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

№ 2(33)/2013

ЗМІСТ

ОГЛЯДИ

Брицун В. М., Вринчану Н. О. Структурні особливості та антибактеріальна активність 1,2-дизаміщених бензімідазолів 3

Кононевич Ю. М., Бобкова Л. С., Демченко А. М. Вивчення кількісного взаємозв'язку між структурою похідних циклопента[*d*]піримідин-2,4(*3H*,*5H*)-діону та їхньою спазмолітичною активністю 13

Чекман І. С., Мощич О. П., Антонченко В. Я., Максимюк Л. М., Загородний М. І. Гомеопатія і наномедицина: спільне та особливості 21

СУЧАСНІ АСПЕКТИ НЕЙРОФАРМАКОЛОГІЇ

Маринич Л. І., Степанюк Г. І., Пашинська О. С., Коваленко С. І., Воскобойнік О. Ю. Вплив похідних 6-заміщених 3R-2H-[1,2,4]тріазино[2,3-c]хіназолін-2-онів (сполук МТ-279 ТА МТ-282) на центральну та церебральну гемодинаміку інтактних тварин та за умов моделювання гострого порушення мозкового кровотоку 26

Сидорова Ю. В., Образцова О. Г., Талалаєнко О. М. Розробка раціональних підходів до терапії тривожного та депресивного синдромів при експериментальному хронічному запаленні 31

У НАУКОВИХ ЛАБОРАТОРІЯХ

Вороніