
8. Shai A. Wound healing and Ulcers of the Skin / A. Shai, I. Howard, O. Maibach // Springer. – Verlag Berlin Heidelberg, 2005. – 192 p.

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

Сравнительное изучение репаративной активности комбинированных мазей для лечения ран

Проведен сравнительный анализ ранозаживляющего действия современных комбинированных мазей для лечения ран на моделях заживления первичным и вторичным натяжением. В процессе эксперимента установлено, что на модели линейной резаной раны у крыс наиболее выраженную

ранозаживляющую активность проявила мазь «Левомеколь», повышавшая прочность рубца на 151,8 %. На модели трафаретной раны выраженную ранозаживляющую активность проявили мази «Инфларакс» и «Левомеколь», что подтверждается сокращением срока заживления. Таким образом, препаратом выбора для лечения ран, которые заживают первичным натяжением (послеоперационные раны), является мазь «Левомеколь», а для лечения ран, которые заживают вторичным натяжением (рваные раны) – мази «Инфларакс» и «Левомеколь».

Ключевые слова: мази, лечение ран, ранозаживляющая активность

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

A comparative study of reparative effect of combined ointments for wounds treatment

A comparative analysis of current combined ointments with wound-healing activity was held on the primary and secondary intention wound-healing models. The experiments have shown, that the highest wound-healing activity on the linear-incisional wound model in rats has ointment «Levomecol», according to the strength of the formed scar (151,8 %). On the avulsed wound model the significant wound-healing activity have shown ointments «Inflarax» and «Levomecol», as evidenced by the reduction of healing time (earliest epithelization). Therefore, the drug of choice for management of wounds healing by the primary intention is ointment «Levomecol» and for the wounds healing by secondary intention – ointments «Inflarax» and «Levomecol».

Key words: ointments, wound treatment, reparative effect

Надійшла: 28.09.2012 р.

Контактна особа: Івацик Леся Богданівна, аспірант, кафедра фармакології, Національний фармацевтичний університет, м. Харків. Тел.: +38 (057) 706-30-69.

Н. С. Кавушевська, Т. І. Тюпка, Ю. Б. Лар'яновська

Вплив нового гелю «Лізостом» на морфологічний стан слизової оболонки рота за умов експериментального гінгівіту

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: лізоцим, гінгівіт, гістологія

Гінгівіт – одне з поширених захворювань слизової рота, вражає до 80 % дорослого населення і є однією з головних причин розвитку пародонтиту та втрати зубів [2]. Нині запропоновано безліч різних лікарських засобів для лікування пародонтиту, але не завжди вдається досягти тривалої ремісії та стабілізації патологічного процесу в пародонті при їхньому застосуванні. Це зумовило необхідність подальшого пошуку лікувально-профілактичних препаратів пародонтопротекторної дії.

Як відомо, запальні захворювання пародонта характеризуються змінами багатьох факторів специфічного захисту й неспецифічної резистентності. Одним із таких факторів є зменшення вмісту лізоциму, якому притаманні протимікробний, противірусний, протизапальний, гемостатичний та муколітичний ефекти [2]. У зв'язку із цим, створення фармакологічних засобів на основі лізоциму для лікування запальних захворювань м'яких тканин пародонта є патогенетично обґрунтованим. Спираючись на це, спільно зі співробітниками кафедри заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету (зав. каф. професор О. А. Рубан) нами було розроблено склад нового стоматологічного гелю на основі лізоциму (0,3 %) з робочою назвою «Лізостом».

Мета дослідження – вивчення ефективності гелю «Лізостом» при експериментальному гінгівіті за даними морфологічного дослідження слизової оболонки рота щурів.

Матеріали та методи. Досліджували слизову оболонку присінка рота (*Vestibulum oris*) щурів різних експери-

ментальних груп: I – інтактної; II – контрольної (експериментальний гінгівіт); III – після лікування гінгівіту гелем «Лізостом» (20 мг/см² один раз на добу протягом 7 діб після моделювання патології); IV – після лікування гінгівіту препаратом порівняння «Метрогіл Дента®» («Юнік Фармасьютикал Лабораториз», Індія) 20 мг/см². Найвразливішою при гінгівіті є слизова ясен, хоча локалізація елементів ураження є й на інших ділянках слизової рота. Морфологічно слизова ясен має таку саму будову, як і слизова інших відділів ротової порожнини. Різниця тільки в неоднаковому співвідношенні шарів, з яких складається слизова. Так, на ділянках твердого піднебіння, язика та ясен епітеліальний пласт, що вкриває поверхню слизової, більш потужний. На ділянках щоки й губи – більш виразна власна пластинка слизової. У ділянці дна, перехідних складок більш розвинутий підслизовий шар [1]. Ураховуючи наведене вище, а також більшу зручність взяття матеріалу для дослідження, виразно більший об'єм вилучених тканин, ми вважали припустимим на даній експериментальній моделі дослідити слизову оболонку присінка рота тварин у ділянці щоки та підборіддя, а не слизову ясен. Експериментальний гінгівіт визивали в два етапи: попереднім створенням стану дисбактеріозу ротової порожнини (внутрішньошлункове введення лінкоміцину в дозі 60 мг/кг протягом 5 днів) та подальшим локальним ураженням ясен та тканин присінка рота аплікаціями суспензії бджолиної отрути (2 мл 1 мг/кг два рази на день протягом 3 днів). Аплікації отрути та лікувальних препаратів проводили в двох ділянках присінка рота: між нижньою губою

й різцями нижньої щелепи (підборіддя) та між молярами верхньої та нижньої щелеп і щогою праворуч. Лікування розпочинали наступного дня після закінчення відтворення патології [4]. Зразки слизової оболонки фіксували в 10 % розчині формаліну, зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації, заливали в целоїдин-парафін. Зрізи фарбували гематоксиліном і еозином [3]. Перегляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Mikros 400 (Австрія), мікрофотографування зображень здійснювали цифровим фотоапаратом Nikon Coolpix 4500. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4 GHz за допомогою програми Nikon View 5.

Результати та їх обговорення. Як показала світлова мікроскопія, слизова оболонка в досліджених ділянках присінка рота інтактних щурів укрита багат шаровим плеским зроговілим епітелієм. Структурна цілісність його не порушена, шари виражені чітко. Простежувалися всі переходи від життєздатних клітин до зроговілих. Виразність рогового шару в межах норми. Товщина епітеліального пласта помірно варіювала. На ділянці щоки по лінії змикання молярів товщина епітелію збільшена. Базальний шар чітко відокремлений від підлеглої власної пластинки слизової. Межа між епітелієм та прилеглою власною пластинкою нерівна. Епітеліальні вирости в межах норми. Насиченість власної пластинки слизової клітинними елементами, стан волокнистих структур – звичайні. Підслизовий шар також без змін. Чіткої межі між власною пластинкою слизо-

вої та підслизовим шаром не спостерігали. Слинні залози, що розташовані на деяких ділянках підслизового шару в зоні щоки та підборіддя, помірно активні (рис. 1).

У щурів контрольної групи на відміну від інтактних тварин, у структурі слизової оболонки досліджених ділянок присінка рота виявлені морфологічні ознаки, характерні для гіпертрофічного гінгівіту. Простежено вогнищеві розростання епітеліального пласта з акантозом (збільшення чисельності рядів шипуватого шару з видовженням епітеліальних виростів, які проникають глибоко у власну пластинку) та гіперкератозом (збільшення рогового шару). Біля акантозних виростів у власній пластинці слизової доволі часто спостерігали помірну клітинну інфільтрацію. Ознаки вогнищеві гіперплазії багат шарового епітелію з акантозом були більш виразні на ділянці щоки. У гіперплазованому епітелії шипуватого шару місцями помічено клітини у стані паренхіматозного запалення: вони виразно збільшені за розміром, просвітлені, ядро пікнотичне (рис. 2).

У деяких щурів у досліджених ділянках присінка рота виявлено гостре альтеративне запалення: нечисленні ерозивні дефекти з повною або частковою деструкцією епітеліального пласта, виразною запальною реакцією у власній пластинці, некробіотичними змінами клітинних компонентів, мукоїдним набряком волокнистих компонентів строми (рис. 3).

Після аплікацій гелю «Лізостом» слизова ділянка підборіддя в більшості щурів морфологічно ідентична нормі. У 2 тварин виявлені поодинокі, менші за

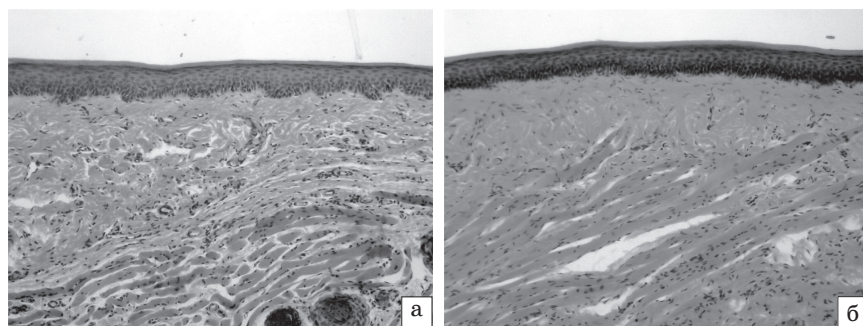


Рис. 1. Слизова оболонка присінка рота інтактних щурів: а – ділянка підборіддя, б – ділянка щоки. Нормальний стан. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб $\times 100$.

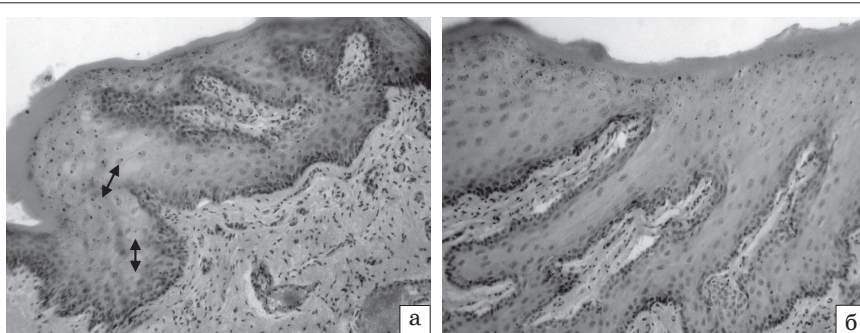


Рис. 2. Слизова оболонка присінка рота щурів після відтворення моделі гінгівіту: а – ділянка підборіддя, б – ділянка щоки. Гіперплазія епітеліального пласта, акантоз, гіперкератоз, паренхіматозне запалення клітин (стрілка). Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб $\times$ 100.

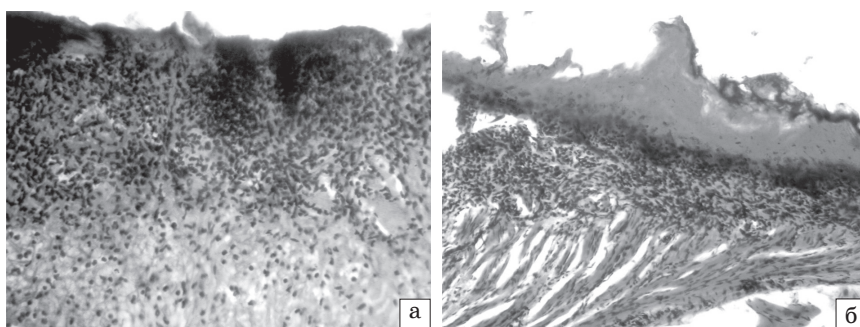


Рис. 3. Слизова оболонка присінка рота щурів після відтворення моделі гінгівіту: а – ділянка підборіддя, б – ділянка щоки. Деструкція епітелію, запальна клітинна реакція у власній пластинці слизової. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб $\times$ 250.

довжиною та значно менш потужні, ніж за контрольної патології, вогнища гіпертрофічного розростання епітеліального пласта, без виразного акантозу. Ознаки паренхіматозного запалення, порушення цілісності епітелію не простежувалися. Роговий шар у таких вогнищах збільшувався (рис. 4). У власній пластинці практично відсутні прояви запалення, лише поблизу по-

диноких кровоносних судин – слабкі прояви клітинної реакції.

На ділянці щоки в цих щурів гіпертрофічні вогнищеві розростання епітелію виявлялися частіше та були дещо більшими, ніж на ділянці підборіддя. Іноді в них мали місце ознаки паренхіматозного запалення, втім у власній пластинці слизової прояви запальної реакції не спостерігали (рис. 5).

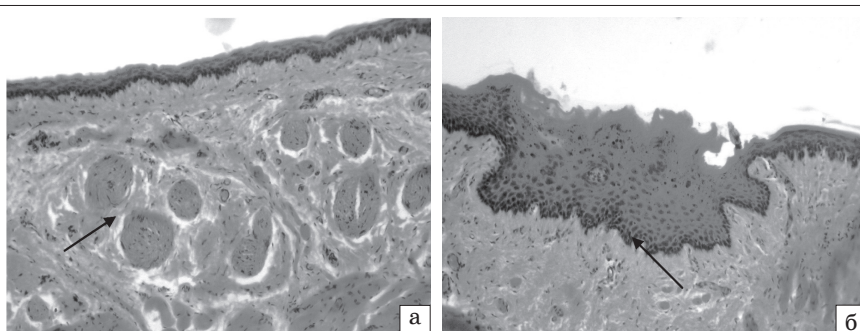


Рис. 4. Слизова оболонка присінка рота щурів на ділянці підборіддя після аплікацій гелю «Лізостом»: а – нормальний стан усіх складових; б – дрібне вогнищеве потовщення епітеліального пласта зі збільшенням рогового шару. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб $\times$ 100.

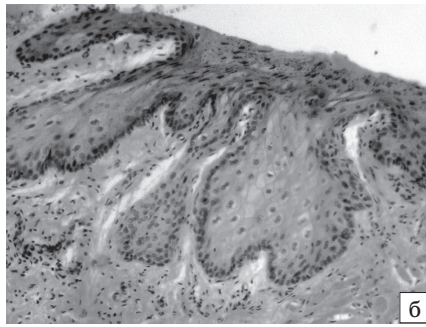
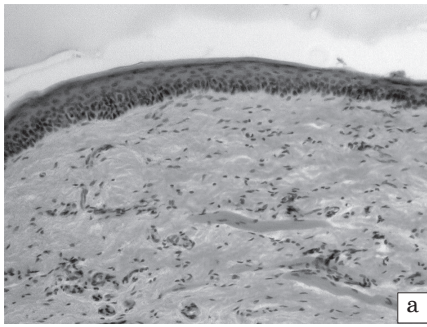


Рис. 5. Слизова оболонка присінка рота щурів на ділянці щоки після аплікацій гелю «Лізостом»: а – нормальний стан; б – вогнищева гіперплазія епітелію, акантоз, гіперкератоз. Забарвлення гематоксилін-еозином. 36×100 .

На відміну від контрольної групи в жодного з щурів, яких лікували гелем «Лізостом», не виявлено гострого альтеративного запалення слизової присінка рота.

У більшості щурів, яким проводили аплікації препарату порівняння «Метрогіл Дента», на ділянці підборіддя слизова мала нормальний вигляд. У поодиноких випадках виявлені невели-

кі за протяжністю вогнища гіперплазії епітелію з елементами акантозу, гіперкератозу, паренхіматозного запалення (рис. 6).

На ділянці щоки практично в усіх тварин зони нормального епітеліального пласта чергувалися з зонами рівномірного помірного його розростання, гіперкератозом. Ознак запалення не спостерігали (рис. 7).

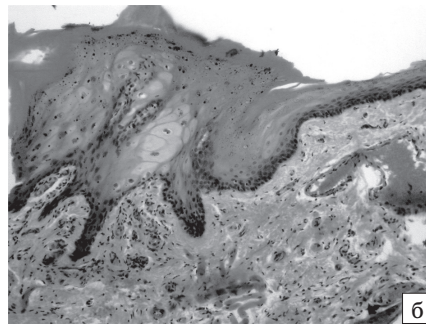
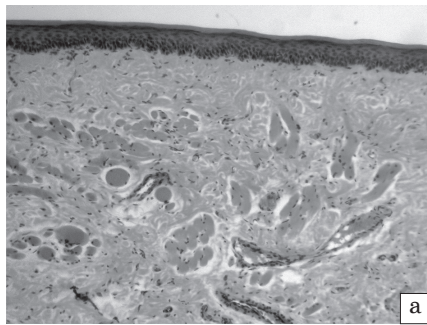


Рис. 6. Слизова оболонка присінка рота щурів на ділянці підборіддя після аплікацій гелю «Метрогіл Дента»: а – стан норми; б – вогнищева гіпертрофія епітелію, акантоз, гіперкератоз, паренхіматозне запалення. Забарвлення гематоксилін-еозином. 36×100 .

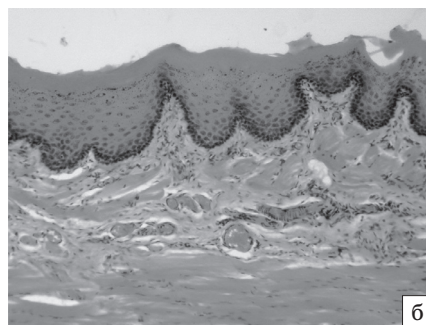
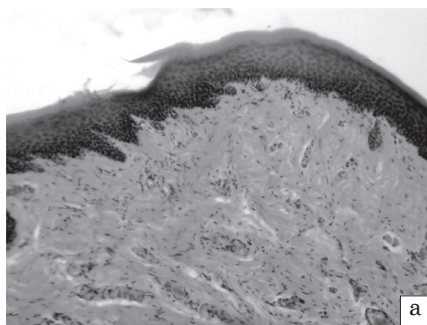


Рис. 7. Слизова оболонка присінка рота щурів на ділянці щоки після аплікацій гелю «Метрогіл Дента»: а – стан, наближений до норми; б – рівномірне помірне розростання епітелію, акантоз, гіперкератоз. Забарвлення гематоксилін-еозином. 36×100 .

Висновки

У дослідях на щурах з моделлю гіпертрофічного гінгівіту встановлено, що курсове застосування гелю «Лізостом» (щодобові аплікації 20 мг/см² протягом 7 діб) сприяє повному зникненню або зменшенню виразності ознак модельованого гіпертрофічного

гінгівіту порівняно з контрольною патологією.

Гель «Лізостом» повністю запобігає розвитку гострого альтеративного запалення тканин слизової присінки рота та за лікувальним ефектом не поступається препарату порівняння – гелю «Метрогіл Дента®».

1. Боровский Е. В. Атлас заболеваний слизистой оболочки полости рта / Е. В. Боровский, Н. Ф. Данилевский. – М.: Медицина, 1981. – 288 с.
2. Грудянов А. И. Заболевания пародонта / А. И. Грудянов. – М.: Издательство «Медицинское информационное агентство», 2009. – 336 с.
3. Меркулов Г. А. Курс патологистологической техники / Г. А. Меркулов. – М.: Медицина, Ленингр. отд., 1969. – 424 с.
4. Пат. 31011 У України, МПК (2006) А61Р 31/00 А 61К 35/56 А 61С 7/00. Спосіб моделювання гінгівіту / Левицький А. П., Селиванська І. О., Макаренко О. А.; заявник і патентовласник Інститут стоматології АМН України. – № У 200711608; заявл. 22.10.2007; опубл. 25.03.2008, Бюл. № 6.

Н. С. Кавушевская, Т. И. Тюпка, Ю. Б. Ларьяновская

Влияние нового геля «Лизостом» на морфологическое состояние слизистой оболочки рта в условиях экспериментального гингивита

Проведено морфологическое исследование эффективности нового геля «Лизостом» при экспериментальном гингивите у крыс. Установлено, что гель «Лизостом» способствует уменьшению выраженности или полному исчезновению признаков гингивита, не уступая препарату сравнения – гелю «Метрогил Дента®».

Ключевые слова: лизоцим, гингивит, гистология

N. S. Kavushevskaya, T. I. Tyupka, J. B. Laryanovskaya

Influence of the new gel «Lizostom» on morphological state of the oral mucosa in experimental gingivitis

A morphological research of efficiency of the new dental gel «Lizostom» in experimental gingivitis in rats was undertaken. Found that the gel «Lizostom» reduces the severity or complete disappearance of signs of gingivitis without yielding to the drug comparison – gel «Metrogyl Denta®».

Key words: lysozyme, gingivitis, histology

Надійшла: 14.11.2012 р.

Контактна особа: Кавушевська Наталія Сергіївна, аспірант, кафедра патологічної фізіології, Національний фармацевтичний університет, буд. 53, вул. Мельникова, м. Харків, 61002.

К. В. Монатко, О. А. Подплетня

Вплив ліофільного порошку кавуна на структуру нирок за умов експериментальної доксорубіцинової нефропатії

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

Ключові слова: ліофільний порошок кавуна, доксорубіцинова нефропатія, нирка

Антрациклінові антибіотики все ширше застосовуються в різних схемах комбінованої хіміотерапії не тільки при лікуванні поширених і метастатичних форм пухлин, але й як ад'ювантне та неад'ювантне лікування [12]. Антрацикліни, у тому числі доксорубіцин, залишаються ефективними препаратами, що використовуються для монотерапії [14]. Однак клінічне застосування антрациклінів має суттєві обмеження внаслідок високої кардіо-, гепато- і нефротоксичності. Найпоширеніший механізм ушкодження нирок при хіміотерапії пов'язаний з порушенням обміну речовин. Сечова кислота є продуктом розпаду білка. При масивному розпаді пухлини сечова кислота може викликати сечокислу нефропатію. Інший механізм токсичної дії – утворення вільних радикалів кисню [5] у результаті окисно-відновних циклічних реакцій [1, 4] та впливу доксорубіцину на обмін заліза [2, 3, 13]. Забезпечити захист нирок після хіміотерапії можна за допомогою супровідної фітотерапії [9] шляхом застосування речовин з антиоксидантними властивостями.

Попередні дослідження ліофільного порошку м'якоті кавуна (ЛПК) свідчать про його виражені антиоксидантні, мембраностабілізуючі та цитопротекторні властивості [6]. У проаналізованій нами літературі не було виявлено даних про можливість використання ЛПК для корекції нефротоксичних ефектів антибіотиків антрациклінового ряду, що стало мотивацією для проведення даного дослідження.

Мета дослідження – експериментальне вивчення структурних змін у нирках під впливом доксорубіцину та при введенні ліофільного порошку кавуна.

Матеріали та методи. Ліофільний порошок м'якоті кавуна отриманий методом сублимації (ліофільного сушіння) на базі Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського під керівництвом професора Л. В. Соколової [7]. Експериментальні дослідження проведено на 24 білих нелінійних щурах самцях масою $188,8 \pm 21,7$ г. Піддослідних тварин було розподілено на 4 групи: 1 – контрольні тварини ($n = 6$); 2 – модельна патологія (ДН без лікування) ($n = 6$); 3 – ДН + лікування ЛПК у дозі 150 мг/кг ($n = 6$); 4 – ДН + лікування препаратом Канефрон Н у дозі 27 мг/кг ($n = 6$). Найоптимальнішим способом відтворення даної патології було внутрішньочеревинне введення доксорубіцину (ДН) у дозі 10 мг/кг (з концентрацією 1 мг/мл у фізіологічному розчині) [11]. Дана схема відтворення дозволяє на тлі розгорнутої клінічної картини мембранозної нефропатії максимально знизити рівень летальності в дослідних групах та ризик розвитку некротичних зон у місцях введення доксорубіцину. Досліджувані речовини вводили щоденно за 1 год до введення доксорубіцину. На 21 добу експерименту, за 1 год після внутрішньоблункового введення досліджуваних речовин, щури отримували рідинне навантаження – фізіологічний розчин – з розрахунку 3 мл на 100 г маси тіла. Піддослідних тварин поміщали в обмінні клітки для двогодинного збору сечі [8]. Маніпуляції, що причиняли тваринам біль, проводили під тіопенталовим наркозом. Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації, вилучали нирки. Для морфологічних досліджень

нирок застосовували 10 % нейтральний формалін, який забезпечує порівняно добру фіксацію шматочків тканин і окремих клітин [10]. Основні етапи дослідження: фіксація нирок (час фіксації тканин – 1–5 діб); дегідратація (зневоднення об'єктів) та заливка в парафін; приготування зрізів завтовшки 8–10 мкм; фарбування препаратів гематоксиліном та еозином, мікрофотографування гістологічних препаратів.

Досліджували та фотографували зрізи тканини нирок під мікроскопом Zeiss «Primo Star», фотокамерою DCM 500.

Результати та їх обговорення. Доксорубіцинова нефропатія являє собою модель нефропатії мінімальних змін, що виникає внаслідок вільнорадикального ушкодження всіх структур ниркового фільтра й, перш за все, базальної мембрани [15].

На відміну від здорових щурів у більшості нелікованих тварин групи модельної патології з доксорубіциновою нефропатією в корковому шарі нирок мали місце ознаки спазму і тромбозу приносячих артеріол (рис. 1). У клубочках спостерігали недовкрив'я, мікротромби. Зменшення в складі базальної мембрани кількості макромолекул глікозаміногліканів та глікопротеїнів, особливо гепарансульфату, призвело до підвищення ниркової проникності [15]. Базальні мембрани капілярів клубочків були базофільними, набряклими, у деяких ділянках – розщепленими. Епіте-

лій каналців був набряклим, з ознаками зернистої та дрібнокраплинної гідропічної дистрофії. У просвіті каналців – невелика кількість білка. На кордоні коркового й мозкового шару спостерігали нерівномірне розширення просвіту каналців, ознаки осередкового гострого межуточного нефриту у вигляді вогнищ тромбозу дрібних судин з плазматичним просіянням прилеглих ділянок ниркової паренхіми, місцями – з незначною лімфогістіоцитарною інфільтрацією (рис. 2).

На тлі прийому досліджуваного ліофільного порошку кавуна в корковому шарі відзначали явище спазму приносячих артеріол, різке розширення просвіту венул (рис. 3). Епітелій каналців – з ознаками зернистої дистрофії, набряклий, у просвіті каналців спостерігали невелику кількість білка. У клубочках недовкрив'я, набухання й базофілія базальних мембран капілярів клубочків (рис. 3). На рівні дистальних відділів нефрону – нерівномірне розширення просвіту каналців, зерниста дистрофія епітелію, нерівномірне кровонаповнення (рис. 4).

Під впливом препарату порівняння Канефрон Н у корковому шарі виявляли явища артеріолоспазму з наявністю в просвіті деяких артеріол тромбів (рис. 5). Епітелій каналців – з ознаками зернистої дистрофії, набряклий, у просвіті каналців мала місце незначна кількість білка. Спостеріга-

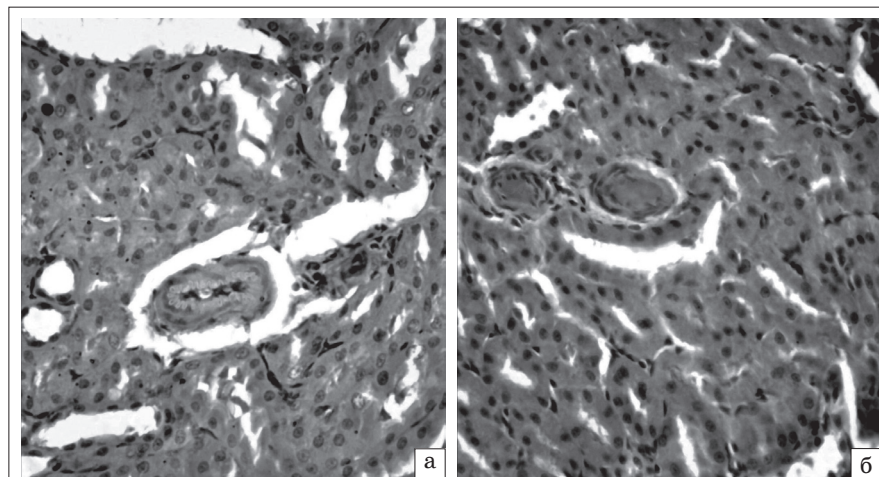


Рис. 1. Препарат нирки щура з доксорубіциновою нефропатією. а) Артеріолоспазм. Зерниста дистрофія епітелію каналців. б) Тромбоз артеріол. $\times 400$. Забарвлення гематоксилін – еозином.

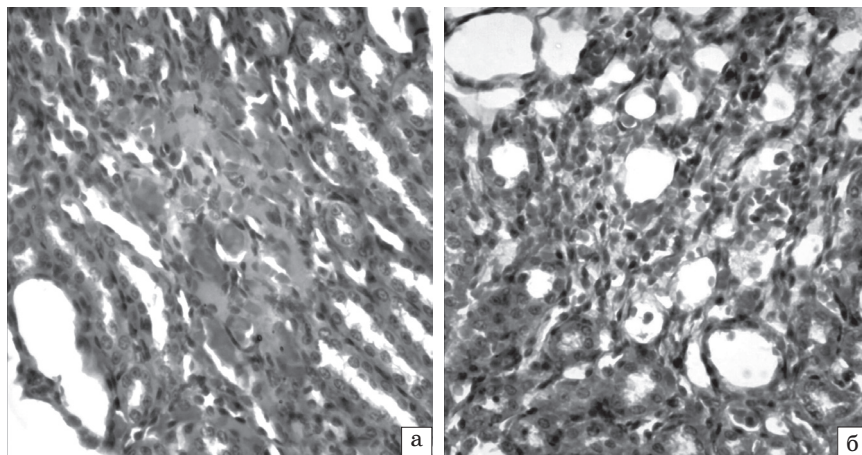


Рис. 2. Препарат нирки щура з доксорубіциновою нефропатією. а) Тромбоз дрібних судин з плазматичним просяканням прилеглих ділянок ниркової паренхіми. б) Незначна лімфогістіоцитарна інфільтрація. $\times 400$. Забарвлення гематоксилін – еозином.

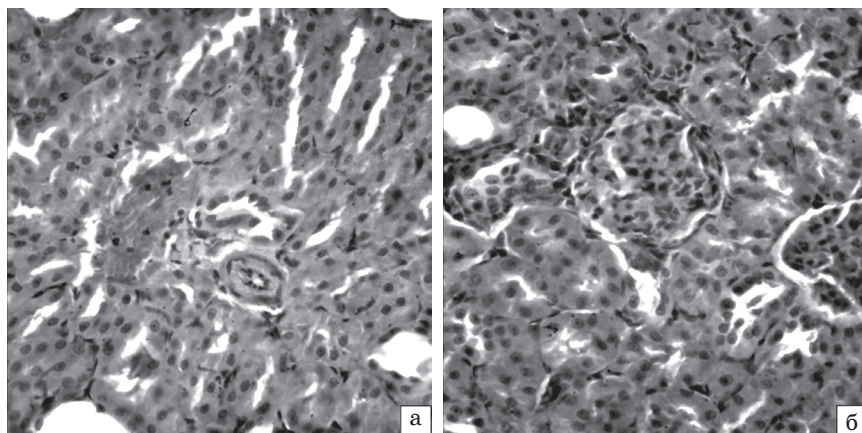


Рис. 3. Препарат нирки щура з доксорубіциновою нефропатією за умов лікування ліофільним порошком кавуна в дозі 150 мг/кг. а) Артеріолоспазм. Розширена венула. Зерниста дистрофія епітелію канальців. б) Недокрів'я, набухання та базофілія базальних мембран капілярів клубочків. $\times 400$. Забарвлення гематоксилін – еозином.

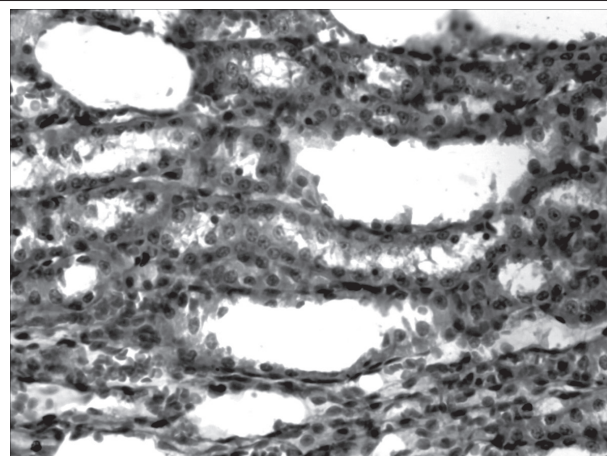


Рис. 4. Препарат нирки щура з доксорубіциновою нефропатією за умов лікування ліофільним порошком кавуна в дозі 150 мг/кг. Нерівномірне розширення просвіту канальців, нерівномірне кровонаповнення. $\times 400$. Забарвлення гематоксилін – еозином.

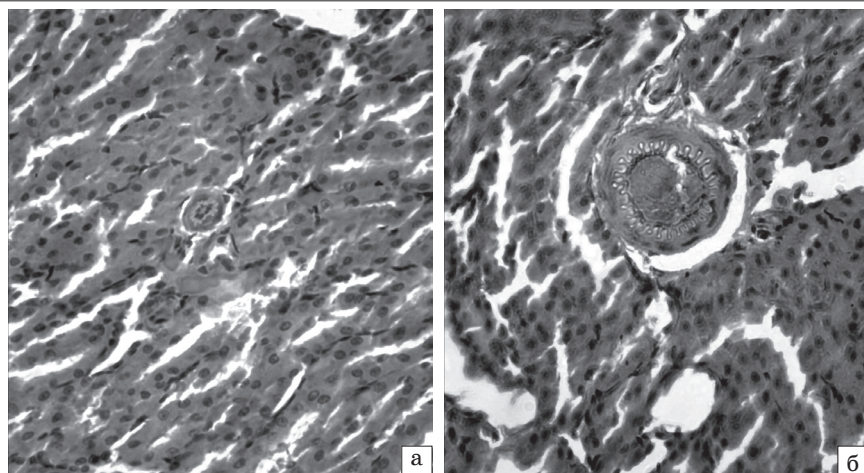


Рис. 5. Препарат нирки щура з доксорубіциновою нефропатією за умов введення препарату порівняння Канефрон Н у дозі 27 мг/кг. а) Артеріолоспазм. Зерниста дистрофія епітелію каналців. б) Тромбоз артеріоли на фоні спазму. $\times 400$. Забарвлення гематоксилін – еозином. Контрастування.

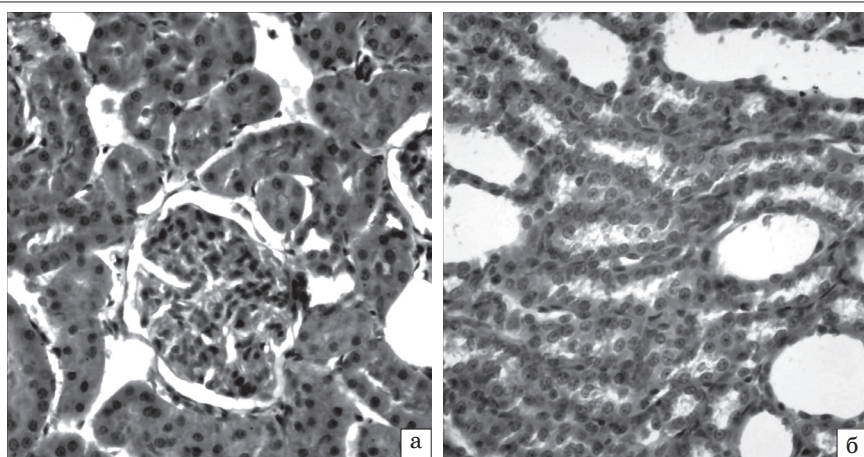


Рис. 6. Препарат нирки щура з доксорубіциновою нефропатією за умов введення препарату порівняння Канефрон Н у дозі 27 мг/кг. а) Недокрів'я клубочків, розщеплення базальних мембран капілярів. б) Нерівномірне розширення просвіту каналців, зерниста дистрофія епітелію. $\times 400$. Забарвлення гематоксилін – еозином.

ли недокрів'я клубочків. Базальні мембрани капілярів клубочків були місцями набряклими з базофілією, місцями – розщепленими, двоконтурними (рис. 6). На рівні дистальних відділів нефрону відзначали нерівномірне розширення просвіту каналців, зернисту дистрофію епітелію, нерівномірне кровонаповнення (рис. 6).

Таким чином, дані морфологічного дослідження свідчать про перспективність подальшого більш детального дослідження ліофільного порошку кавуна як засобу допоміжної нефропротекторної терапії при медикаментозному ураженні нирок.

Висновок

На тлі курсового застосування ЛПК у дозі 150 мг/кг та препарату порівняння Канефрон Н у дозі 27 мг/кг у щурів з доксорубіциновою нефропатією морфологічна картина нирок суттєво не відрізнялася. Відмінним було те, що під впливом ЛПК спостерігали зменшення морфологічних проявів нефропатії, на рівні дистальних відділів нефрону. Також відмічали захисний вплив ЛПК на базальні мембрани капілярів клубочків, що можливо пов'язано з наявністю мембрано-протекторного компонента в хімічному складі порошку.

1. Davies K.J. Redox cycling of anthracyclines by cardiac mitochondria. I. Anthracycline radical formation by NADH dehydrogenase / Davies K. J., Doroshow J. H. // J Biol Chem.– 1986.– V. 261, № 7.– P. 3060–7.
2. Minotti G. Role of iron in anthracycline cardiotoxicity: new tunes for an old song? / Minotti G., Cairo G., Monti E. // FASEB J.– 1999.– V. 13, № 2.– P. 199–212.
3. Doxorubicin irreversibly inactivates iron regulatory proteins 1 and 2 in cardiomyocytes: evidence for distinct metabolic pathways and implications for iron-mediated cardiotoxicity of antitumor therapy / Minotti G, Ronchi R, Salvatorelli E. [et al.] // Cancer Res.– 2001.– V. 61, № 23.– P. 8422–8.
4. Powis G. Free radical formation by antitumor quinones / Powis G. // Free Radic Biol Med.– 1989.– V. 6, № 1.– P. 63–101.
5. Singal PK. Subcellular effects of adriamycin in the heart: a concise review / Singal PK, Deally CMR, Weinberg LE. // J Mol Cell Cardiol.– 1987.– V. 19.– P. 817–828.
6. Антиейджинг: фітотерапія проти старіння: Монографія / Л. В. Соколова, О.І. Павх, О. М. Шаповал [та ін.]; За ред. доц. Л. В. Соколової.– Тернопіль: Крок, 2011.– 190 с.
7. Патент 46453 А Україна, А 61 К36/00. Спосіб отримання фітосубстанції на основі кавуна звичайного / Соколова Л. В., Горобець С. В., Вовчук О. О., Тихонова С. О., Скрипник-Тихонов Р. І., Шаповал О. М., Лукієнко О. В.– № u 2009 06117; заяв. 15.06.2009; опубл. 25.12.2009. Бюл. № 24.
8. 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.
9. Биохимия растений: учебное пособие / под ред. Л. А. Красильниковой.– Ростов-на-Дону: Феникс, 2004.– 224 с.
10. Доклинические исследования лекарственных средств: методические рекомендации / Под ред. А. В. Стефанова.– К.: «Авиценна», 2002.– 568 с.
11. Зупанець І. А. Моделювання мембранозної нефропатії у лабораторних тварин для скринінгових досліджень лікарських препаратів мембрано протекторної дії / Зупанець І. А., Шебеко С. К. // Клінічна фармація.– 2004.– Т. 8, № 3.– С. 36–40.
12. Семиглазов В. Ф. Проблема рака молочной железы на пороге XXI века: Актовая речь. НИИ онкол. им. проф. Н. Н. Петрова.– СПб., 1997.– 16 с.
13. Напалкова С. М. Влияние глицина на функциональные и окислительные показатели почек крыс в условиях доксорубициновой нефропатии / С. М. Напалкова, О. С. Селиванова. // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2006.– № 1.– С. 146–149.
14. Экспериментальная химиотерапия злокачественных опухолей на современном этапе / Сыркин А. Б., Герасимова Г. К., Барышников Ю. А. [и др..] // Вопросы онкологии.– 1995.– Т. 41, № 2.– С. 41–45.
15. Методи експериментального моделювання ураження нирок для фармакологічних досліджень: [метод. реком.] / [С. Ю. Штриголь, В. М. Лісовий, І. А. Зупанець та ін.].– К., 2009.– 47 с.

Е. В. Монатко, Е. А. Подплетня

Влияние лиофильного порошка арбуза на структуру почек в условиях экспериментальной доксорубициновой нефропатии

В статье приведены данные об изменении гистологической структуры почек белых крыс при экспериментальной доксорубициновой нефропатии и при ее коррекции лиофильным порошком арбуза.

Ключевые слова: лиофильный порошок арбуза, доксорубициновая нефропатия, почка

К. V. Monatko, E. A. Podpletnyaya

Changes in the structure of rats kidney due to lyophilic powder of watermelon in experimental doxorubicin-induced nephropathy

The paper presents the data as to the histological changes in the kidneys of white rats with experimental doxorubicin-induced nephropathy and its correction by lyophilic powder of watermelon.

Key words: lyophilic powder of watermelon, doxorubicin-induced nephropathy, kidney

Надійшла: 10.01.2013 р.

Контактна особа: Подплетня О. А., доктор фарм. наук, професор, кафедра загальної та клінічної фармації, Дніпропетровська медична академія.

С. В. Пакришень, А. В. Матвієнко, О. М. Килимник

Вплив амлодипіну та димеодипіну на структурно-функціональний стан міокарда при доксорубіциновій кардіоміопатії

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

Ключові слова: кардіотоксичність, амлодипін, димеодипін, доксорубіцин

Протипухлинні лікарські засоби, зокрема, антрациклінові антибіотики, до яких належить доксорубіцин, широко застосовують в онкологічній практиці [1]. Проте ускладнення, які розвиваються під час використання препаратів цієї групи, часто обмежують їхнє застосування для онкохворих. Найнегативнішим побічним ефектом доксорубіцину є кардіотоксичність, що супроводжується змінами показників енергетичного метаболізму міокарда: пригнічення сукцинатоксидного комплексу та НАДН-оксидази, зниження вмісту глікогену в кардіоміоцитах [2]. Одним зі шляхів ушкодження кардіоміоцитів під впливом доксорубіцину є порушення обміну кальцію в клітині, активація кальцієвих каналів [3], що зумовлює постійний пошук препаратів групи антагоністів кальцію для запобігання та корекції кардіотоксичної дії доксорубіцину. Зокрема, увагу дослідників привертають препарати дигідропіридинового ряду, ефективність яких при застосуванні доксорубіцину остаточно не з'ясована. У клінічній практиці широко застосовується амлодипін – блокатор іонів кальцію III покоління, що був як референтний препарат у нашому дослідженні. Ефективність нового оригінального фторвмісного засобу димеодипіну порівнювали з амлодипіном. Доклінічні дослідження димеодипіну були проведені у відділі фармакології серцево-судинних засобів ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» [4].

Мета дослідження – вивчити кардіопротекторні властивості амлодипіну та

димеодипіну за умов доксорубіцинової кардіоміопатії.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на 44 статевозрілих білих нелінійних щурах обох статей масою 140–270 г, отриманих з віварію ПП «Біомодельсервіс». Тварин було розподілено на чотири групи. У 1, 2, 3-й групах кардіоміопатію моделювали шляхом чотириразового внутрішньочеревинного введення розчину доксорубіцину в дозі 5 мг/кг маси тіла з інтервалом у 7 діб і подальшою двотижневою експозицією. 1 група тварин (18 щурів) – контроль. Тваринам 2-ї (10 щурів) і 3-ї (11 щурів) груп через два тижні після останньої ін'єкції доксорубіцину щоденно впродовж 14 днів вводили відповідно амлодипін і димеодипін *per os* у дозі 1,5 мг/кг. Через одну добу і сім діб після останнього введення препаратів піддослідних тварин усіх трьох груп знеживлювали шляхом цервікальної дислокації під ефірним наркозом. 4 дослідна група (6 щурів) складалася з інтактних тварин.

Усі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до Закону України [5] та Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин [6].

Об'єктом морфологічного дослідження був міокард лівого та правого шлуночків, шматочки якого фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну та рідині Карнуа, за стандартизованою методикою зневоднювали в етанолі зростаючої концентрації й поміщали в парафін. Гістологічні зрізи тканини серця товщиною 3–5 мкм фарбували гематоксиліном і еозином. Гістохімічно виявляли вміст глікогену, активність і локалізацію сукцинатдегідрогенази (СДГ) та лактатдегідрогенази (ЛДГ) [7]. Препарати вивчали й фото-

графували за допомогою мікроскопа Olympus BX51.

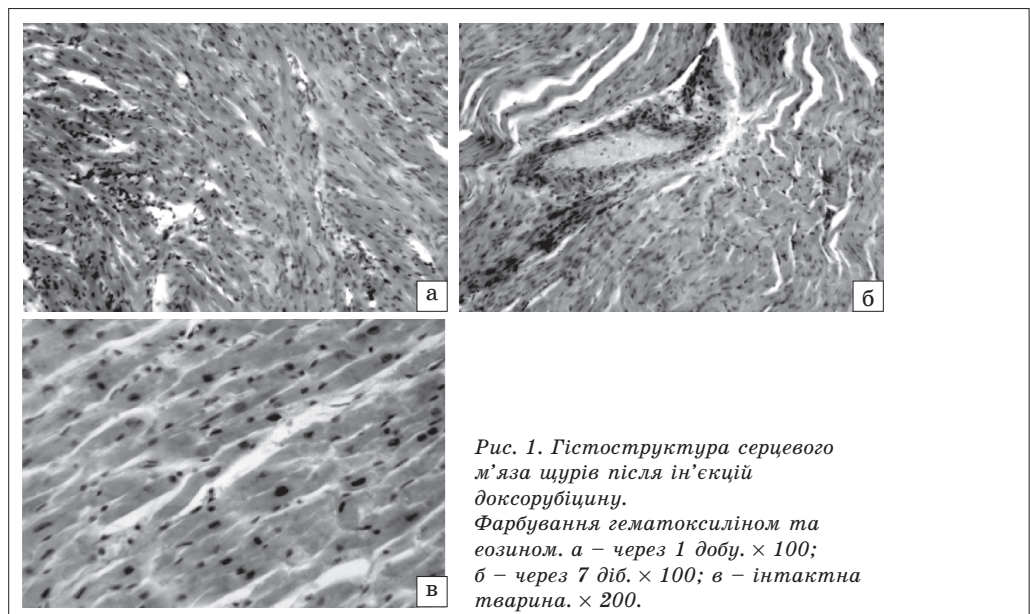
Для морфометричного аналізу застосовували комп'ютерну програму «Photo M 131». У тканині міокарда визначали об'ємні частки (%) кардіоміоцитів і сполучної тканини. При статистичному аналізі отриманих даних було використано дискриптивну статистику; порівняння середніх значень змінних здійснювали за допомогою параметричних методів (t-критерію Стюдента) при нормальному розподілі ознак, що виражені в інтервальній шкалі. Відповідність розподілення ознак закону нормального розподілу перевіряли за допомогою метода Шапіро-Уїлка. В інших випадках використовували непараметричний метод (U-критерій Манна-Уїтні, Колмогорова-Смірнова). Усі розрахунки здійснено в програмі SPSS 13.0 for Windows.

Результати та їх обговорення. Гістологічна структура міокарда при доксорубіциновій кардіоміопатії в щурів 1-ї (контрольної) групи, яких знеживлювали через добу після курсу введення доксорубіцину, порівняно з інтактними тваринами характеризується переважно осередковим міоцитолізом, прогресивною атрофією кардіоміоцитів, появою зернистої та вакуольної дистрофії. В окремих групах кардіоміоцитів виявляється пік-

ноз і лізис ядер та брилуватий розпад саркоплазми (рис. 1 а, в). Відмічається гіперемія судин, вогнищеві крововиливи, набряк строми міокарда. У більш віддалені строки спостереження (7-а доба після останньої ін'єкції препарату) зони міоцитолізу були дещо меншими, посилювалася дифузна активність стромальних елементів у вигляді продуктивної реакції фібробластів, склерозування інтерстиційного та периваскулярних просторів окремих судин. Гемодинамічні порушення зберігалися, але периваскулярний та інтерстиційний набряк були менш вираженими (рис. 1 б). Таким чином, мікроскопічне дослідження серця тварин після введення доксорубіцину вказує на розвиток пластичної недостатності міокарда.

При морфометричному аналізі серцевого м'яза тварин групи контролю порівняно з інтактними тваринами виявлено вірогідне зниження об'ємної частки кардіоміоцитів ($61,2 \pm 0,59 \%$) та збільшення об'ємної частки сполучної тканини ($18,9 \pm 0,24 \%$), що можна пояснити атрофією та міоцитолізом кардіоміоцитів і розростанням та набряком строми міокарда (таблиця).

Структурні зміни міокарда тварин 2-ї і 3-ї груп після введення відповідно амлодипіну та димедипіну на фоні доксорубіцинової кардіоміопатії



Морфометричні показники міокарда щурів на 7-у добу після курсового введення амлодипіну та димедипіну на фоні застосування доксорубіцину ($M \pm m$)

Показник	Інтактні тварини n = 6	Доксорубіцин (контроль) 1 група n = 9	Доксорубіцин+ амлодипін 2 група n = 5	Доксорубіцин+ димедипін 3 група n = 5
Об'ємна частка кардіоміоцитів, %	75,30 $\pm$ 1,75	61,20 $\pm$ 0,59*	68,60 $\pm$ 1,65*/**	68,2 $\pm$ 1,1*/**
Об'ємна частка сполучної тканини, %	14,4 $\pm$ 0,6	18,90 $\pm$ 0,24*	16,50 $\pm$ 0,94*/**	16,2 $\pm$ 0,2*/**

Примітка. *Вірогідна різниця порівняно з інтактними тваринами ($P \leq 0,05$);

**вірогідна різниця порівняно з контрольними тваринами ($P \leq 0,05$).

свідчать про помірний позитивний вплив досліджуваних препаратів на стан робочого міокарда: поширеність атрофії, літичних змін кардіоміоцитів дещо менша, ніж у щурів контрольної групи у відповідні строки, хоча морфологічна картина альтерації скоротливого міокарда у вигляді контрактурних змін, дистрофії, дрібновогнищового міоцитолізу, ознак загибелі, резорбції та заміщення сполучною тканиною кардіоміоцитів зберігається (рис. 2 а, б, в).

За даними морфометрії в щурів 2-ї і 3-ї груп при застосуванні блокаторів кальцієвих каналів на 7-у добу спостереження виявили вірогідне збільшення об'ємної частки клітин робочого міокарда порівняно з тваринами

контрольної групи, що, імовірно, пояснюється менш виразними альтеративними змінами кардіоміоцитів, які знаходилися в стані зворотної дистрофії, та їхньою осередковою компенсаторною гіпертрофією (таблиця). Однак вірогідно менша, ніж у інтактних тварин, величина цього показника свідчить про те, що стан пластичної недостатності міокарда зберігався (таблиця).

Вірогідне зменшення порівняно з групою контролю об'ємної частки сполучної тканини в групах тварин, яким на фоні доксорубіцинової патології вводили амлодипін і димедипін, можливе за рахунок зменшення набряку та ущільнення стромального компонента міокарда внаслідок відповідно нормалі-

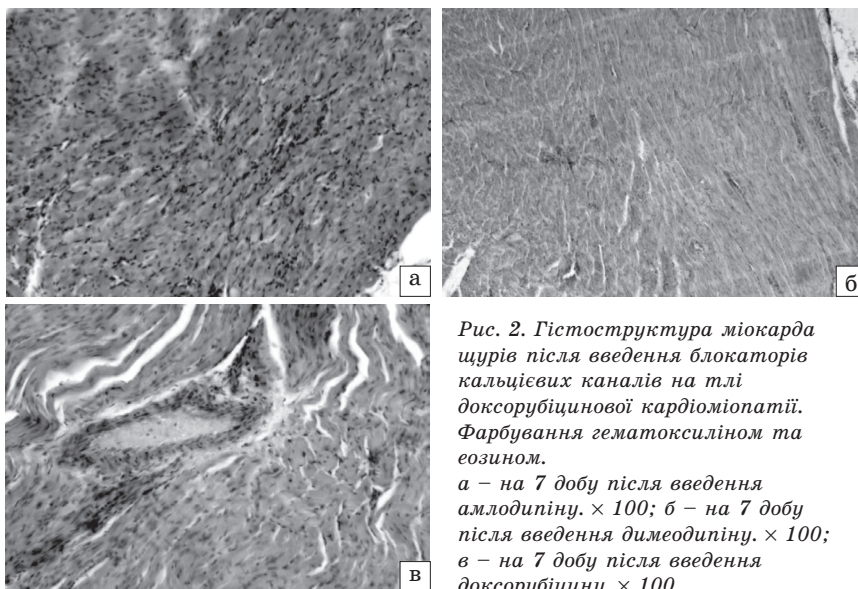


Рис. 2. Гістоструктура міокарда щурів після введення блокаторів кальцієвих каналів на тлі доксорубіцинової кардіоміопатії. Фарбування гематоксиліном та еозином.
а – на 7 добу після введення амлодипіну. $\times 100$; б – на 7 добу після введення димедипіну. $\times 100$;
в – на 7 добу після введення доксорубіцину. $\times 100$.

зації кальцієвого обміну та організації під впливом указаних препаратів. Водночас вірогідно більша об'ємна частка сполучної тканини в міокарді цих експериментальних груп тварин порівняно з інтактними свідчить про часткове відновлення робочого міокарда при застосуванні амлодипіну чи димеодипіну (таблиця).

Гістоензімохімічне дослідження міокарда щурів 1-ї (контрольної) групи на першу добу після курсового введення доксорубіцину під час порівняння з міокардом інтактних тварин виявило, що в значній частці м'язових волокон спостерігаються яскраво виражені коливання активності СДГ: від повної відсутності реакції на ензим в одних волокнах до значної активності, яка перевищувала таку в інтактних тварин, в інших волокнах (рис. 3 а, в). Змінюється й характер специфічного осаду: замість синіх часточок диформазау з'являлися пурпурово-червоні гранули моноформазау; збільшувалася кількість крупних, інтенсивно забарвлених часточок неправильної форми чи, навпаки, дуже дрібних пилоподібних зерен. Подекуди спостерігалися пилморфні часточки, що утворювали брилки. Посилення поліморфізму гранул диформазау, часткове їхнє злипання між собою є морфологічними ознака-

ми гіпоксичного ушкодження міокарда [2], а поява крупногранулярного осаду продукту реакції свідчить про порушення функції мітохондрій унаслідок значно підвищеної проникності їхніх мембран у цих ділянках міокарда. Мозаїчність гістохімічної реакції на СДГ – поліморфізм, зменшення вмісту гранул формазау чи їхнє повне зникнення, найвірогідніше, пов'язана з осередковим некрозом та некробіозом м'язового синтіцію. На 7-у добу після курсу введення доксорубіцину відмічається незначне посилення активності СДГ порівняно з такою в попередній термін дослідження. Водночас нерівномірний характер розподілу специфічного осаду продукту реакції в міокарді зберігається. Це свідчить про наявність енергодефіциту скоротливого міокарда внаслідок деструктивних змін численних крист мітохондрій через надлишкове надходження іонів кальцію до матриксу цих органел під впливом доксорубіцину.

На 1-у добу після курсового введення амлодипіну та димеодипіну щурам відповідно 2-ї і 3-ї груп активність СДГ у міокарді дещо вища, ніж у контрольних тварин у цей період (рис. 3 б, в). З подовженням строку спостереження (7 діб) активність цього ферменту зростає, але рівня інтактних тварин реакція для виявлення СДГ не досягає. У

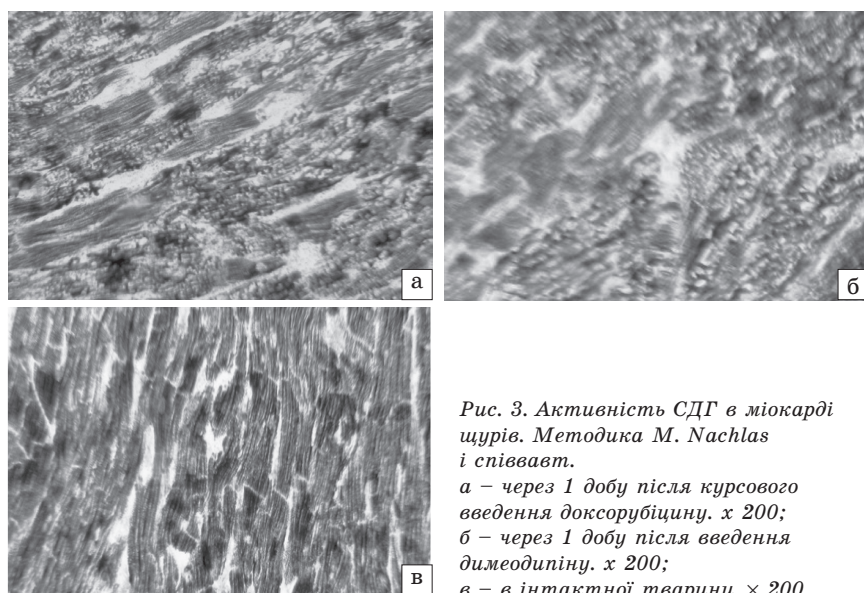


Рис. 3. Активність СДГ в міокарді щурів. Методика М. Nachlas і співваєт.

а – через 1 добу після курсового введення доксорубіцину. $\times 200$;

б – через 1 добу після введення димеодипіну. $\times 200$;

в – в інтактної тварини. $\times 200$.

м'язових волокнах міокарда продукт гістохімічної реакції на СДГ мав вигляд досить широких, чітких, повздовжніх малофрагментованих ліній, що місцями зливалися між собою, та дуже дрібних зерен, які чергувалися з крупними брилками формагану.

Гліколітичні процеси в міокарді в нормі є незначними, але для оптимізації енергозабезпечення відбувається адаптація серцевого м'яза шляхом активування анаеробного розпаду глюкози. Тому на протидію зниженню активності СДГ, у міокарді щурів контрольної групи виявляються фокуси високої активності ЛДГ, особливо на 1 добу після курсу ін'єкцій доксорубіцину (рис. 4 а), що, вочевидь, свідчить про компенсаторне посилення гліколізу при дефіциті активності дихальних ферментів циклу Кребса, зокрема СДГ. Висока активність ЛДГ у міокарді тварин 1-ї групи на 7 добу дослідження зберігається, хоча порівняно з попереднім строком дослідження дещо зменшується, і залишається значно слабшою, ніж у інтактних тварин 4 групи.

Активність ЛДГ у міокарді щурів 2-ї і 3-ї груп загалом була нижчою, ніж у тварин групи контролю, яким вводили лише доксорубіцин, у відповідні строки. Виявлялись осередки як високої, так і низької активності

цього ензиму, водночас мозаїчність реакції більш виражена в тварин на 1-у добу спостереження. Частіше, як і в інтактних тварин, спостерігалися осад дрібнодисперсного формагану (рис. 4 б, в). Зменшення вмісту специфічного осаду продукту реакції на ЛДГ з одночасним посиленням активності СДГ указує на поліпшення енергетичного обміну клітин м'язового синцитію при досліджуваній патології шляхом часткового відновлення проникності мембран мітохондрій після введення блокаторів кальцієвих каналів.

Морфологічним еквівалентом активності гліколізу в серцевому м'язі щурів контрольної групи порівняно з тваринами 4-ї групи є також зменшення вмісту глікогену, яке спостерігалось під час гістохімічного дослідження (рис. 5 а, в). Якщо в саркоплазмі кардіоміоцитів інтактних щурів інтенсивність ШИК-позитивної реакції була виразною, то в міокарді тварин 1-ї групи відмічається зменшення кількості гранул глікогену, іноді з осередками цілковитої його відсутності в місцях міоцитолітичних ушкоджень м'язових волокон. Оскільки поширеність зон некрозів більша в міокарді щурів на 1 добу після останнього застосування доксорубіцину, то й ділянок з відсутністю глікогену

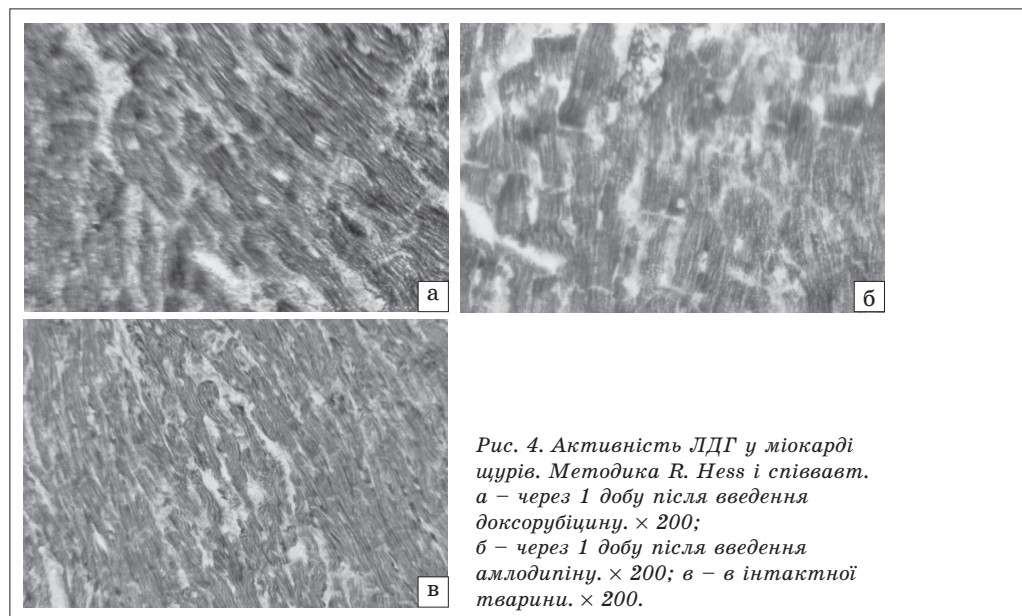


Рис. 4. Активність ЛДГ у міокарді щурів. Методика R. Hess і співвавт. а – через 1 добу після введення доксорубіцину. $\times 200$; б – через 1 добу після введення амлодипіну. $\times 200$; в – в інтактній тварини. $\times 200$.

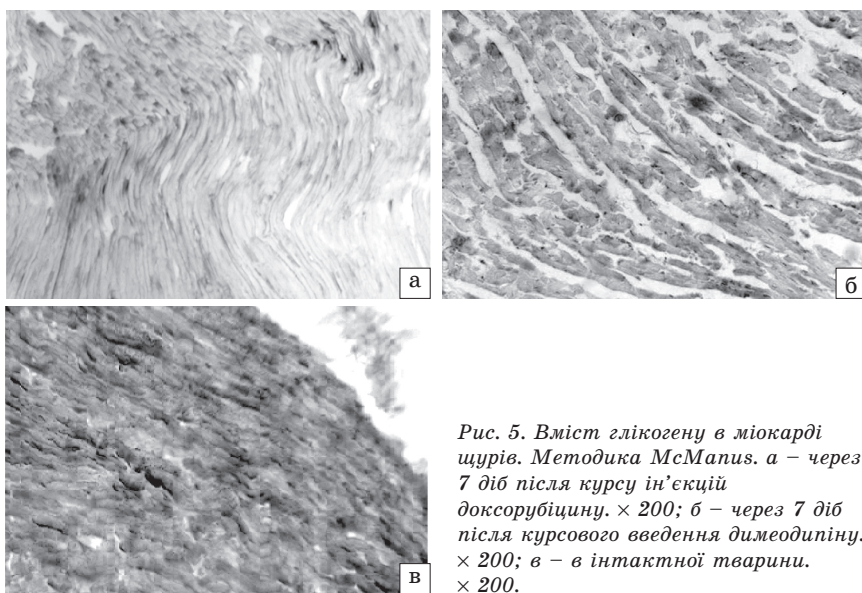


Рис. 5. Вміст глікогену в міокарді щурів. Методика McManus. а – через 7 діб після курсу ін'єкцій доксорубіцину. $\times 200$; б – через 7 діб після курсового введення димеодипіну. $\times 200$; в – в інтактній тварини. $\times 200$.

більше в цей строк дослідження, ніж на 7-у добу експозиції.

У групах тварин із доксорубіциновою кардіоміопатією, яким вводили амлодипін та димеодипін, вміст глікогену на 1-у добу спостереження дещо вищий, ніж у міокарді щурів контрольної групи, але значно менший порівняно з інтактними тваринами. У поодиноких осередках деструкції міоцитів відмічається цілковита відсутність ШИК-позитивної реакції, в інших ділянках саркоплазма дифузно забарвлюється реактивом Шиффа в блідо-рожевий колір, в окремих групах волокон наявні лише дрібні гранули глікогену. У більш віддалені терміни спостереження (7-а доба) уміст глікогену в кардіоміоцитах осередками збільшувався, гранули глікогену були більшими й відносно рівномірно виявлялися в саркоплазмі (рис. 5 б), що свідчить про оптимізацію енергозабезпечення міокарда за даних умов експерименту.

Висновки

1. За результатами морфологічних досліджень на експериментальній моделі доксорубіциніндукованої кардіоміопатії в щурів встановлено, що блокатори кальцієвих каналів, амлодипін і димеодипін, проявляють кардіопротекторні властивості. Суттєвої різниці між амлодипіном і димеодипіном за впливом на морфофункціональний стан робочого міокарда не виявлено.
2. Корируюча дія амлодипіну і димеодипіну полягає в зменшенні атрофічних і літичних змін кардіоміоцитів, зменшенні набряку сполучної тканини, підвищенні активності СДГ і вмісту глікогену в саркоплазмі м'язових волокон, зниженні активності ЛДГ, що загалом є морфологічними показниками часткового відновлення енергетичного метаболізму міокарда.

1. Shen F. Quantitation of Doxorubicin Uptake, Efflux, and Modulation of Multidrug Resistance in MDR Human Cancer Cells / Shen F., Chu S., Bence A. // J. Pharmacol. and Exp. Ther. – 2008. – V. 324, № 1. – P. 95–102.
2. Калинкина Н. В. Повреждения антрациклинами / Калинкина Н. В. // Донецкий мед. ун-т. – Донецк: Каштан, 2008. – 382 с.
3. Влияние антрациклиновых антибиотиков на ионные токи и сокращение волокон предсердия лягушки, связанное с $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменом / Букей Т. И., Филиппов А. К., Василец Л. А., Порошков В. И. // Укр. кардіол. журн. – 1999. – № 5. – С. 48–51.
4. Експериментальне обґрунтування хімічної природи дифодипіну та можливості використання його в якості блокатора трансмембранного току кальцію через потенціалозалежні кальцієві

-
- каналы / Мохорт М. А., Серединська Н. М., Шаламай А. С. [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2009. – № 1 (8). – С. 48–54.
5. Закон України № 3447–IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» // Відомості Верховної Ради України. – 2006. – № 27. – С. 230.
6. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg, 1986. – 53 p.
7. Пирс Э. Гистохимия / Э. Пирс. – М.: Иностранная литература, 1962. – 962 с.

С. В. Пакришень, А. В. Матвиенко, Е. Н. Килимник

Влияние амлодипина и димеодипина на структурно-функциональное состояние миокарда при доксорубициновой кардиомиопатии

Блокаторы кальциевых каналов амлодипин и димеодипин оптимизируют энергетические процессы в миокарде при сформированной доксорубициновой кардиомиопатии у крыс. Полученные результаты структурных, гистоэнзиматических, гистохимических исследований и морфометрии свидетельствуют о коррекции структурно-функционального состояния кардиомиоцитов при данных условиях эксперимента.

Ключевые слова: кардиотоксичность, амлодипин, димеодипин, доксорубицин

S. V. Pakrishen, A. V. Matvienko, E. N. Kylymnyk

Effects of amlodipine and dimeodipine on the structural and functional state of the myocardium under doxorubicin induced cardiomyopathy

Calcium channel blockers amlodipine and dimeodipine optimized energy processes in the myocardium under formed doxorubicin cardiomyopathy in rats. The results of structural, histoenzymatical, histochemical and morphometric studies have witnessed the correction of structural and functional state of cardiomyocytes under these experimental conditions.

Key words: cardiac, amlodipine, dimeodipine, doxorubicin

Надійшла: 29.01.2013 р.

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

О. М. Пясковська¹, В. Я. Момот¹, Д. Л. Колесник¹,
Г. В. Горбик¹, А. С. Шаламай², Г. І. Соляник¹

Дослідження антиангіогенного потенціалу Корвітину

¹Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
імені Р. Є. Кавецького НАН України, м. Київ

²ПАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод», м. Київ

Ключові слова: Корвітин, ендотеліальні клітини, пухлинний ангіогенез

Прагнення досягти повної деструкції злоякісної пухлини, що було основною та, нажаль, недосяжною метою цитотоксичної протипухлинної терапії, наприкінці минулого століття змінилося новою ідеологією, згідно з якою протипухлинна терапія повинна забезпечити подовження тривалості життя пацієнтів у комплексі з покращанням його якості. Такі суттєві зміни в стратегії лікування онкологічних хворих були зумовлені низькою специфічністю протипухлинної дії традиційних методів цитотоксичної терапії (променевої та хіміотерапії) та їхньою високою токсичністю відносно нормальних органів і тканин. Зміна ідеології лікування онкологічних хворих стимулювала розробку нових стратегій протипухлинної терапії, до яких належить антиангіогенна терапія. В її основі лежить інгібування росту судин у пухлині за рахунок проліферативної активності ендотеліальних клітин та/або продукції проангіогенних цитокінів, що секретуються як пухлинними клітинами, так і ендотеліоцитами. Створення нових протипухлинних препаратів з антиангіогенним механізмом дії є актуальною задачею сучасної онкології.

Експериментальні та клінічні дослідження свідчать про широке застосування в медичній практиці препаратів біофлавоноїдів, яким притаманні різноманітні біологічні властивості: антиоксидантні, ендокринно- та нейро модулюючі, мембранопротекторні, ангіопротекторні та інші. Особливу увагу привертає кверцетин, для якого встановлені лікувальні властивості при серцево-судинній

патології, експериментально доведена ультрацереогенна дія, позитивний вплив на функціональний стан печінки та нирок [1]. Представляють інтерес також імуномодуючі, антигістамінні та антиоксидантні властивості кверцетину. Об'єктом поглибленого дослідження стала здатність кверцетину інгібувати ріст пухлинних клітин *in vitro* та *in vivo*. Уважається, що в основі такої протипухлинної дії може лежати вплив на мітотичний цикл пухлинних клітин, їхнє мікрооточення, активність імунокомпетентних клітин організму, а також пухлинний ангіогенез [2–4].

Такі властивості кверцетину стали основою для проведення широкомасштабних доклінічних та клінічних досліджень кверцетину як потенційного протипухлинного агента. Однак успішне проведення клінічних досліджень обмежувалось його низькою біодоступністю, спричиненою поганою розчинністю в біологічних рідинах організму, що призводило до значної індивідуальної варіабельності фармакокінетичних параметрів, та ускладнювало проведення клінічних досліджень.

Українськими вченими було створено та впроваджено в клінічну практику (у першу чергу в комплексній терапії серцево-судинних патологій) водорозчинний препарат кверцетину – Корвітин. Водорозчинна форма кверцетину відкриває можливість провести доклінічні дослідження його впливу на процеси, що забезпечують ріст та прогресію злоякісних новоутворень. Серед цих процесів важливе місце займає пухлинний ангіогенез.

Мета дослідження – вивчити антиангіогенні властивості Корвітину в дослідках *in vitro* та *in vivo*.

Матеріали та методи. Для тестування про-/ антиангіогенної дії Корвітину як експериментальні моделі було використано клітинну лінію ендотелію (МАЕС), люб'язно надану д-ром Т. О. Левченко (Стокгольмський раковий Інститут, Швеція) та лінію пухлинних клітин LLC/R9 (варіант карциноми легені Льюїс з високим ангіогенним потенціалом) [5]. Ендотеліальні клітини МАЕС були одержані з аорти мишей та іморталізовані *in vitro* [6].

Ендотеліальні та пухлинні клітини культивували в повному поживному середовищі RPMI 1640 (Sigma, США), що містило 10 % ембріональної сироватки телят великої рогатої худоби (Sigma, США), 2 мМ L-глутаміну і 40 мкг/мл гентаміцину сульфату за стандартних умов при температурі 37 °C, 5 % CO₂, 100 % вологості.

Для отримання експериментальних моделей пухлин *in vivo* клітини LLC/R9 нарощували *in vitro* та інокулювали мишам лінії C57Bl/6 внутрішньом'язово в праве стегно в кількості 10⁶ клітин у 0,1 мл розчину Хенкса.

Цитостатичну/цитотоксичну дію Корвітину на клітини ліній МАЕС та LLC/R9 досліджували *in vitro* за допомогою МТТ-тесту [7]. Для цього клітини висаджували в 96-лункові планшети в 100 мкл повного поживного середовища. Через 16 год додавали Корвітин у концентраціях, які прогресивно зменшувалися (у діапазоні від 3,0 мкг/мл до 0,33 мкг/мл) та інкубували за стандартних умов протягом 48 год. Контролем були клітини, до яких додавали відповідний об'єм середовища інкубації. Цитостатичну/цитотоксичну дію Корвітину характеризували за параметром IC₅₀ (концентрація препарату, що викликає 50 % зменшення кількості живих клітин), який розраховували за даними експериментальних досліджень за допомогою пакета програм Origin v.8.5.

Рівень продукції VEGF ендотеліальними та пухлинними клітинами визначали імуноферментним методом (ELISA) з використанням набору анти-тіл проти мишачого VEGF (R&D, США) згідно з протоколом виробника. У досліджах *in vitro* рівень VEGF визначали в супернатанті, який відбирали

через дві доби інкубації клітин (МАЕС і LLC/R9) з Корвітином. Вплив Корвітину на продукцію VEGF визначали в трьох концентраціях для кожної клітинної культури: нецитотоксична чи слабоцитотоксична (менша за IC₅₀), друга близька до IC₅₀, і третя – цитотоксична.

Для дослідження протипухлинної антиангіогенної дії Корвітину *in vivo* тварин (на другий день після інокуляції пухлинних клітин) розподілили на 2 групи (сліпим вибірковим методом) та починали терапію Корвітином. Для цього препарат розчиняли у фізіологічному розчині *ex tempore* та вводили мишам у дозі 4,5 мг/г ваги мишей внутрішньочеревинно 3 рази на тиждень протягом 3 тижнів (усього 9 введень), починаючи із другого дня після перещеплення пухлини. Контрольним тваринам вводили внутрішньочеревинно фізіологічний розчин у такому самому об'ємі та за тією самою схемою.

Протипухлинну дію оцінювали за відсотком гальмування росту пухлини (ГРП), який розраховували за формулою:

$$\text{ГРП} = \frac{V_{\text{к}} - V_{\text{д}}}{V_{\text{к}}} \cdot 100 \%, \quad (1)$$

де: V_д і V_к – об'єм пухлин у тварин дослідної та контрольної груп на 25 добу після перещеплення пухлини відповідно.

Для оцінки антиметастатичної дії Корвітину (проводили в ті самі терміни, що й протипухлинну активність) тварин знеживлювали декапітацією під ефірним наркозом, вилучали легені та проводили візуальний підрахунок кількості метастазів (загальну та за лінійними розмірами). Об'єм метастатичного ураження (ОМУ) легень розраховували за формулою:

$$\text{ОМУ} = \sum \left(n_i \cdot \frac{3,14 \cdot d_i^3}{6} \right) \quad (2)$$

$$d_i = 0,5; 1,0; 1,5; \dots ;$$

де n_i – кількість метастазів діаметром d_i.

Розраховували також середню кількість метастазів (у долях) в аваску-

лярній фазі їхнього росту. Останній показник є одним з основних для характеристик протипухлинних агентів з антиангіогенним механізмом дії. До аваскулярних метастазів відносили метастази, діаметр яких не перевищував 1 мм.

Концентрацію фактора росту ендотелію судин (VEGF) у сироватці крові тварин з пухлинами на 25 добу після перещеплення пухлинних клітин визначали імуноферментним методом, з використанням набору антитіл проти мишачого VEGF (R&D, США) згідно з протоколом виробника, адаптованим для досліджень рівня цитокіну в сироватці крові.

Статистичний аналіз одержаних результатів дослідження проводили з використанням дескриптивних методів, t-тесту та нелінійного регресійного аналізу.

Результати та їх обговорення. Антиангіогенний потенціал фармакологічних агентів пов'язують з їхньою здатністю інгібувати проліферативну активність ендотеліальних клітин за рахунок прямої цитостатичної/цитотоксичної дії, чи за рахунок інгібування продукції проангіогенних цитокінів як ендотеліальними, так і пухлинними клітинами. Проведені нами дослідження показали, що Корвітин проявляє виражену цитостатичну/цитотоксичну дію на активно проліферуючі ендотеліальні клітини, зумовлюючи зменшення кількості ендотеліоцитів більше ніж на 80 % у достатньо вузькому діапазоні концентрацій (0,3–0,9 мг/мл) (рис. 1). При цьому чутливість активно проліферуючих ендотеліальних клітин до цитостатичної/цитотоксичної дії корвітину (оціненої за параметром IC_{50}) більше ніж у 3 рази вища за чутливість ендотеліальних клітин, що знаходяться в стані спокою (табл. 1).

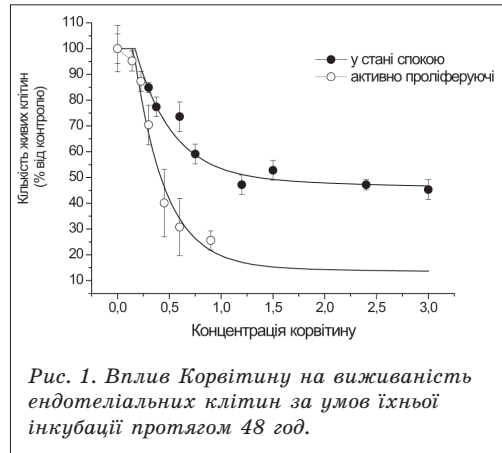


Рис. 1. Вплив Корвітину на виживаність ендотеліальних клітин за умов їхньої інкубації протягом 48 год.

Звертає на себе увагу, що близько 45 % ендотеліальних клітин у стані спокою не чутливі до дії Корвітину в достатньо високих концентраціях (рис. 1). Це вказує на здатність Корвітину інгібувати утворення нових судин при низькій його цитотоксичності відносно існуючих в організмі судин. Активно проліферуючі ендотеліальні клітини також більш чутливі до цитостатичної/цитотоксичної дії препарату, аніж пухлинні клітини. Так, IC_{50} Корвітину відносно клітин LLC/R9 на 24 % вище ($P < 0,05$) за відповідний показник активно проліферуючих ендотеліоцитів (табл. 1).

Цитостатична/цитотоксична дія Корвітину відносно ендотеліальних клітин може бути частково пов'язана з його здатністю інгібувати секрецію проангіогенних цитокінів, у тому числі VEGF [8]. Проведені дослідження підтвердили існування такого зв'язку. Було виявлено, що Корвітин у всіх досліджуваних концентраціях статистично вірогідно гальмує продукцію VEGF ендотеліальними клітинами при експоненційному рості (рис. 2 а). Навіть у низькій не цитотоксичній концентрації (0,15 мг/мл) секреція основного проангіогенного цитокіну зменшувалась майже на 45 % ($P < 0,001$).

Таблиця 1

Показники цитотоксичної/цитостатичної дії Корвітину відносно ендотеліальних та пухлинних клітин ($M \pm t$)

Клітини	IC_{50} (мг/мл)
MAEC (активно проліферуючі)	$0,42 \pm 0,05$
MAEC (у стані спокою)	$1,34 \pm 0,20$
LLC/R9	$0,5460 \pm 0,0009$

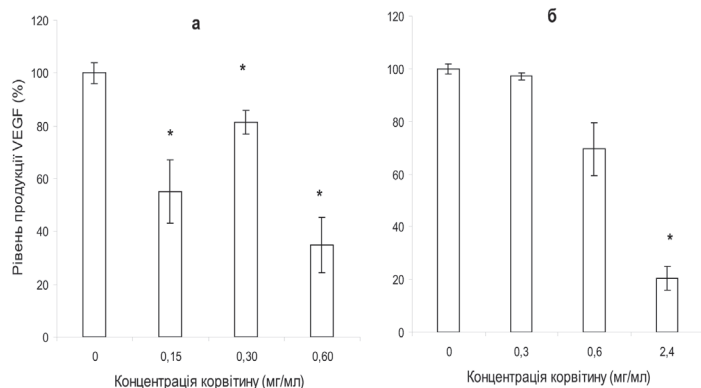


Рис. 2. Вплив Корвітину на рівень продукції VEGF (% від контролю) ендотеліальними клітинами в експоненційній (а) та стаціонарній (б) фазі росту.

Примітка. *Вірогідно щодо контролю (проба без Корвітину).

У випадку ендотеліальних клітин у фазі спокою інгібування продукції VEGF виявлено лише при концентрації агента 2,4 мг/мл, яка майже в 2 рази вища за IC₅₀ (рис. 2 б).

Дослідження показали, що Корвітин не впливає на секрецію VEGF пухлинними клітинами LLC/R9, рівень якої достатньо високий порівняно з відповідним контролем (табл. 2).

Таким чином, дослідження ангіогенного потенціалу Корвітину *in vitro* показали його здатність інгібувати проліферативну активність активно проліферуючих ендотеліальних клітин (які є основою пухлинного ангіогенезу) за

рахунок прямої цитостатичної/цитотоксичної дії та частково за рахунок інгібування продукції VEGF. Ураховуючи вищесказане, можна очікувати наявність протипухлинної активності Корвітину за рахунок його інгібуючого впливу на пухлинний ангіогенез. Проведені *in vivo* дослідження підтвердили таке припущення.

Аналіз протипухлинної дії Корвітину стосовно LLC/R9 показав, що досліджуваний агент суттєво не впливав на ріст первинної пухлини, об'єм первинної пухлини в мишей, що одержували Корвітин, вірогідно не відрізнявся від такого в контролі, однак проявляв значну антиметастатичну дію (табл. 3).

Не зважаючи на відсутність гальмування Корвітином росту пухлин LLC/R9, у результаті досліджень було показано, що препарат проявляє антиметастатичну дію. Як видно з таблиці 3, спостерігається виражена тенденція до зменшення середньої по групі кількості метастазів у тварин, лікованих Корвітином, порівняно з контрольною гру-

Таблиця 2

Рівень продукції VEGF клітинами LLC/R9 після їхньої інкубації з Корвітином протягом 48 год

Концентрація Корвітину, мг/мл	Рівень продукції VEGF, пг/мл
0	184,8 ± 20,0
0.3	215,5 ± 0,3
0,375	181,6 ± 23,0
0,6	165,9 ± 22,0

Таблиця 3

Вплив Корвітину на ріст і метастазування LLC/R9

Сумарна доза Корвітину, мг/г маси тіла	Загальна кількість тварин у групі	Об'єм первинної пухлини, мм ³	Середня кількість метастазів по групі	Середній об'єм метастатичного ураження по групі, мм ³
0 (контрольні тварини)	10	683,2 ± 129,3	3,1 ± 0,9	5,0 ± 1,3
4,5	13	949,3 ± 101,8	1,55 ± 0,60	1,5 ± 0,9*

Примітка. Тут і в табл. 4: *Вірогідно щодо значень відповідного показника в контролі, P < 0,05.

Таблиця 4

Показники метастазування в мишей після терапії Корвітином

Сумарна доза корвітину, мг/г маси тіла	Кількість тварин з метастазами, % від загальної кількості в групі	Середня кількість метастазів	Середній об'єм метастатичного ураження, мм ³	Доля метастазів в аваскулярній фазі, %
0 (контроль)	90	3,30 ± 0,53	5,3 ± 1,2	41,0 ± 12,0
4,5	54,5	2,8 ± 0,9	2,74 ± 1,9	86,0 ± 10,1

Таблиця 5

Рівень фактора росту ендотелію судин (VEGF) у сироватці крові мишей на 25 добу після перещеплення пухлин LLC/R9

Група тварин	Доза Корвітину, мг/г маси тіла	Рівень VEGF, пг/мл
Інтактні миші (без пухлин)	0,0	21,0 ± 2,4
Миші-пухлиноносії	0,0 (контроль)	157,2 ± 15,4
	4,5	55,1 ± 20,3

Примітка. *Вірогідно щодо значень показника в інтактних тварин, $P < 0,05$; **вірогідно щодо значень показника в контролі, $P < 0,01$.

пою. Найвираженіший інгібуючий вплив Корвітину на процес метастазування проявляється в значному зменшенні об'єму метастатичного ураження. Так, введення Корвітину призводить до 3-разового зменшення ($P < 0,05$) об'єму легневих метастазів у мишей (табл. 3).

Треба підкреслити, що інгібування росту метастазів вважається одним з основних проявів протипухлинної активності фармакологічних агентів з антиангіогенним механізмом дії.

Детальний аналіз антиметастатичного ефекту Корвітину показав, що зменшення середньої (по групі) кількості метастазів та об'єму метастатичного ураження в лікованих тварин обумовлено значною мірою повним інгібуванням метастатичного процесу в 45 % тварин. Ефект статистично достовірний порівняно з контрольною групою, де тільки 10 % тварин не мали метастазів у легенях (табл. 5).

У тварин з метастазами не відмічено впливу Корвітину на кількість метастазів. Однак відмічається виражена тенденція до зменшення об'єму метастазів у мишей після терапії за рахунок статистично достовірного збільшення ($P < 0,05$) долі метастазів в аваскулярній фазі. Останнє є підтвердженням антиангіогенної дії препарату.

Антиангіогенна активність Корвітину в дозі 4,5 мг/г відносно LLC/R9 під-

тверджується й результатами дослідження впливу препарату на рівень циркулюючого VEGF. Уведення мишам Корвітину призводить до майже 3-разового ($P < 0,01$) зменшення рівня циркулюючого VEGF (табл. 5), що, скоріше за все, і зумовлює суттєве збільшення кількості метастазів у мишей цієї групи, які знаходяться в аваскулярній фазі росту (табл. 4). Треба зауважити, що зменшення рівня VEGF у тварин з LLC/R9 після лікування Корвітином корелює з продемонстрованою нами в досліді *in vitro* здатністю його інгібувати продукцію VEGF ендотеліальними клітинами.

Таким чином, проведені дослідження антиангіогенного потенціалу Корвітину *in vitro* виявили його високу цитостатичну/цитотоксичну дію відносно активно проліферуючих ендотеліальних клітин, а також здатність цього препарату інгібувати продукцію VEGF цими клітинами. Такий антиангіогенний потенціал Корвітину зумовлює його антиметастатичну дію *in vivo*, що проявляється, у першу чергу, у здатності препарату суттєво інгібувати ріст легневих метастазів у мишей з LLC/R9. Отримані результати вказують на доцільність проведення масштабніших доклінічних досліджень впливу Корвітину на пухлинний процес та перспективність застосування цього препарату в онкологічній практиці.

1. Мохорт М. А. Фармакодинаміка кверцетину та його лікарських форм / М. А. Мохорт, І. В. Данова, С. О. Мисленко // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2009. – № 6 (13). – С. 3–7.
2. Induction of apoptosis by the *Lactuca indica* L. in human leukemia cell line and its active components / Y. H. Chen, H. Y. Chen, C. L. Hsu., G. C. Yen // J. Agric. Food Chem. – 2007. – № 5 (55). – P. 1743–1749.
3. Ackland M. L. Synergistic antiproliferative action of the flavonols quercetin and kaempferol in cultured human cancer cell lines / M.L. Ackland, S. van de Waarsenburg, R. Jones // In Vivo. – 2005. – № 1 (19). – P. 69–76.
4. Integrated assessment by multiple gene expression analysis of quercetin bioactivity on anticancer-related mechanisms in colon cancer cells in vitro / M. J. van Erk, P. Roepman, T. R. van der Lende [et al.] // Eur. J. Nutr. – 2005. – № 4 (44). – P. 143–156.
5. Solyanik G. I. Cisplatin-resistant Lewis lung carcinoma cells possess increased level of VEGF secretion / G. I. Solyanik, O. N. Pyaskovskaya, L. V. Garmanchouk // Exp. Oncol. – 2003. – № 4 (21). – P. 260–265.
6. Heterogeneity of mouse vascular endothelium / F. Gumcovski, G. Kaminska, M. Kaminski, [et al.] // Blood Vessels. – 1987. – (24). – P. 11–23.
7. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxic assays / T. Mosmann // J. Immunol. Methods. – 1983. – (65). – P. 55–63.
8. Jeon H. D. Quercetin activates an angiogenic pathway, hypoxia inducible factor (HIF)-1 – vascular endothelial growth factor, by inhibiting HIF-prolyl hydroxylase: a structural analysis of quercetin for inhibiting HIF-prolyl hydroxylase / H. Jeon, H. Kim H, D. Choi // Mol. Pharmacol. – 2007. – № 6 (71). – P. 1676–1684.

**О. Н. Пясковская, В. Я. Момот, Д. Л. Колесник, Г. В. Горбик,
А. С. Шаламай, Г. И. Соляник**

Исследование антиангиогенного потенциала Корвитина

Исследования антиангиогенного потенциала Корвитина *in vitro* показали его высокое цитостатическое/цитотоксическое действие в отношении активно пролиферирующих эндотелиальных клеток, а также способность ингибировать секрецию VEGF этими клетками. Такой антиангиогенный потенциал Корвитина обуславливает его антиметастатическое действие *in vivo*, которое проявляется в способности значительно ингибировать рост легочных метастазов у мышей с LLC/R9. Полученные результаты указывают на целесообразность проведения более широких доклинических исследований влияния корвитина на опухолевый процесс и перспективность использования этого препарата в онкологической практике.

Ключевые слова: Корвитин, эндотелиальные клетки, опухолевый ангиогенез

**О. N. Pyaskovskaya, V. Ya. Momot, D. L. Kolesnik, G. V. Gorbik,
A. S. Shalamay, G. I. Solyanik**

Study of antiangiogenic pothencial of Korvitin

Study of antiangiogenic potential of Korvitin *in vitro* showed its high cytostatic/cytotoxic effect against actively proliferating endothelial cells and an ability to inhibit VEGF secretion by these normal cells. Such antiangiogenic potential stipulated antimetastatic efficacy of Korvitin *in vivo*, that was exhibited in considerable decrease of the volume of LLC/R9 lung metastases. Obtained result showed that Korvitin may be considered as promising anticancer drug but before application in clinical oncology realization of an extended preclinical study of it anticancer and antimetastatic activity is necessary.

Key words: Korvitin, endothelial cells, tumor angiogenesis

Надійшла: 04.10.2012 р.

Контактна особа: Момот Валентина Яківна, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України, вул. Васильківська, буд. 45, м. Київ, 03022. Тел: +38 (044) 257-94-16.
Електронна пошта: momot@onconet.kiev.ua

З. С. Суворова

Вплив похідних алкоксіамінопропанолу на формування біоплівки грамнегативними бактеріями

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

Ключові слова: біоплівки, мікроорганізми, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, похідні алкоксіамінопропанолу, антибіотики

Стійкість збудників гнійно-запальних процесів до антибіотиків є основною причиною недостатньої ефективності антимікробної хіміотерапії. Не дивлячись на достатню кількість антимікробних засобів (більше 30 груп препаратів), антибіотикорезистентність залишається актуальною проблемою клінічної медицини. Особливо небезпечними є метицилін-резистентний стафілокок (*MRSA*), ентерококи, псевдомонади, ентеробактерії, зокрема, продукуючі β -лактамази, практично нечутливі до сучасних антимікробних препаратів [1–4].

Одне із провідних місць у структурі гнійно-запальних процесів займають ентеробактерії. Близько 13 з 30 родів родини *Enterobacteriaceae* можуть обумовлювати різноманітні хвороби кишкової та некишкової локалізації. Серед них – *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia* [5]. Ці мікроорганізми спричиняють інфекції сечовивідних шляхів (СВШ), ускладнюють перебіг післяопераційних ран, спричиняють інфекції кісток та суглобів, верхніх та нижніх дихальних шляхів, шлунково-кишкового тракту тощо [6].

Дослідженнями останнього десятиліття встановлено, що більшість мікроорганізмів існує у вигляді специфічно організованих та прикріплених до субстрату біоплівок [7–9]. Біоплівки є основною стратегією виживання бактерій в екологічних нішах. Знаходячись

у прикріпленому стані в складі біоплівок, бактерії захищені від впливу пошкоджуючих факторів зовнішнього середовища та антимікробних речовин. Згідно із сучасним уявленням, біоплівка – це шар бактеріальних клітин, прикріплених до поверхні та один до одного, та вкритий полімерним матриксом. Мікроорганізми утворюють біоплівку на різних біологічних та абіотичних поверхнях, що створює серйозну проблему для медичної практики.

Біоплівки спричиняють близько 65–80 % усіх гнійно-запальних процесів, обумовлюють більшість хронічних інфекцій (верхніх дихальних шляхів, легень, серця, нирок, шкіри, кісток, системи травлення), контамінують практично всі штучні імпланти та катетери [16, 17]. Здатність мікроорганізмів до плівкоутворення є одним із вирішальних факторів у передачі внутрішньолікарняних інфекцій, при цьому значна роль належить саме грамнегативним мікроорганізмам, зокрема, клебсієлам, ешеріхіям, псевдомонадам тощо [10–12]. Процес формування біоплівок є складним, його етапи наведено на рисунку 1.

Мікроорганізми у формі біоплівок виявляють надзвичайну стійкість до дії сучасних антимікробних препаратів. Бактерії та гриби в біоплівках виживають у присутності антибіотиків, концентрації останніх у 500–1000 разів перевищують мінімальні інгібуючі [13–15]. Стійкість біоплівок до дії антимікробних засобів забезпечують: полімерний матрикс, що вкриває біоплівку; інактивація антибіотиків позаклітинними полімерами чи ферментами; уповільнення метаболізму клітин мікроорганізмів, які знаходяться в глибині біоплівки і, відповідно, зменшення швидкості їхнього росту за умов ліміту-

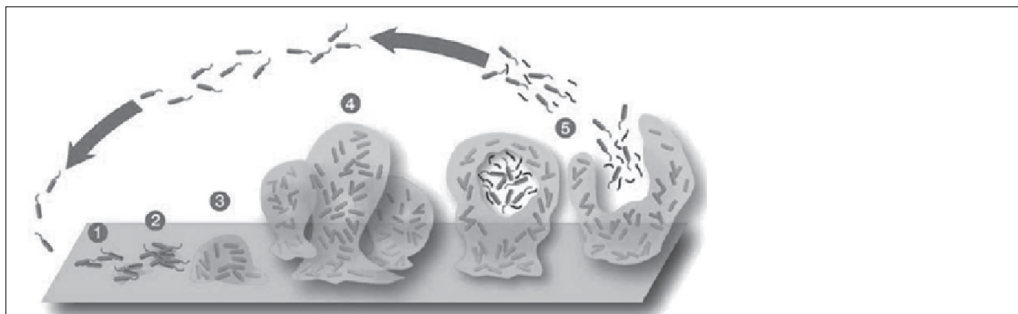


Рис. 1. Етапи формування біоплівки (копія із wonglab.seas.ucla.edu).

Примітка. 1 – первинне прикріплення мікроорганізмів до поверхні (адгезія, сорбція), стадія зворотна; 2 – фіксація мікроорганізмів до поверхні, стадія незворотна. Мікроорганізми виділяють позаклітинні полімери, які забезпечують стійку адгезію; 3 – дозрівання плівки. Клітини, які прикріпились до поверхні, полегшують прикріплення наступних клітин, позаклітинний матрикс утримує всю колонію. Накопичуються поживні речовини, початок ділення клітин; 4 – ріст біоплівки, збільшення її розмірів та форми. Позаклітинний матрикс захищає клітини від агресивних факторів навколишнього середовища; 5 – розповсюдження мікроорганізмів. Від біоплівки відокремлюються мікроорганізми, які здатні прикріплюватись до поверхні й утворювати нові колонії.

вання поживних речовин у біоплівці; експресія генів резистентності; формування в присутності антимікробного препарату мікроорганізмів – персистерів [18, 19, 23].

Таким чином, зростання кількості резистентних штамів та формування ними мікробних співтовариств – біоплівки, зниження ефективності антимікробних препаратів, усе це свідчить про необхідність пошуку нових сполук з антимікробною дією, активних як відносно планктонних мікроорганізмів, так і відносно біоплівки.

Мета дослідження – визначити чутливість біоплівки грамнегативних бактерій до дії похідних алкоксіамінопропанолу.

Матеріали та методи. Експерименти проведено з використанням клінічних штамів *E. coli* (*Escherichia coli*) 51, *P. aeruginosa* (*Pseudomonas aeruginosa*) 46, *K. pneumoniae* (*Klebsiella pneumoniae*) 3884, виділених від хворих гнійно-запальними процесами. Культура *P. aeruginosa* 46 виявила чутливість до дії ципрофлоксацину, амікацину, гентаміцину, резистентна до цефотаксиму, цефепіму, тетрацикліну та меропенему. *E. coli* 51 була чутливою до дії цефалоспоринів (цефтріаксону, цефепіму, цефотаксиму та ін.), представника карбопенемів – меропенему, хінолонів (ципрофлоксацину, норфлоксацину), помірно чутлива до дії амікацину. Культура *K. pneumoniae*

3884 виявила чутливість до дії фторхінолонів (ципрофлоксацину, норфлоксацину), карбопенемів (меропенему) та цефалоспоринів (цефтріаксону), резистентна до дії аміноглікозидів (гентаміцину), цефалоспоринів (цефуроксіму, цефепіму, цефтазидиму).

Чутливість мікроорганізмів до дії похідних алкоксіамінопропанолу визначали методом серійних мікророзведень і оцінювали за показником мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) [24]. Щільність інокуляту складала 10^5 КУО/мл поживного середовища. Експерименти проведено з використанням поживного бульйону Мюллера-Хінтона.

Здатність похідних алкоксіамінопропанолу впливати на процес формування біоплівки досліджували на 1-добових культурах бактерій. Дослідження проведено в пластикових планшетах для імуноферментного аналізу [9]. Сполуки вносили одночасно з внесенням бактерій. Щільність інокуляту складала 10^7 КУО/мл поживного середовища. Планшети інкубували в термостаті впродовж 24 год при 37°C . Після закінчення терміну інкубації вносили 0,1 % розчин генціанвіолету на 45 хв. Після промивки лунок дистильованою водою здійснювали екстракцію барвника 96,0 % розчином етанолу. Виміри оптичної щільності проводили на мікробіологічному аналізаторі ELx800 (BioTvk, США). У кожному експерименті ставили контроль на стерильність

поживного середовища та контроль росту культури.

Для цих експериментів були відібрані сполуки з найвиразнішою інгібуючою дією щодо відповідного еталонного тест-мікроорганізму. В експериментах використані сполуки: КВМ-114, КВМ-176, КВМ-177, КВМ-187, КВМ-190, КВМ-194, КВМ-204.

Сполуки синтезовані в Інституті органічної хімії кандидатом фарм. наук Ю. В. Коротким. Препаратами порівняння в дослідженні були: Гентаміцин, виробництва ЗАТ ФФ «Дарниця»; Ципрофлоксацин, виробництва ВАТ «Київмедпрепарат»; Цефтриаксон, виробництва «Борисівський завод медичних препаратів» (Білорусь).

Результати та їх обговорення. Проведеними дослідженнями встановлено, що МІК сполук відносно *E. coli* 51 складає: 3,12 мкг/мл (КВМ-194), 6,25 мкг/мл (КВМ-114, КВМ-187, КВМ-204), 12,5 мкг/мл (КВМ-177). Відносно *K. pneumoniae* 3884 МІК сполук КВМ-114 та КВМ-194 – 3,12 мкг/мл, КВМ-187 – 12,5 мкг/мл, КВМ-204 – 6,25 мкг/мл. Відносно *P. aeruginosa* 46 МІК похідних алкоксіамінопропанолу складають: КВМ-176 – 25,0 мкг/мл, КВМ-190 – 1,56 мкг/мл, КВМ-194 – 6,25 мкг/мл, КВМ-204 – 3,12 мкг/мл.

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

Отримані результати наведено на рисунку 2.

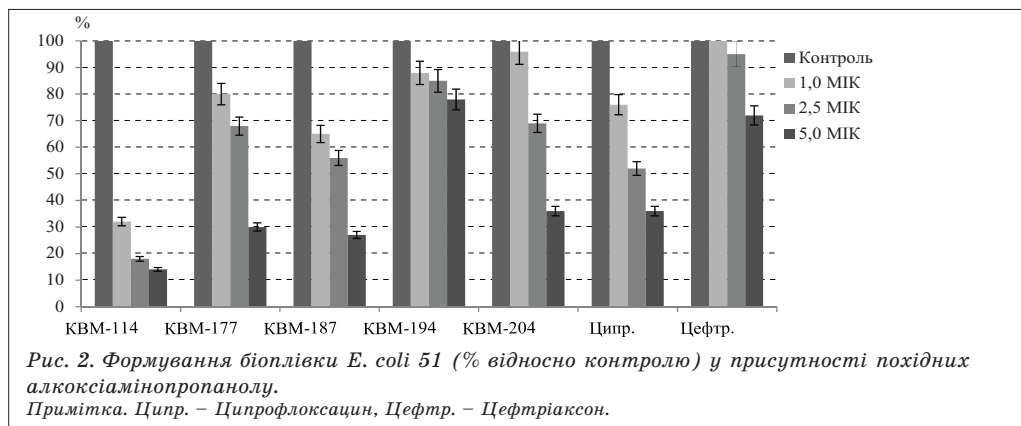
Дані, наведені на рисунку 2, свідчать, що вперше синтезовані сполуки

порушують процес плівкоутворення *E. coli*, ступінь вираженості інгібуючого ефекту залежить від сполуки та концентрації. У концентрації 1,0 МІК порушення процесу плівкоутворення *E. coli* більшою мірою спостерігається за умови присутності в інкубаційному середовищі сполук КВМ-114 та КВМ-187, пригнічення плівкоутворення складає 68,0 % та 35,0 % відповідно. Інгібуючий ефект цих сполук зареєстровано й при концентрації 2,5 МІК, інгібіція складає 82,0 % (КВМ-114) та 44,0 % (КВМ-187). При концентрації 5,0 МІК пригнічуючий ефект сполук зростає. Так, сполука КВМ-114 інгібує утворення біоплівки на 86,0 %, КВМ-187 – на 73,0 % порівняно з контролем. Менша інгібуюча дія спостерігається й у сполук КВМ-177, КВМ-194 та КВМ-204.

В експериментах препарати порівняння не виявили виразного впливу на процес плівкоутворення кишкової палички. При концентрації Ципрофлоксацину 1,0 МІК інгібіція плівкоутворення складала 34,0 %, при 2,5 МІК – 48,0 %, при 5,0 МІК – 66,0 % порівняно з контролем.

Цефтриаксон в концентрації 1,0 МІК не впливав на процес плівкоутворення, у концентрації 2,5 МІК інгібіція складала 5,0 %, при 5,0 МІК – 28,0 % порівняно з контролем.

Результати проведених експериментів свідчать, що вперше синтезовані похідні алкоксіамінопропанолу дозозалежно впливають на формування біоплівки *E. coli*. Найактивнішою відносно *E. coli* виявилася сполука КВМ-114, яка вже в концентрації 1,0 МІК пригнічувала ріст біоплівки. За відсотком перешкоджання формування біоплівки киш-



кової палички, похідні аміноспиртів не поступаються або перевершують дію Цефтріаксону та Ципрофлоксацину.

Активність нових похідних алкоксіамінопропанолу відносно *K. pneumoniae* 3884 наведено на рисунку 3.

Наведені на рисунку 3 дані свідчать, що *K. pneumoniae* виявила чутливість до дії всіх досліджуваних похідних алкоксіамінопропанолу. Найвиразніша дія зареєстрована в сполук КВМ-114 та КВМ-204. У концентрації 1,0 МІК сполуки КВМ-114 та КВМ-204 пригнічують плівкоутворення на 30,0 % та 34,9 % відповідно. Інгібуючий ефект цих сполук зареєстровано й при концентрації 2,5 МІК, пригнічення складало 45,0 % (КВМ-114) та 45,2 % (КВМ-204). При концентрації 5,0 МІК інгібуючий ефект збільшується. Так, сполука КВМ-114 пригнічувала плівкоутворення на 66,0 %, КВМ-204 – на 69,2 %. Вплив сполук КВМ-187 та КВМ-194 на процес плівкоутворення *K. pneumoniae* виражений у меншому ступені.

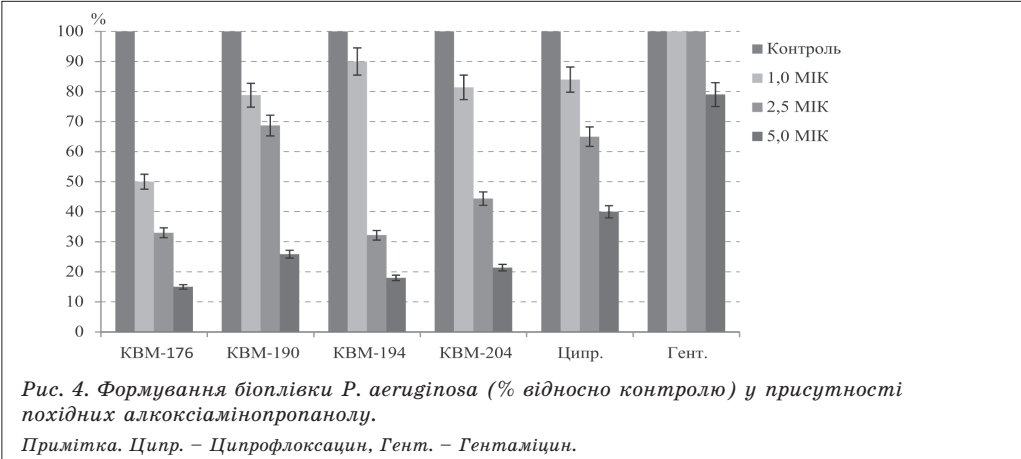
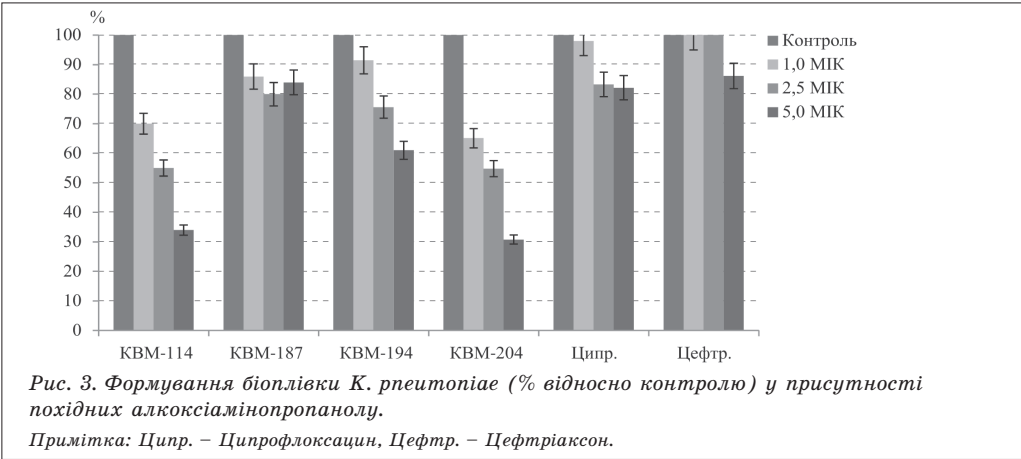
Експерименти не виявили активності препаратів порівняння відносно тест-об'єкта *K. pneumoniae* 3884. У концентрації 1,0 МІК інгібіція плівкоутворення Ципрофлоксацином складала 2,0 %, у концентрації 2,5 МІК – 16,7 %. При концентрації 5,0 МІК відсоток пригнічення становить 17,8 %.

Цефтріаксон у концентраціях 1,0 МІК та 2,5 МІК не впливав на процес плівкоутворення, у концентрації 5,0 МІК інгібіція складала 13,8 %.

Таким чином, проведені дослідження показали, що похідні алкоксіамінопропанолу впливають на процес формування біоплівки *K. pneumoniae*. Найактивнішою речовиною відносно *K. pneumoniae* виявилась сполука КВМ-204.

Активність сполук відносно *P. aeruginosa* 46 наведено на рисунку 4.

Результати проведених експериментів щодо впливу нових похідних алкоксіамінопропанолу на процес плівкоутворення синьої палички



ки (рис. 4) показали, що *P. aeruginosa* виявила чутливість до дії всіх досліджуваних сполук. Ступінь вираженості ефекту залежить від сполуки, її концентрації та знаходиться в межах 10,0–85,0 %.

Найвиразніша дія зареєстрована в сполук КВМ-194 та КВМ-176. У концентрації 1,0 МІК інгібіція плівкоутворення складала 10,0 % (КВМ-194) та 50,0 % (КВМ-176), у концентрації 2,5 МІК – 67,8 % та 67,0 % відповідно. При концентрації 5,0 МІК відсоток пригнічення для сполуки КВМ-176 становив 85,0 %, для КВМ-194 – 82,0 % порівняно з контролем.

Інгібуючий ефект сполук КВМ-190 та КВМ-204 складав при концентрації 1,0 МІК 21,2 та 18,6 % відповідно, при 2,5 МІК – 31,3 та 55,6 % відповідно, при 5,0 МІК – 74,1 та 78,6 % відповідно.

Препарати порівняння не виявили виразної активності відносно біоплівки *P. aeruginosa* 46. Гентаміцин у концентраціях 1,0 МІК та 2,5 МІК не має інгібуючого ефекту, у концентрації 5,0 МІК інгібіція складала 21,0 %. Інгібуючий

ефект Ципрофлоксацину в концентрації 1,0 МІК – 16,0 %, при 2,5 МІК – 35,0 %, при 5,0 МІК – 60,0 % порівняно з контролем.

Отримані дані свідчать, що вперше синтезовані похідні алкоксіамінопропанолу дозозалежно впливають на формування біоплівки *P. aeruginosa*, найвиразнішу дію на процес плівкоутворення синьогнійної палички здійснює сполука КВМ-176.

Висновок

Уперше синтезовані похідні алкоксіамінопропанолу дозозалежно впливають на формування біоплівки грамнегативних бактерій. Найвиразніше попереджує формування біоплівки *E. coli* та *K. pneumoniae* сполука КВМ-114, біоплівки *P. aeruginosa* – КВМ-176. Відносно *K. pneumoniae* виразна активність зареєстрована й у сполуки КВМ-204. За ступенем вираженості інгібуючого ефекту вперше синтезовані похідні алкоксіамінопропанолу перевершують препарати порівняння – Ципрофлоксацин, Цефтріаксон та Гентаміцин.

1. Семенов В. М., Дмитриченко Т. И., Жильцов И. В. // Мед. новости.– 2004.– № 2.– С. 10–17.
2. Антибактериальная терапия / Под ред. Л. С. Страчунского, Ю. Б. Белоусова, С. Н. Козлова.– М.: Полимаг, 2000.– 190 с.
3. Навашин С. М., Сазыкин Ю. С. // Антибиотики и химиотерапия.– 1998.– № 6.– С. 3–6.
4. Antibiotic resistance trends in enteropathogenic bacteria isolated in 1985–1987 and 1995–1998 in Barcelona / Prats G., Mirelis B., Lvovet T. [et al] // Antimicrob. Agents Chemother.– 2000.– № 44 (5).– Р. 1140–1145.
5. Сидоренко С. В. Инфекции, вызываемые микроорганизмами семейства Enterobacteriaceae / Сидоренко С. В. // Клинич. антибиотикотерапия.– 2003.– № 1.– С. 5–10.
6. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / Под ред. Л. С. Страчунского, Ю. Б. Белоусова, С. Н. Козлова.– Смоленск: МАКМАХ – 2007.– 464 с.
7. Costerton J. W. Bacterial biofilms in nature and disease / Costerton J. W., Geesey G. G., Cheng K.-J. [et al.] // An. Rev. Microbiol.– 1987.– V. 41 – Р. 435–464.
8. Биопленки как способ существования бактерий в окружающей среде и организме хозяина: феномен, генетический контроль и системы регуляции их развития / Ильина Т. С., Романова Ю. М., Гинцбург А. Л. // Генетика.– 2004.– Т. 40, № 11.– С. 1445–1456.
9. Образование биопленок – пример «социального» поведения бактерий / Романова Ю. М., Смирнова Т. А., Андреев А. Л., [и др.] // Микробиология.– 2006.– Т. 75, № 4.– С. 556–661.
10. Вплив комплексу мезо-тетра(4-N-метил-піридил) порфірину з вісмутом на ріст та формування біоплівки *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 / Галкін М. Б., Жилина З. І., Ішков Ю. В., [та ін.] // Мікробіологія і біотехнологія.– 2008.– № 1 (2).– С. 86–91.
11. Рафальский В. В. Особенности выбора антимикробной терапии при осложненных инфекциях мочевыводящих путей / Рафальский В. В. // Consillium medicum.– 2004.– Т. 6, № 7.– С. 75–79.
12. Costerton J. W. Cystic fibrosis pathogenesis and the role of biofilms in persistent infection / Costerton J. W. // Trends Microbiol.– 2001.– V. 9, № 2 – Р. 50–52.
13. Биопленки возбудителей уроинфекций и использование фторхинолонов / Тец В. В., Артеменко Н. К., Заславская Н. В., Тец Г. В. // Consillium medicum.– 2008.– Т. 10, № 4.– С. 7–11.
14. Davies D. Understanding biofilm resistance to antimicrobial agents / Davies D. // Nat. Rev. Drug. Discov.– 2003.– V. 2, № 2 – Р. 114–122.
15. Donlan R. M. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms / Donlan R.M., Costerton J. W. // Clinical Microbiology.– 2002.– V. 15, № 2.– Р. 167–193.
16. Wolcott R. D. Biofilms and chronic infections / Wolcott R.D., Ehrlich G.D. // JAMA.– 2008.– V. 299, № 22 – Р. 2682–2684.

-
17. Lewis K. Persister cells, dormancy and infectious disease / Lewis K. // Nat. Rev. Microbiol. – 2007. – V. 5, № 1 – P. 48–56.
 18. Влияние природных гипополидеических соединений на формирование биопленок штаммами рода *Pseudomonas* / Пужевская Т. О., Бибикина М. В., Грамматикова Н. Э. [и др.] // Антибиотики и химиотерапия (Москва). – 2009. – Т. 54, № 1–2 – С. 10–13.
 19. Белобородова Н. В. Роль микробных сообществ или биопленок в кардиохирургии / Белобородова Н. В., Байрамов И. Т. // Антибиотики и химиотерапия. – 2008. – Т. 53, № 11–12. – С. 44–59.
 20. Рекомендации по оптимизации антимикробной терапии нозокомиальных инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями в отделениях реанимации и интенсивной терапии (Пособие для врачей) / Страчунский Л. С., Решедько Г. К., Рябкова Е. Л. [и др.] // Клин. Микробиол. Антимикроб. Химиотер. – 2002. – Т. 4, № 4. – С. 379–390.
 21. Электронно-микроскопическое изучение биопленок, образуемых бактериями *Burkholderia serapia* / Смирнова Т. А., Диденко Л. В., Андреева А. Л. [и др.] // Микробиология. – 2008. – Т. 77, № 1. – С. 63–70.
 22. Watnick P. Biofilm, city of microbes / Watnick P., Kolter R. // Journal of Bacteriology. – 2000. – V. 182, № 10. – P. 2675–2679.
 23. Costerton J. W. Microbial biofilms / Costerton J.W., Lewandowski Z., Caldwell D.E. // An. Rev. Microbiol. – 1995. – V. 49. – P. 711–745.
 24. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам [Методические указания МУК 4.2.18–90–04] // Клин. Микроб. Антимикроб. Химиотер. – 2004. – Т. 6, № 4. – С. 306–359.

3. С. Суворова

Влияние производных алкоксиаминопропанола на формирование биопленок грамотрицательными бактериями

Изучено влияние новых производных алкоксиаминопропанола на формирование биопленок *E. coli*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*. Установлено, что новые производные алкоксиаминопропанола KBM-114, KBM-204 и KBM-176 дозозависимо нарушают процесс пленкообразования грамотрицательными бактериями, превышая активность Ципрофлоксацина, Цефтриаксона и Гентамицина.

Ключевые слова: биопленки, микроорганизмы, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, производные алкоксиаминопропанола, антибиотики

Z. S. Suvorova

Influence of derivatives of alkoxiaminopropanol on the biofilms formation by gram-negative bacteria

It has been studied influence of the novel derivatives of alkoxiaminopropanol on the biofilms formation by *E. coli*, *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa*. It was found that novel derivatives of alkoxiaminopropanol KBM-114, KBM-204 and KBM-176 dose-dependently disrupt the biofilms formation by gram-negative bacteria and exceed the activity of Ciprofloxacin, Ceftriaxone and Gentamicin.

Key words: biofilms, microorganisms, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, derivatives of alkoxiaminopropanol, antibiotic

Надійшла: 14.10.2012 р.

Контактна особа: Суворова Зінаїда Сергіївна, інженер, відділ фармакології протимікробних засобів, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», вул. Ежена Потье, 14, м. Київ, 03680. Тел.: + 38 (044) 456-83-32. Електронна пошта: suzi-220@bigmir.net, suvorovazina@gmail.com

А. О. Тюпка, Н. М. Кононенко, А. Л. Загайко

Вплив наноемульсії ліпосом з поліфенолами виноградного насіння на місцевий неспецифічний протеїназ-інгібіторний потенціал слизової оболонки шлунка при експериментальній гастральній виразці

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: виразка шлунка, ліпосоми, виноградне насіння, протеїнази, інгібітори протеїназ

Виразкова хвороба шлунка й дванадцятипалої кишки залишається актуальною проблемою сучасної гастроентерології, оскільки в структурі захворюваності займає одне з перших місць і призводить до зниження працездатності й інвалідності хворих. Незважаючи на широкий арсенал лікарських засобів, які застосовуються для лікування виразкової хвороби, відзначається висока частота ускладнень, що сполучаються зі схильністю до розвитку рецидивів захворювання та резистентністю до проведення терапії. Хоча інфікування *Helicobacter pylori* відіграє загальноновизнану провідну роль в ulcerogenezі, виразкова хвороба шлунка та дванадцятипалої кишки є складним за патогенезом гастроентерологічним захворюванням.

Сьогодні виразкоутворення прийнято розглядати як співвідношення агресивних властивостей шлункового вмісту та захисних можливостей слизової оболонки, що за нормальних умов урівноважують одне одного, так звані «ваги Шея» [1]. Виразковий дефект виникає внаслідок посилення кислото-пептичної агресії або через ослаблення захисного бар'єра [5]. До компонентів останнього відносяться слизобікарбонатний бар'єр, регенераційна здатність шлункового епітелію, рівень простагландинів, імунний захист, достатній кровотік [8]. Сутність захисних механізмів кровотоку зводиться до постачання кисню та

бікарбонатів і видалення протонів та токсичних продуктів, які дифундують у товщу слизової оболонки з просвіту шлунка. Слабке кровопостачання призводить до пошкодження слизової оболонки шлунка (СОШ) та виникнення запального процесу [9]. У розвитку неспецифічного запалення беруть участь також гуморальні й клітинні механізми, одним із ключових компонентів яких є нейтрофільні гранулоцити, що містять значну кількість лізосомальних протеїназ та мають деструктивний потенціал [2]. Активація протеїназ визначає патогенез запального процесу, у тому числі в слизовій шлунка, а їхня взаємодія з інгібіторами протеїназ визначає ступінь протеолітичної агресії та розвитку деструктивних змін у тканинах.

На базі кафедри біологічної хімії НФаУ під керівництвом професора А. Л. Загайко було отримано наноемульсію ліпосом із поліфенолами виноградного насіння (НЛПВН) та доведено її гастропротекторні властивості [4].

Мета дослідження – вивчення впливу наноемульсії ліпосом з поліфенолами виноградного насіння (НЛПВН) на компоненти протеїназ-інгібіторної системи при експериментальній виразці шлунка.

Матеріали та методи. Експерименти проведено на 40 нелінійних щурах різної статі масою 180–220 г, вирощених у розпліднику віварію ЦНДЛ НФаУ, які знаходилися на стандартному харчовому й водному раціоні відповідно до санітарно-гігієнічних норм. НЛПВН отримували за лабораторних умов за методикою, опублікованою раніше [3]. Вплив НЛПВН на місцевий неспеци-

фічний протеїназ-інгібіторний потенціал слизової оболонки шлунка вивчали на моделі гострої серотонінової виразки. До початку моделювання ушкодження шлунка тварин протягом 12 год витримували голодними з вільним доступом до води. Після закінчення зазначеного часу серотонін вводили щурам внутрішньочеревинно в дозі 30 мг/кг (0,6 % розчин) три рази через добу [10]. З шостої доби експерименту розпочинали введення НЛПВН внутрішньошлунково один раз на добу в дозі 90,0 мг/кг упродовж 7 діб. Евтаназію проводили на 13 добу, брали змиви зі шлунка та кишок, біоптати слизової оболонки шлунка зі стравохідного та фундального відділів та тонкої кишки. Експерименти проводили на 4-х групах лабораторних тварин (по 10 щурів у кожній групі): 1 – інтактний контроль; 2 – контрольна патологія (щури з експериментальним виразковим ураженням шлунка, викликаним серотоніном); 3 – щури з серотоніновими виразками, яким 1 раз на добу вводили НЛПВН внутрішньошлунково в дозі 90 мг/кг із розрахунку на концентрацію поліфенолів; 4-та – щури з виразковими ураженнями шлунка, викликані серотоніном, яким внутрішньошлунково вводили препарат порівняння – Альтан у дозі 1,0 мг/кг 1 раз на добу.

Трипсиноподібну активність (ТПА) біологічного матеріалу вимірювали спектрофотометричним методом. Вимір еластазоподібної активності (ЕПА) біологічного матеріалу проводили за гідролізом синтетичного субстрату N-t-ВОС-аланіл-p-нітрофенілового ефіру [6]. Визначення антитриптичної активності (АТА) шлункового соку проводили за його здатністю гальмувати гідроліз бензоіл-аргініну-h-нітроаніліну трипсином. Для визначення кислотостабільних інгібіторів (KCl) попередньо осаджували кислотостабільні білки [7]. Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням t-критерію Стюдента.

Результати та їх обговорення. При вивченні місцевого неспецифічного протеїназ-інгібіторного потенціалу шлунка тварин із виразками було встановлено, що в шлунковому змиві підви-

щувався рівень ТПА та ЕПА в 2,4 та 2,6 разу відповідно порівняно з інтактним контролем (таблиця). Водночас спостерігалось зниження KCl шлункового змиву в 2 рази стосовно контролю.

У супернатанті стравохідного відділу СОШ щурів із виразками шлунка спостерігали збільшення ТПА і ЕПА в 1,7 та 2,5 разу відповідно та зниження рівня KCl у 2,8 разу порівняно з інтактним контролем. Дослідження супернатанту фундального відділу СОШ при виразці показало збільшення ТПА та ЕПА в 2 і 2,1 разу відповідно порівняно з інтактною групою. Активність KCl супернатанту фундального відділу СОШ при виразці знизилася в 4,6 разу стосовно інтактного контролю. У кишкового змиві дослідних тварин відзначалося зростання ТПА та ЕПА в 1,7 і 1,2 разу відповідно порівняно з інтактним контролем, рівень KCl зменшувався в 2,8 разу. У супернатанті слизової оболонки тонкої кишки ТПА та ЕПА збільшилися в 1,4 та 1,3 разу відповідно порівняно з інтактним контролем, рівень KCl знизився в 1,5 разу порівняно з показником інтактних щурів.

Вивчаючи місцевий неспецифічний протеїназ-інгібіторний потенціал шлунка тварин з виразкою, яких лікували НЛПВН, спостерігали в шлунковому змиві зниження ТПА та ЕПА в 2,2 та 2 разу відповідно стосовно виразкової патології у той час, як рівень KCl підвищився в 1,9 разу. При дослідженні супернатанту стравохідного відділу СОШ встановлено зменшення рівня ТПА та ЕПА порівняно з контрольною патологією в 1,6 та 2,4 разу відповідно, рівень KCl збільшився в 2,7 разу. Рівень ТПА та ЕПА в супернатанті фундального відділу знизився в 1,9 та 2 рази відповідно порівняно з виразкою шлунка. Уміст KCl у супернатанті фундального відділу підвищився в 4 рази. У кишкового змиві показники ТПА та ЕПА знизилися в 1,5 та 1,2 разу порівняно з патологією, а рівень KCl збільшився в 2,4 разу. Щодо супернатанту слизової оболонки тонкої кишки, то рівень ТПА та ЕПА знизилися в 1,2 разу, уміст KCl підвищився в 1,4 разу.

У щурів з виразкою шлунка, яким вводили препарат порівняння Альтан,

Таблиця
Вплив наноемульсій ліносов з поліфенолами виноградного насіння на показники місцевого неспецифічного протейназ-інгібіторного потенціалу слизової оболонки шлунка та тонкої кишки при експериментальній гастральній виразці у щурів ($X \pm S_x$, $n = 10$)

Джерело біоматеріалу	Інтактний контроль				Контрольна патологія (виразка шлунка)				Виразка шлунка + НЛПВН				Виразка шлунка + Альтан			
	ЕПА (нмоль/мг-хв)	ТПА (нмоль/мг-хв)	КСІ (мІО/мг)		ЕПА (нмоль/мг-хв)	ТПА (нмоль/мг-хв)	КСІ (мІО/мг)		ЕПА (нмоль/мг-хв)	ТПА (нмоль/мг-хв)	КСІ (мІО/мг)		ЕПА (нмоль/мг-хв)	ТПА (нмоль/мг-хв)	КСІ (мІО/мг)	
Шлунковий змив	35,3 ± 2,1	28,9 ± 1,5	9,1 ± 1,2		91,0 ± 1,8*	70,0 ± 1,3*	4,6 ± 0,6*		44,6 ± 1,3**/***	31,2 ± 0,8**/****	8,7 ± 0,2**/****		58,9 ± 1,7**	51,3 ± 2,3**	6,2 ± 0,3**/**	
Супернатант стравохідного відділу СОШ	30,7 ± 1,8	5,4 ± 0,3	16,7 ± 1,0		78,0 ± 1,5*	9,1 ± 0,9*	5,9 ± 0,3*		32,1 ± 0,3**/****	5,7 ± 0,2**	15,9 ± 0,4**/****		43,6 ± 0,2**	6,5 ± 0,3**	13,2 ± 0,3**/**	
Супернатант фундального відділу СОШ	99,7 ± 3,6	25,3 ± 1,3	21,1 ± 0,6		207,0 ± 2,1*	51,0 ± 1,6*	4,6 ± 0,8*		105,8 ± 2,0**/****	26,9 ± 1,4**/****	18,3 ± 0,6**/****		121,3 ± 0,7**	34,6 ± 0,9**	19,6 ± 0,4**	
Змив тонкої кишки	102,8 ± 4,0	25,3 ± 1,0	13,9 ± 0,7		128,0 ± 2,0*	42 ± 1,2*	5,0 ± 0,6*		109,1 ± 1,8****	27,8 ± 0,8**/****	12,1 ± 0,5**/****		116,2 ± 0,7**	30,4 ± 0,5**	8,0 ± 0,3**/**	
Супернатант слизової оболонки тонкої кишки	175,5 ± 3,8	29,1 ± 1,3	27,6 ± 0,4		231,0 ± 1,8*	40,0 ± 1,0*	18,0 ± 0,2*		196,2 ± 2,1**/****	32,0 ± 0,8**/****	25,0 ± 0,8**/****		208,7 ± 1,8**	34,2 ± 0,5**	22,8 ± 0,3**/**	

Примітка. * $P < 0,05$ відносно інтактного контролю; ** $P < 0,05$ відносно контрольної патології; *** $P < 0,05$ відносно препарату порівняння (Альтан).

у шлунковому змиві спостерігали зниження ТПА та ЕПА в 1,4 та 1,5 разу відповідно, а рівень КСІ підвищився в 1,3 разу. При дослідженні супернатанту стравохідного відділу СОШ встановлено зменшення рівня ТПА та ЕПА порівняно з контрольною патологією в 1,4 та 1,8 разу відповідно, у той час як рівень КСІ збільшився в 2,2 разу. Рівень ТПА та ЕПА в супернатанті фундального відділу знизився в 1,5 та 1,7 разу відповідно порівняно з виразкою шлунка. Уміст КСІ у супернатанті фундального відділу підвищився в 4,2 разу. У кишковому змиві показники ТПА та ЕПА знизилися в 1,4 та 1,1 разу порівняно з патологією, а рівень КСІ збільшився в 1,6 разу. При дослідженні супернатанту слизової оболонки тонкої кишки рівні ТПА та ЕПА знизилися в 1,2 та 1,1 разу відповідно, уміст КСІ підвищився в 1,3 разу.

Таким чином, при серотоніновій виразці шлунка спостерігалось збільшення трипсиноподібної та еластазоподібної активності шлункового соку, а активність кислотостабільних інгібіторів, які в нормі пригнічують ферментативну активність протеїназ, знижувалася. Це свідчило про участь неспецифічних протеїназ і їх інгібіторів у механізмах деструкції слизової оболонки шлунка, а також патогенетичну значимість їхньої активації при даному патологічному стані.

При введенні НЛПВН у супернатанті стравохідного відділу СОШ спостеріга-

лося зменшення рівня трипсиноподібної та еластазоподібної активності порівняно з контрольною патологією та наближення до показників інтактної групи, у той час як активність кислотостабільних інгібіторів підвищувалася та майже дорівнювала відповідним показникам інтактних щурів.

Висновки

1. Моделювання гострої серотонінової виразки шлунка в щурів супроводжується активацією системи гідролізу – збільшенням активності трипсиноподібних і еластазоподібних протеїназ, зменшенням місцевого антипротеїназного потенціалу гастродуоденальної зони.
2. Внутрішньошлункове введення наноемульсії ліпосом з поліфенолами виноградної насіння (90 мг/кг упродовж 7 діб) щурам з експериментальною виразкою шлунка призводило до зниження активності місцевих неспецифічних протеолітичних ферментів та активації інгібіторів протеїназ слизової оболонки шлунка та дванадцятипалої кишки.
3. За впливом на стан місцевого неспецифічного протеїназ-інгібіторного потенціалу гастродуоденальної зони при експериментальній виразці шлунка наноемульсія ліпосом з поліфенолами виноградної насіння перевищує активність препарату порівняння Альтану.

1. Авраменко А. А. Язвенная болезнь (очерки клинической патофизиологии) / А. А. Авраменко, А. И. Гоженко, В. С. Гойдык. – Одесса: ООО «РА «АРТ-В», 2008. – 304 с.
2. Белостоцкий Н. И. Некоторые патологические механизмы язвообразования в слизистой оболочке желудка / Н. И. Белостоцкий // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2002. – № 1. – С. 115–116.
3. Біодоступність і антиоксидантна активність поліфенолів з насіння винограду у вільному вигляді та у складі фітосом / А. Л. Загайко, В. П. Филимоненко, О. А. Красільнікова [та ін.] // Мед. хімія. – 2011. – Т. 13, № 3 (48). – С. 109–112.
4. Кононенко Н. М. Антиульцерові властивості нової наноемульсії ліпосом з поліфенолами виноградної насіння / Н. М. Кононенко, А. Л. Загайко, А. О. Тюпка // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2011. – С. 349–353
5. Маев И. В. Язвенная болезнь / И. В. Маев, А. А. Самсонов. – М.: Миклош, 2009. – 428 с.
6. Назаренко Г. И. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований / Г. И. Назаренко, А. А. Кишкун. – М.: Медицина, 2002. – 544 с.
7. Петросян А. М. Протеиназ-ингибиторная система сыворотки крови как показатель тяжести заболевания у больных раком желудка / А. М. Петросян, В. З. Харченко // Онкология. – 2007. – Т. 9, № 4. – С. 303–306.
8. Соколова Г. Н. Клинико-патогенетические аспекты язвенной болезни желудка / Г. Н. Соколова, В. Б. Потапова. – М.: Анарчис, 2009. – 328 с.

-
9. Яицкий Н. А. Язвы желудка и 12-перстной кишки / Н. А. Яицкий, В. М. Седов, В. П. Морозов. – М.: МЕДпресс-информ, 2002. – 376 с.
10. Яковлева Л. В. Експериментальне вивчення нових протипроїєктивних препаратів / Л. В. Яковлева, Г. В. Оболонцева, Л. П. Брюзгінова // Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек.; за ред. чл. – кор. АМН України О. В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – С. 321–333.

А. А. Тюпка, Н. Н. Кононенко, А. Л. Загайко

Влияние наноэмульсии липосом с полифенолами виноградных семян на местный неспецифический протеиназ-ингибиторный потенциал слизистой оболочки желудка при экспериментальной гастральной язве

Моделирование острой серотониновой язвы желудка у крыс сопровождается активацией системы гидролиза, что проявляется увеличением активности трипсиноподобных и эластазоподобных протеиназ в слизистой оболочке желудка и снижением местного антипротеиназного потенциала гастродуоденальной зоны. Введение наноэмульсии липосом с полифенолами виноградных семян крысам с экспериментальной язвой желудка приводило к снижению активности местных неспецифических протеолитических ферментов и активации ингибиторов протеиназ слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки.

По влиянию на состояние местного неспецифического протеиназ-ингибиторного потенциала гастродуоденальной зоны при экспериментальной язве желудка наноэмульсия липосом с полифенолами виноградных семян превышает активность препарата сравнения – Алтана.

Ключевые слова: язва желудка, липосомы, виноградные семена, протеиназы, ингибиторы протеиназ

А. О. Тиупка, Н. М. Кононенко, А. Л. Загайко

Influence of the nanoemulsion of liposomes with polyphenols of grape seeds on the local non-specific proteinase-inhibitory potential of the gastric mucosa in experimental gastric ulcer

A simulation of acute serotonin ulcer in rats is accompanied by activation of the hydrolysis system, which is manifested increase of trypsin-like and elastase-like proteinases activities and reduction of local antiproteinase potential of gastroduodenal zone. Intragastric administrations of the nanoemulsion of liposomes with polyphenols of grape seeds to rats (90 mg/kg, 7 days) with experimental gastric ulcer led to reduction of local non-specific proteolytic enzymes activity and causes activities of proteinases inhibitors of stomach and duodenum mucosa. The nanoemulsion of liposomes with polyphenols of grape seeds exceeds an activity of the reference drug Altan as to the influence on the state of the local non-specific proteinase-inhibitory potential in gastroduodenal zone in experimental gastric ulcer.

Key words: gastric ulcer, liposomes, grape seeds, proteinases, proteinases inhibitors

Надійшла: 26.11.2012 р.

Контактна особа: Тюпка Аліна Олексіївна, старший лаборант, аспірант, кафедра патологічної фізіології, Національний фармацевтичний університет, вул. Мельникова, 12, м. Харків, 61002.
Тел.: + 38 (057) 706-30-66. Електронна пошта: pathology@ukrfa.kharkov.ua

С. М. Дроговоз¹, В. Д. Лук'янчук², Б. С. Шейман³,
О. В. Матвєєва⁴, А. В. Кононенко¹

Сучасні уявлення про механізми токсичної дії аналгетиків

¹Національний фармацевтичний університет, м. Харків

²Луганський державний медичний університет

³Інститут екогієни і токсикології імені Л. І. Медведя, м. Київ

⁴Міністерство охорони здоров'я України, м. Київ

Ключові слова: механізм токсичної дії, опіоїдні аналгетики, неопіоїдні аналгетики, нестероїдні протизапальні засоби

У медичній практиці найбільш широко використовується три основних групи фармакокоректорів болю, які за токсичністю можна розташувати в такій послідовності: опіоїдні аналгетики (ОА) > неопіоїдні аналгетики (НОА) > нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ).

Із групи аналгетиків найнешкідливішим препаратом тривалий час уважали парацетамол. В Україні дотепер активно рекламують такі препарати як еффералган, панадол, саридон, фервекс і багато інших, до складу яких входить парацетамол. Однак останні спостереження показали, що з НОА найчастіше інтоксикація зустрічається саме при застосуванні парацетамолу. Важливо підкреслити, що при передозуванні парацетамол руйнує клітини печінки, а також викликає гемоліз, що, на відміну від ліків інших фармакологічних груп, виникає не тільки часто, але й дуже легко. Так, наприклад, для виникнення та розвитку гострого отруєння аналгіном достатньо прийняти десять-двадцять таблеток, тоді як інтоксикація парацетамолом може виникнути від двох-п'яти таблеток. Основною причиною передозування парацетамолу є його невелика широта токсичної дії або вузьке «терапевтичне вікно»: токсична доза парацетамолу лише в 2,5 разу перевищує рекомендовану максимальну дозу для щоденного прийому [1].

При багатьох захворюваннях і патологічних станах метаболічного характеру, зокрема, при цукровому діабеті, ожирін-

ні, хронічній недостатності харчування, тривалому голодуванні, порушеннях функції печінки, а також супутніх вірусних інфекціях, особливо в дітей, ризик інтоксикації парацетамолом суттєво підвищується. Підтвердженням цього можуть служити статистичні дані, згідно з якими отруєння парацетамолом займає друге місце в США, перше – у Великобританії та Німеччині серед причин печінкової недостатності [2].

При отруєннях парацетамолом явища подразнення травного тракту виражені слабо. Основні клінічні ознаки інтоксикації зумовлені утворенням метгемоглобіну в крові: блідість, синюшне забарвлення губ, вух і нігтів, буро-коричневий колір шкіри, різка слабкість, головний біль, запаморочення, ейфорія, рухові порушення, блювання, частий пульс, збільшена та болюча печінка. У важких випадках у отруєних парацетамолом реєструється розширення зіниць, судом, блювота з запахом аніліну. Потім розвивається анемія, токсичний нефрит і кома. При хронічному отруєнні парацетамолом розвивається печінкова недостатність. Смерть настає від гострої гепатопатії, некрозу печінки, набряку мозку [3, 4].

В основі механізму гепатотоксичних ефектів парацетамолу лежить пряма токсична дія метаболітів цього препарату на гепатоцити з подальшим їхнім некрозом. Гепатотоксична дія парацетамолу – це результат утворення великої кількості його метаболіту – N-ацетилбензохіноніміну, що активно взаємодіє з клітинними та субклітинними структурами гепатоцитів та надалі призводить до їхньої загибелі [3].

У розвитку гепатотоксичності важливу роль відіграють імуніоалергічні реакції, оскільки будова молекул парацетамолу та його метаболітів мають дуже «жорстку» структуру, завдяки чому вони виступають у ролі гаптенів [5].

Тяжкі ураження печінки токсичного генезу зумовлені також різкою інтенсифікацією процесів вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів під дією токсичних доз парацетамолу, що провокує пошкодження клітинних і, особливо, мітосомальних мембран печінки, з подальшим розвитком зон центральнобулярного некрозу [6].

Утворені в процесі біотрансформації парацетамолу метаболіти та, особливо, параамінофенол, концентруються в клітинах нирок, де взаємодіють з SH-групами й викликають аналгетичну нефропатію. Механізм токсичного впливу НОА на нирки пов'язаний, у першу чергу, зі звуженням судин і подальшим погіршенням ниркового кровотоку в результаті інгібування активності циклооксигенази (ЦОГ) і блокади синтезу простагландинів E2 (ПГЕ2) і простагландину в нирках, що призводить до розвитку ішемічних змін у органі, і як наслідок – зниження клубочкової фільтрації та рівня діурезу. У результаті нефротоксичної дії НОА відбувається порушення водно-електролітного обміну, яке проявляється затримкою води (набряки), гіпернатріємією, гіперкаліємією, збільшенням рівня креатиніну в сироватці, підвищенням артеріального тиску. Крім того, у результаті прямого впливу на паренхіму нирок НОА викликають інтерстиціальний нефрит, який у лікарській токсикології називається «аналгетична нефропатія» [7, 8].

Маніфестацію метгемоглобінемії при застосуванні парацетамолу слід розглядати як результат недостатньої активності метгемоглобінредуктази. Оскільки при біотрансформації парацетамолу в системі цитохрому Р-450 утворюється токсичний метаболіт N-ацетилбензохінонімін, він частково зв'язується з глутатіоном та сприяє переходу гемоглобіну в метгемоглобін (у нормі його має бути до 1 %). В еритроцитах з'являються тільки Гейнца-Ерліха (гемоглобін, пов'язаний з глутатіоном), що призводить до руйнування еритроци-

тів, а у важких випадках викликає стійке пригнічення кровотворення [4].

Метамізол натрію викликає гемоліз еритроцитів за рахунок утворення імунних комплексів, які адсорбуються на мембранах еритроцитів, що викликає їхнє пошкодження та гемоліз.

Нейротоксичність НОА прямо пов'язана з їхньою здатністю проникати крізь гематоенцефалічний бар'єр і пригнічувати ЦНС за рахунок зниження утворення ПГЕ2, що беруть участь у регуляції мозкового кровообігу [9].

У загальній структурі лікарських інтоксикацій особливе місце займають НПЗЗ. Так, тільки в США щорічно реєструється 70 000 випадків госпіталізації і понад 7000 летальних випадків, пов'язаних з прийомом НПЗЗ [10].

Найтоксичніші з НПЗЗ – індометацин, фенілбутазон та ацетилсаліцилова кислота (АСК).

У США кількість отруєнь АСК сягає 180 000 на рік. Середня кількість таблеток аспірину, здатних викликати гастропатію, становить 106 на рік. Токсична доза – 0,1–0,15 г/кг. Смертельна доза аспірину, аскофену для дорослих – близько 5–30 г, для дітей – 2–10 г метилсаліцилату [6].

Характерно, що в третини хворих, які отримують НПЗЗ, відзначаються диспептичні розлади. Розвиток гастропатій при застосуванні НПЗЗ пов'язаний з механізмом їхньої протизапальної дії. У результаті пригнічення активності ферменту ЦОГ-1 пригнічується синтез цитопротекторних ПГЕ2, зменшується продукція слизу, що захищає слизову оболонку шлунково-кишкового тракту. НПЗЗ також зменшують концентрацію внутрішньоклітинного цАМФ та енергозабезпечення, унаслідок чого порушується мікроциркуляція та виникає набряк у слизовій оболонці шлунка на тлі стимуляції утворення цитокінів, сприяючих адгезії нейтрофільних лейкоцитів з утворенням у судинах слизових оболонок «білих» тромбів, що також посилює функціонування мікроциркуляторного русла. Патогенетичною основою механізму утворення індометацинових виразок є тромбоз судин ШКТ [7].

Апоптоз епітеліальних клітин слизової оболонки шлунка, викликаний пере-

дозуванням індометацину, опосередковується також збільшенням вмісту ендотеліну-1 у слизовій оболонці і розвитком мікроциркуляторних порушень. Шлунково-кишкові ускладнення при застосуванні фенілбутазону зумовлені його місцевою дією при прийомі всередину й посиленням утворення пепсину при парентеральному введенні [10].

НПЗЗ ослаблюють і другу лінію захисту слизової оболонки шлунково-кишкового тракту, викликаючи реакцію глікокаліксу, пошкодження апікальних і базальних мембран епітелію та його посилену десквамацію з подальшим утворенням виразок, некрозу й перфорації [11].

Гастротоксичність НПЗЗ проявляється, головним чином, при пероральному та ректальному шляхах уведення.

Прямий вплив НПЗЗ на паренхіму нирок викликає інтерстиціальний нефрит – «аналгетичну нефропатію». Нефротоксичність НПЗЗ при тривалому прийомі пов'язана зі стійким інгібуванням синтезу ПГЕ2, що призводить до ішемії мозкового шару нирок. У механізмі нефротоксичності НПЗЗ центральне місце посідає блокада синтезу ПГЕ2 і простагліцину в нирках, що призводить до звуження судин, погіршення ниркового кровообігу, а отже і до ішемічних змін у нирках зі зниженням клубочкової фільтрації та діурезу. У підсумку ці зміни, як у випадку передозування НОА, викликають затримку рідини, набряки, гіпернатріємію, гіперкаліємію, підвищення рівня креатиніну в сироватці та артеріального тиску. Гіперурикемія пов'язана із затримкою уратів в організмі внаслідок пригнічення їхньої секреції в дистальних каналцях нирок, пригнічення зв'язування уратів з альбумінами плазми крові, а зменшення виведення сечової кислоти з організму викликає гострий напад подагри [9].

В основі патогенезу синдрому Рея лежить пошкодження мітохондрій під впливом сполученої дії вірусів та саліцилатів [4].

Механізм формування бронхоспазму або, так званої аспіринової астми полягає в переважному утворенні з арахідонової кислоти лейкотрієнів і тромбоксану A_2 , а також гальмуванні синтезу ПГЕ2 (ендогенного бронходилататору) [12].

Крім того, НПЗЗ за рахунок пригнічення синтезу простагландинів сприяють переношуванню вагітності, слабкості пологової діяльності, кровотечі в матері та плода, передчасному закриттю артеріальної протоки й легеневої гіпертензії [13]. Не можна обійти увагою той факт, що відкладення індометацину в сітківці та рогівці ока за умов його тривалого застосування викликає ретинопатію й кератопатію.

У механізмі розвитку геморагічного синдрому при фармакотерапії саліцилатами лежить порушення активації в печінці факторів (I, VII, IX і X) згортання крові, а гальмування агрегації тромбоцитів і утворення протромбіну в печінці – причина коагулопатії (пониження згортання крові). Зокрема, АСК порушує функцію тромбоцитів, збільшує час кровотечі та викликає гіпопротромбінемію [12].

Гемолітична анемія та тромбоцитопенія, викликані НПЗЗ, мають також імуноалергічну природу. Так, механізм розвитку гемолітичної анемії, гранулоцитопенії, тромбоцитопенії при застосуванні похідних піразолону пов'язаний з утворенням компліментів і імуноглобулінів G і M. НПЗЗ проникають у фосфоліпідні мембрани імунокомпетентних клітин, змінюють їхню в'язкість і запобігають активації лейкоцитів [11].

Гемоліз при передозуванні НПЗЗ може бути результатом недостатності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, що веде до зниження рівня НАДФН₂ і гальмування реакції відновлення глутатіону, унаслідок чого відбувається денатурація гемоглобіну й лізис еритроцитів. Фенілбутазон підсилює руйнування нейтрофілів, у результаті чого розвивається нейтропенія.

При передозуванні НПЗЗ результатом їхнього проникнення крізь гематоенцефалічний бар'єр є запаморочення, головний біль, відчуття втоми, розлади сну й галюцинації. При цьому головний біль є наслідком пригнічення продукції простагліцину та простагландинів, що беруть участь у регуляції тону су церебральних судин і мозкового кровообігу, а запаморочення, безсоння, галюцинації викликає накопичення серотоніноподібних метаболітів [3].

Основу механізму токсичної дії саліцилатів складають порушення обміну речовин, обумовлені роз'єднанням окисного фосфорилування та порушенням активності багатьох ферментів. Саліцилати, порушуючи процес окиснення та фосфорилування, збільшують споживання кисню й утилізацію глюкози, що призводить до різкого збільшення теплопродукції, розвитку лихоманки, задишки, тахікардії та гіпоглікемії [6].

При отруєнні НПЗЗ відзначається їхня «антианаболічна» дія на хрящ, тобто хондропошкоджуюча дія, унаслідок пригнічення синтезу протеогліканів, білків, колагену й гальмування процесу проліферації клітин хрящової тканини [10].

Прийом великих доз АСК і відповідно збільшення її концентрації в крові може спричинити ацидоз, через що спочатку стимулюється дихальний центр і виникає гіпервентиляція. Потім розвивається респіраторний алкалоз, компенсаторно-метаболічний ацидоз і дегідратація. Інгібування ферментів циклу Кребса супроводжується розвитком лактат-ацидозу [11].

При токсичній дії саліцилатів можливий параліч дихального та вазомоторного центрів.

Унаслідок звикання точна токсична та смертельна дози ОА не встановлені. Після 10–15 ін'єкцій розвивається звикання до ОА, і його лікувальний ефект слабшає в 6–10 разів. Систематичне вживання морфіну й інших ОА викликає необхідність збільшення їхньої дози.

Основними токсикодинамічними ефектами ОА є: пригнічення дихального центру з наступною гіпоксемією; збудження центру блукаючого нерва (брадиаритмія) і ядер окорухового нерва – міоз, можливо – збудження блювотного центру. Летальні дози морфіну викликають зупинку дихання, від чого власне й настає смерть постраждалого [4].

Отже, головна небезпека при передозуванні ОА – пригнічення дихання та розвиток некардіогенного набряку легенів, механізм формування якого пов'язаний з гіпоксичним збільшенням проникності стінок капілярного русла легенів. Пригнічення дихання та накопичення вуглекислоти в крові викли-

кає розширення судин мозку, що збільшує небезпеку його набряку. Відповідальними за пригнічення дихання є μ -опіатні рецептори, з якими взаємодіє морфін. Недостатність дихання розвивається за рахунок зниження чутливості дихального центру до вуглекислоти, а також за рахунок підвищення активності центру блукаючого нерва, що призводить до урідження дихання. Пригнічення дихання сприяє накопиченню CO_2 у крові й альвеолярному повітрі та розвитку дихального ацидозу. Механізм пригнічувальної дії ОА на дихання пов'язаний також із порушенням центральної регуляції дихання [9].

Висока чутливість дихального центру до дії ОА в дітей (до 2-х місяців) і в літніх людей пов'язана з віковою неспроможністю процесів біотрансформації у цих вікових груп. Підвищена чутливість новонароджених до пригнічувальної дії ОА пояснюється незрілістю гематоенцефалічного бар'єра. Більшість ОА, проникаючи крізь плацентарний бар'єр, депримують дихальний центр плода аж до асфіксії [14].

Механізм розвитку бронхоспазму зумовлений збільшенням виділення гістаміну при інтоксикації ОА і пригніченням центру дихання. Після введення морфіну, особливо внутрішньовенному, розвивається артеріальна гіпотензія, пов'язана з вивільненням гістаміну й зниженням тонуусу симпатичної нервової системи. Зі здатністю морфіну викликати вивільнення гістаміну пов'язані виникнення свербіжу (особливо часто в області носу) і кропив'янки. Збудження блукаючого нерва і пряма спазмогенна дія ОА на гладенькі м'язи призводить до брадикардії, підвищення тонуусу гладеньких м'язів (особливо бронхів), а також сфінктерів ШКТ, жовчовивідних шляхів, сечового міхура. Підвищення тонуусу сфінктерів сечовивідних шляхів та посилення утворення антидіуретичного гормону сприяють затримці сечі [15].

Порушення функції серцево-судинної системи при інтоксикації ОА виникає через гіпоксію, а блювота є наслідком подразнення ОА центральних структур блювотного центру та, зокрема, хеморецепторів критичної зони продовгуватого мозку [16].

Міоз – результат порушення ОА око-
хового нерва. Стимулювальна дія ОА на
спинний мозок і нейрогіпоксія можуть
привести до судом, особливо в дітей.
Викликана морфіном гіпотермія пов'язана
з його безпосередньою пригнічувальною
дією на центр терморегуляції, можливий
розвиток і злоякісної гіпертермії [3].

Отже, незважаючи на те, що фар-
макокоректори болю різних фарма-
кологічних груп є доволі популярни-
ми ліками, ефективність і безпека
залежать від умов раціонального
застосування та призначення лікаря,
з огляду на заповідь Парацельса «Не
нашкодь».

1. Бабак О. Я. Применение нестероидных противовоспалительных средств в терапии / О. Я. Бабак, И. И. Князькова, И. А. Нестерцова // Український терапевтичний журн. – 2007. – № 2. – С. 4–11.
2. Современные представления о механизмах терапевтического и побочного действия НПВС / В. Мамчур, Е. Подплетня, О. Макаренко [и др.] // Вісник фармакології та фармації. – 2005. – № 4. – С. 3–17.
3. Побочное действие лекарств: учебник-справочник / С. М. Дроговоз, А. П. Гудзенко, Я. А. Бутко, В. В. Дроговоз – Х., 2012. – 480 с.
4. Верткин А. Л. Скорая медицинская помощь. Руководство для врачей / А. Л. Верткин, С. Ф. Багненко. – М.: Издательская группа «Гэотар-Медиа», 2007. – 368 с.
5. Викторов А. П. Побочное действие современных нестероидных противовоспалительных препаратов: проблемы остаются? / А. П. Викторов // Укр. мед. часопис. – 2003. – № 1. – С. 79–89.
6. O'Dell J. R. Therapeutic strategies for rheumatoid arthritis / J. R. O'Dell // N. Engl. J. Med. – 2004. – V. 350, № 25. – P. 2591–2602.
7. Smolensky M. H. Chronobiology, drug delivery, and chronotherapeutics / Smolensky M. H., Pep-
pas N. A. // Adv Drug Deliv Rev. – 2007. – № 59. – P. 828–851.
8. Современные представления о механизмах терапевтического и побочного действия НПВС / В. Мамчур, Е. Подплетня, О. Макаренко [и др.] // Вісник фармакології та фармації. – 2005. – № 4. – С. 3–17.
9. Straub R. H. Circadian rhythms in rheumatoid arthritis: implications for path physiology and thera-
peutic managemen / Straub R. H., Cutolo M. // Arthritis Rheum. – 2007. – № 56. – P. 399–408.
10. Барсукова Е. Эффективность и безопасность современных НПВС / Е. Барсукова // Аптека. – 2004. – № 46 (467) – С. 7.
11. Взаимодействие лекарств и эффективность фармакотерапии / Л. В. Деримедведь, И. М. Пер-
цев, Е. В. Шуванова [и др.]; под. ред. И. М. Перцева. – Х.: Изд-во «Мегаполис», 2002. – 784 с.
12. Катэрино Дж. М. Медицина неотложных состояний / Катэрино Дж. М., Кахан С.; пер. с англ.;
под. общ. ред. Д. А. Струтынского. – 2-е изд. – М.: МЕДпресс-информ, 2008. – 336 с.
13. Курек В. В. Руководство по неотложным состояниям у детей / В. В. Курек, А. Е. Кулагин. – М.:
Медицинская литература, 2008. – 464 с.
14. Harrison's Principles of Internal Medicine Self-Assessment and Board Review 18th Edition: Volumes
1 and 2 / C. Wiener, A. Fauci, E. Braunwald [et al.]. – McGraw-Hill Professional, 2012. – 514 p.
15. Мюллер З. Неотложная помощь / З. Мюллер. – МЕДпресс-информ, 2009. – 528 с.
16. Спиригинс Д. Экстренная медицина. Диагностика и лечение неотложных состояний /
Д. Спиригинс, Дж. Чамберс. – М.: Медицинская литература, 2008. – 544 с.

С. М. Дроговоз, В. Д. Лукьянчук, Б. С. Шейман, Е. В. Матвеева, А. В. Кононенко
Современные представления о механизмах токсического действия анальгетиков

Наиболее широко используются в медицинской практике три основные группы лекарств для
фармакологической коррекции боли: опиоидные анальгетики, неопиоидные анальгетики, нестеро-
идные противовоспалительные средства, которые имеют ряд токсических эффектов. В статье
обсуждаются механизмы токсического действия анальгетиков.

*Ключевые слова: опиоидные анальгетики, неопиоидные анальгетики, нестероидные
противовоспалительные средства*

S. M. Drogovoz, V. D. Lukyanchuk, B. S. Sheiman, E. V. Matveeva, A. V. Kononenko
Modern views on the mechanisms of toxicity of analgesics

There are three main groups of pain farmacocorrektors in medical practice that are the most widely
used: opioid analgesics, non-opioid analgesics, non-steroidal anti-inflammatory drugs. These drugs have
a number of toxic effects. In the article the mechanisms of toxic action of analgesics have been discussed.

Key words: opioid analgesics, non-opioid analgesics, non-steroidal anti-inflammatory drug.

Надійшла: 05.10.2012 р.

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

Н. І. Шарикіна, І. Г. Кудрявцева, О. О. Хавич, Г. М. Олійник,
Н. О. Мєшкова, В. В. Захаренко, С. І. Пенделюк

Таргетні препарати в онкофармакології

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

Ключові слова: таргетні препарати, механізм дії, онкологічна практика

Розвиток фармакотерапії злоякісних новоутворень поділяють на 2 періоди [1]:

- 1) Феноменологічний. Спочатку виявляється феномен цитотоксичності сполуки. Потім – дослідження біологічних мішеней, вплив на які забезпечує цей ефект. Сполуки впливають на клітини, на які вже подіяв мітогенний сигнал.
- 2) Раціональний. Виявляються молекулярні мішені, вплив на які може забезпечити протипухлинний ефект (початок розвитку – середина 1990-х років). Поява таких препаратів була результатом фундаментальних молекулярно-біологічних, генетичних, біотехнологічних досліджень, генної інженерії, органічної медичної хімії.

Протягом багатьох років ми були свідками і учасниками розвитку феноменологічного періоду в історії онкофармакології. При пошуку таких сполук спочатку, як зазначено, виявляється феномен цитотоксичності, потім – дослідження біологічних мішеней, які забезпечують ефект.

При підході, коли мітогенний сигнал уже пройшов, засоби фармакотерапії діють на клітину, що ділиться. Такий підхід продовжує розвиватися (традиційні цитостатики).

Наприкінці минулого століття відбувся сплеск розвитку раціонального підходу (середина 90-х років) як результат фундаментальних досліджень. Препарати переривають передачу мітогенного сигналу – клітина не ділиться.

Згідно з відомими класифікаціями молекулярно спрямованих (таргетних) препаратів [2], до яких нами були внесені певні зміни [3], що відповідають сучасним поглядам на таргетні лікарські засоби, молекулярно спрямовані ліки поділяються на 6 основних груп.

Група 1 – інгібітори поверхневих антигенів (моноклональні антитіла). Одержання моноклональних антитіл (МАТ) стало

можливим завдяки створенню гібридомних технологій [4], в основі яких лежить злиття клітин, продукція великої кількості імуноглобуліну мієломи мишей та клітин селезінки мишей, імунізованих еритроцитами барана. Авторам цієї роботи було присуджено Нобелівську премію.

У клінічній практиці, у тому числі в Україні використовуються:

- алемтузумаб (кемпас) – моноклональне антитіло до трансмембранного антигена CD52 В-клітинного хронічного лімфолейкозу;
- ритуксимаб (мабтера) – моноклональне антитіло до трансмембранного антигена CD20 (кластеру диференціювання, лімфатичні лейкої).

Група 2 – інгібітори передачі мітогенних сигналів (містить 5 підгруп):

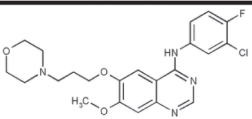
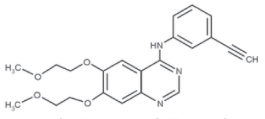
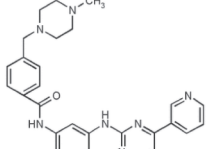
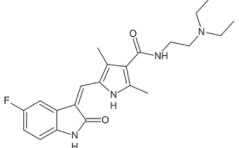
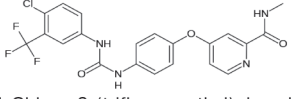
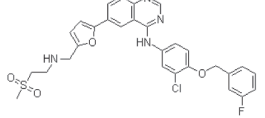
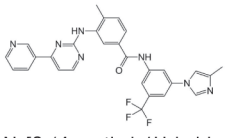
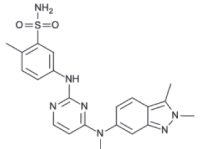
підгрупа 2.1 – інгібітори рецепторів мітогенних сигналів. Пригнічення функції рецепторів можна досягти двома способами: блокадою екстрацелюлярного домену чи блокуванням активності тирозинкінази інтрацелюлярного домену.

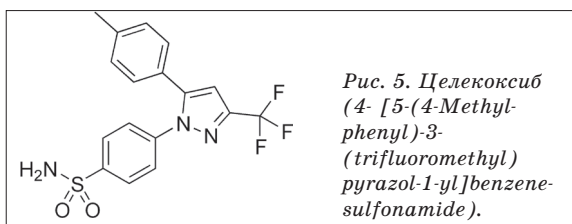
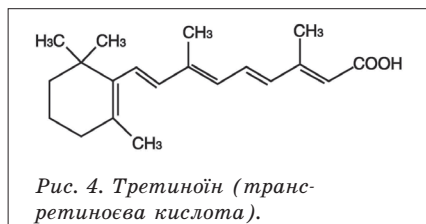
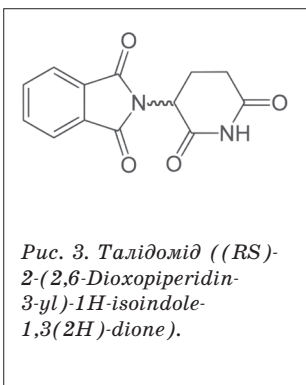
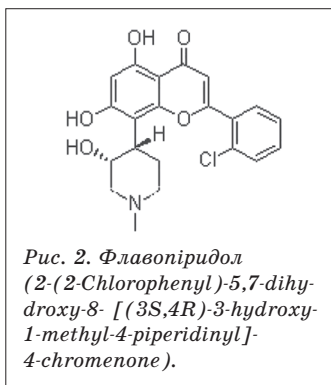
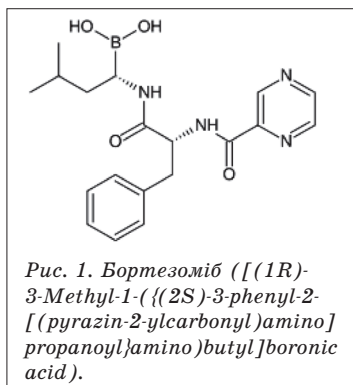
Блокада екстрацелюлярного домену рецептора:

- трастузумаб (герцептин) – МАТ проти рецептора фактора росту HER-2. Рак молочної залози (PM3), при гіперекспресії рецептора (40 % хворих на PM3);
- панітумумаб (вектибікс) – МАТ до рецептора епідермального фактора росту (EGFR) (ErbB-1 та HER-1). Метастазуючий колоректальний рак.

Найпоширенішою підгрупою таргетних препаратів є підгрупа 2.2 – інгібітори активності тирозинкіназ. Як відомо, цитоплазматична частина більшості рецепторів факторів росту представлена тирозинкіназами, які фосфорилують тирозин по гідроксилу за рахунок фосфорного залишку АТФ. Рецептори, що пов'язані з тирозиновими кіназами, є мішенями дії лікувальних засобів. Рецептор активується позаклітинними лігандами з фосфорилуванням його димерів та подальшим фосфорилуванням протеїнів з наступними клітинними відповідями: вплив на проліферацію, інвазію, ангиогенез, метастазування, інгібіцію апоптозу

Таргетні препарати-блокатори активності тирозинкіназ

Препарат	Структура	Мішень	Клінічні дані
Гефітиніб (іреса)	 N-(3-Chloro-4-fluoro-phenyl)-7-methoxy-6-(morpholin-4-yl)quinazolin-4-amine	Тирозинкіназа епідермального фактора росту (EGFR, ErbB-1), або Her1 (епідермальний рецептор людини 1)	Друга лінія хіміотерапії при метастатичному недрібноклітинному раку легенів (НДРЛ)
Ерлотиніб (тарцева)	 N-(3-Ethynyl)-6,7-bis(2-methoxyethoxy)quinazolin-4-amine	Тирозинкіназа (EGFR-1)	Недрібноклітинний рак легенів [5]
Іматиніб (глівек)	 4-[(4-Methyl-piperazin-1-yl)methyl]-N-[methyl-3-[(4-pyridin-2-yl)amine]phenyl]amide	Тирозинкіназа фактора росту тромбоцитів (PDGF). Нерецепторна тирозинкіназа BCR/ABL	Хронічний мієлолейкоз
Сунітиніб (сутент)	 N-(2-Diethylaminoethyl)-5-[(Z)-(5-fluoro-2-oxo-1H-indol-3-ylidene)methyl]-2,4-dimethyl-1H-pyrrole-3-carboxamide	Рецептори PDGF; фактора росту ендотелію судин (VEGF)	Карцинома нирки (RCC), гастроінтестинальна пухлина
Сорафеніб (нексавар)	 4-[4-[[4-Chloro-3-(trifluoromethyl)phenyl]carbamoylamino]phenoxy]-N-methyl-pyridine-2-carboxamide	Raf кіназа PDGF, VEGF	Рак нирки, печінки, щитоподібної залози
Лапатиніб (тайверб)	 N-[3-Chloro-4-[(3-fluorophenyl)methoxy]phenyl]-6-[5-[(2-methylsulfonyl)amino)methyl]-2-furyl]quinazolin-4-amine	HER-1 HER-2	Рак молочної залози
Нілотиніб (тасинга)	 4-Methyl-N-[3-(4-methyl-1H-imidazol-1-yl)-5-(trifluoromethyl)phenyl]-3-[(4-pyridin-3-yl)pyrimidin-2-yl]amino]benzamide	BCR/ABL KIT PDGFR та ін.	Хронічний мієлоїдний лейкоз[6]
Пазопаніб (вотрієнт)	 5-[[4-[(2,3-Dimethyl-2H-indazol-6-yl)methylamino]-2-pyrimidinyl]amino]-2-methylbenzylsulfonamide	VEGFR-1,2,3, PDGFR	Рак нирки, саркома м'яких тканин, рак яєчників, недрібноклітинний рак легенів [7]



та ін. Кінцеві ефекти пов'язані з властивостями структури тирозинкіназних рецепторів та їх взаємодією з лігандами.

У таблиці надані відомості щодо таргетних препаратів – інгібіторів активності тирозинкіназ, з їхньою структурою, мішенями та даними з клінічного використання.

При експресії відповідних рецепторів можна сподіватися на протипухлинну активність БАР, що прогнозується.

Підгрупа 2.3 – інгібітори фарнезилтрансферази. Фарнезилтрансфераза, як відомо, забезпечує передачу сигналу від фосфорильованої тирозинкінази до каскаду протеїнкіназ (Ras-білок). Відомий препарат типіфарніб (зарнестра) активний при раку молочної залози, гліомах, гострому мієлоїдному лейкозі [8].

Підгрупа 2.4 – інгібітори внутрішньоклітинних сигнальних білків. Інгібітор ядерного транскрипційного фактора NF-κB 1-κB звільнюється при деградації протеосоми 26S. Цю властивість щодо протеосоми 26S має відомий препарат бортезомід (велкейд) (рис. 1) [9].

Препарат активний при множинній мієломі, раку передміхурової залози [10].

Підгрупа 2.5 – інгібітори цикліназ-лежних кіназ. У клінічній практиці використовуються напівсинтетичний флавопіридол (рис. 2) – похідне рослинного алкалоїду рохитукіну, який блокує клітинний цикл у фазах G1/S та G2/M. Проявляє активність при недрібноклітинному раку легенів, плоскоклітинному раку голови та шиї [11].

Група 3 – інгібітори неоангіогенезу. У клінічній практиці в Україні використовується препарат талідомід (рис. 3). Застосовувався як седативний препарат, але був вилучений з клінічної практики через його здатність спричиняти дефекти розвитку в новонароджених. Пізніше була показана його здатність зв'язувати та інактивувати білок цереброн, який виконує важливу роль у формуванні кінцівок [12].

Нині препарат використовується за ряду форм злоякісних новоутворень (множинна мієлома, неходжкінська лімфома, саркома Капоши та ін.) [10].

З групи інгібіторів неоангіогенезу в різних країнах використовується: неовастат (пептидний екстракт хрящової тканини акул). Інгібує активність металопротеїназ, конкурує з фактором росту судин за зв'язування з рецептором цього фактора, (нирковоклітинний рак); бевацизумаб (МАТ до фактора росту ендотелію судин) – рак нирки, передміхурової залози, молочної залози, неходжкінської лімфоми.

Група 4 – агенти, що викликають диференціацію. У клінічній практиці використовується препарат третиноїн (весаноїд) (рис. 4), мішенню якого є гібридний ген RMI/PPK, який перешкоджає диференціюванню клітин.

Результатом його дії є гальмування проліферації злоякісних пухлин.

Група 5 – інгібітори циклооксигенази. Селективним інгібітором циклооксигенази-2 є целекоксиб (целебрекс) (рис. 5). Препарат активний при сімей-

ному аденоматозі, раку товстої кишки [13]. Механізми його дії не ясні.

Група 6 – антисмислові олігонуклеотиди. Відомий препарат облімерсен (гена-сенс) – антисмисловий олігонуклеотид. У клітині згідно з принципом комплементарності пар основ зі смисловою ланкою утворюється дволанцюговий фрагмент, який руйнується рибонуклеазами. Вилучається можливість синтезу необхідного білка, у тому числі білка Bcl, який гальмує апоптоз. У клінічній практиці застосовується при лейкозах, раку нирки, підшлункової залози разом з різними хіміотерапевтичними засобами.

Таргетні препарати зайняли своє місце серед методів лікування онколо-

гічних хворих, мають широку можливість подальшого пошуку. У геномі людини 28 тисяч генів, які кодують білки, 10–15 % з них можуть вважатися потенційними мішенями протипухлинної фармакотерапії.

Таргетні препарати прийшли в Україну як фармацевтичний імпорт, мають високу вартість, на цей час мало доступні онкологічним хворим.

Україна має широку синтетичну базу, спеціалістів різного профілю з науково-дослідних інститутів, кафедр фармакології, фармації, онкології, онкологічних диспансерів та клінік для того, щоб розвивати цю проблему, йти в ногу зі світовим рівнем допомоги онкологічному хворому.

1. Корман Д. Б. Основы противоопухолевой химиотерапии / Д. Б. Корман. – М.: Практическая медицина, 2006. – 512 с.
2. Гарин А. М. Противоопухолевая терапия: Справочник / Гарин А. М., Сыркин А. Б., Бычков М. Б.; Под ред. Н. И. Переводчиковой. – М.: Медицина, 1986. – 208 с.
3. До питання про фармакологічну класифікацію протипухлинних засобів / Шарикіна Н. І., Бухтіарова Т. А., Кудрявцева І. Г. [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія – 2011. – № 4. – С. 3–7.
4. Kohler G. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity / Kohler G., Milstein C. // Nature. – 1975. – № 256. – P. 495–497.
5. Thomas L. Petty Determinants of tumor response and survival with Erlotinib in patients with non-small-cell lung cancer / Thomas L. // Journal of Clinical Oncology – 2003. – V. 17, № 1. – P. 3–4.
6. Nilotinib in imatinib-resistant CML and Philadelphia chromosome-positive ALL / Kantarjian H., Giles F., Wunderle L. [et al.] // N Engl J Med. – 2006. – № 354. – P. 2542–2551.
7. Pazopanib, a Multikinase Angiogenesis Inhibitor, in Patients with Relapsed or Refractory Advanced Soft Tissue Sarcoma: A Phase II Study from the European Organisation for Research and Treatment of Cancer-Soft Tissue and Bone Sarcoma Group (EORTC Study 62043) / Sleijfer S., Ray-Coquard I., Papai Z. [et al.] // Journal of Clinical Oncology. – 2009. – V. 19, № 27. – P. 3126.
8. Druker B. J. Lessons learned from the development of an Abl tyrosine kinase inhibitor for chronic myelogenous leukemia / Druker B. J., Lyaon N. B. // J. Clin. Invest. – 2000. – № 105. – P. 3–7.
9. Bortezomib Sensitizes Pancreatic Cancer Cells to Endoplasmic Reticulum Stress-Mediated Apoptosis / Steffan T. Nawrocki, Jennifer S. Carew, Maria S. Pino [et al.] // Cancer Res. – 2005. – V. 24, № 65. – P. 11658–11666.
10. Rao K. V. Lenalidomide in the treatment of multiple myeloma / Rao K. V. // AJHP. – 2007. – V. 17, № 64. – P. 1799–807.
11. Chao S. H. Flavopiridol inactivates P-TEFb and blocks most RNA polymerase II transcription in vivo / Chao S. H., Price D. H. // J. Biol. Chem. – 2001. – V. 34, № 276. – P. 31793–9.
12. Suffer The Children: The Story of Thalidomide / [Knightley Ph.; Evans H., Potter E., Wallace M.]. – New York: The Viking Press, 1979. – 309 p.
13. Celecoxib for the prevention of sporadic colorectal adenomas / Bertagnolli MM, Eagle CJ, Zauber AG, et al. // N Engl J. Med. – 2006. – V. 9, № 355. – P. 873–84.

**Н. И. Шарыкина, И. Г. Кудрявцева, О. А. Хавич, Г. М. Олейник,
Н. А. Мешкова, В. В. Захаренко, С. И. Пенделюк**

Таргетные препараты в онкофармакологии

В соответствии с современной классификацией таргетных препаратов, по группам представлены молекулярно направленные (таргетные) противоопухолевые лекарственные средства, зарегистрированные в Украине, механизмы их действия, клинические показания.

Ключевые слова: таргетные препараты, механизм действия, онкологическая практика

**Н. І. Шарикина, І. Г. Кудрявцева, О. О. Хавич, Г. М. Олійник, Н. О. Мешкова,
В. В. Захаренко, С. І. Пенделюк**

Molecular-targeted drugs in oncopharmacology

This article presents modern classification of molecular-targeted drugs for cancer treatment, that are registered in Ukraine, mechanisms of their action and their clinical indication.

Key words: molecular-targeted drugs, mechanisms of action, oncology practice

Надійшла: 27.11.2012 р.

Контактна особа: Шарикіна Н. І., доктор медичних наук, професор, відділ онкофармакології, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», вул. Єжена Потье, буд. 14, м. Київ, 03680. Тел.: +38 (044) 456-83-22. Електронна пошта: Sharykina-39@ukr.net

Громов Леонід Олександрович **До 75-річчя від дня народження**

5 березня 2013 р. виповнилося 75 років від дня народження завідувача відділу нейрофармакології ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» заслуженого діяча науки і техніки СРСР, лауреата премії АМН України, доктора медичних наук, професора Леоніда Олександровича Громова.

Л. О. Громов розпочав наукову діяльність в Інституті в 1969 р., а в 1977 р. організував лабораторію нейрофармакології, яку беззмінно очолює понад 35 років.

Професор Л. О. Громов збагатив медичну науку видатними досягненнями в розумінні механізмів розвитку судомних станів, порушень мнестичних процесів і структури сну, антихолінергічного психозу та наркоманій. Експериментальні дослідження стали основою для розробки патогенетичних засобів корекції зазначених патологічних станів. Л. О. Громов є співавтором ряду патентів України на лікарські засоби: атипичний транквілізатор Галотранк, антиконвульсанти Етобровал і Циклобагат, ноотропний засіб Бінотропіл, антидепресант Антидепресин, антинаркотичний засіб Флуридон.

Л. О. Громов ініціював проведення в Україні фармакологічних досліджень такого класу природних регуляторів основних життєвих функцій організму, як нейропептиди. Результати науководослідницьких робіт узагальнені в монографії «Нейропептиди», за підготовку якої Л. О. Громов був удостоєний Премії АМН України. Під його керівництвом уперше у світі було експериментально доведено наявність опіатних рецепторів на внутрішній поверхні мембрани нейрона, визначено роль порушень обміну та функцій опіоїдних нейропептидів у патогенезі антихолінергічного психозу, встановлено антитотну дію морфіну при отруєнні М-холінолітиками та його ефективність при психомоторному збудженні.



Багатовекторність наукової діяльності ювіляра свідчить про широке коло наукових інтересів Леоніда Олександровича. Захистивши дисертацію за двома спеціальностями (фармакологія та нервові хвороби), у подальшій роботі в області експериментальної фармакології та токсикології він приділяв увагу найактуальнішим питанням таких клінічних дисциплін, як неврологія, психіатрія та наркологія.

Під керівництвом Л. О. Громова у відділі нейрофармакології вивчалися нейромедіаторні та нейропептидні механізми судомних нападів, психотичних і афективних станів, опіоїдної залежності та абстинентного синдрому, терапевтичної резистентності до ефектів нейротропних засобів. Отримані дані дозволили встановити опіоїддергічний механізм розвитку антихолінергічного психозу. Експериментальне підтвердження гіпотези про роль статевих гормонів у патогенезі наркоманій послужило підґрунтям для розробки нового підходу до фармакотерапії опіоїдної залежності з використанням оборотних блокатів рецепторів тестостерону. На моделях епілепсії та неврозу було встановлено наявність протисудомної

активності в похідних циклічних монокарбаматів і нейролептичної – у триметоксизаміщених похідних галової кислоти.

Нині Л. О. Громов працює над роботою нових теоретичних уявлень щодо патогенезу шизофренії: згідно з робочою гіпотезою, розвиток захворювання зумовлено змінами структурно-функціонального стану мозолистого тіла – калозопатією. Триває активний пошук шляхів оптимізації фармакотерапії епілепсії, депресій та психозів з урахуванням міжпівкульної асиметрії мозку й феномена толерантності до дії психотропних лікарських засобів.

Л. О. Громов успішно поєднує науково-організаційну діяльність із викладацькою: протягом багатьох років читав курс лекцій «Хімія лікарських засобів» на кафедрі органічної хімії Національного університету імені Т. Г. Шевченка; як лектор брав участь у роботі всіх шкіл молодих вчених-фармакологів України. Професором Л. О. Громовим підготовлена плеяда

учнів, які продовжують справу свого Вчителя на університетських кафедрах і в лабораторіях науково-дослідних центрів України, Франції, Великобританії, Японії.

Протягом багатьох років Л. О. Громов був головним токсикологом м. Києва, на даний час є членом президій Асоціації фармакологів України та Асоціації нейронаук України, Європейської асоціації нейроендокринологів, членом Товариства токсикологів України, а також членом редколегій ряду наукових журналів: «Фармакологія та лікарська токсикологія», «Вісник фармакології та фармації», «Клінічна фармація», «Современные проблемы токсикологии».

Учні, співробітники та колеги щиро вітають шановного Леоніда Олександровича зі славним ювілеєм, зичать міцного здоров'я та довгих років життя, натхнення та нових творчих злетів, успіхів і плідних звершень у науково-дослідницькій, педагогічній та громадській діяльності.

CONTENT

REVIEWS

<i>Kononevich Yu. M., Bobkova L. S., Demchenko A. M.</i> Pharmacological activity of 5,6-cycloalkylpyrimidines – promising class of biologically active compounds	3
---	---

CONTEMPORARY ASPECTS OF NEUROPHARMACOLOGY

<i>Drogovoz S. M., Kononenko A. V.</i> The nervous activity biorhythms and pharmacological correction of their disorders	14
<i>Semenenko N. O., Stepaniuc H. I., Khodakivskiy O. A., Cheresnyuk I. L., Semenenko A. I., Voskoboynik O. Y., Kovalenko S. I.</i> Influence of derivate of (3-R-2-oxo-2H-[1,2,4] triazyno [2,3-c] chinazolin-6-il) carbonic acids (compound DSK-38) on the intensity of neurodestructive processes in experimental disorders of cerebral circulation	19
<i>Shchokina E. G.</i> Experimental study of the antidepressant and anxiolytic properties of the interleukin-1 receptors recombinant antagonist	27

IN SCIENTIFIC LABORATORIES

<i>Bal'on Ya. G., Simurov A. V., Khovaka V. V., Gureeva S. N.</i> Investigation of chemical and pharmaceutical properties of the inhibitor adrenal glands function o,p'-DDD (chloditan) solution for injection in order to implement in clinical practice	32
<i>Vlasenko N. O.</i> Mexidol's action on post stress activation of erythro- and granulomonocytopoiesis in rat's bone marrow	39
<i>Voloshchuk N. I., Dmytriiev D. V.</i> Gender differences of analgesic effect of ketorolac and tramadole in experiment and clinic	44
<i>Ivantsyk L. B., Butko Y. O., Buliga L. A.</i> A comparative study of reparative effect of combined ointments for wounds treatment	50
<i>Kavushevskaya N. S., Tyupka T. I., Laryanovskaya J. B.</i> Influence of the new gel «Lizostom» on morphological state of the oral mucosa in experimental gingivitis	55
<i>Monatko K. V., Podpletnyaya E. A.</i> Changes in the structure of rats kidney due to lyophilic powder of watermelon in experimental doxorubicin-induced nephropathy	60
<i>Pakrishen S. V., Matvienko A. V., Kylymnyk E. N.</i> Effects of amlodipine and dimeodipine on the structural and functional state of the myocardium under doxorubicin induced cardiomyopathy.....	65
<i>Pyaskovskaya O. N., Momot V. Ya., Kolesnik D. L., Gorbik G. V., Shalamay A. S., Solyanik G. I.</i> Study of antiangiogenic pothencial of Korvitin	72
<i>Suvorova Z. S.</i> Influence of derivatives of alkoksiaminopropanol on the biofilms formation by gram-negative bacteria.....	78
<i>Tiupka A. O., Kononenko N. M., Zagayko A. L.</i> Influence of the nanoemulsion of liposomes with polyphenols of grape seeds on the local non-specific proteinase-inhibitory potential of the gastric mucosa in experimental gastric ulcer	84

CURRENT ISSUES OF DRUG TOXICOLOGY

<i>Drogovoz S. M., Lukyanchuk V. D., Sheiman B. S., Matveeva E. V., Kononenko A. V.</i> Modern views on the mechanisms of toxicity of analgesics	89
--	----

PHARMACEUTICAL MARKET OF UKRAINE

<i>Sharykina N. I., Kudrjavceva I. G., Khavych O. O., Oliynyk G. M., Meshkova N. O., Zakharenko V. V., Pendelyuk S. I.</i> Molecular-targeted drugs in oncopharmacology	94
---	----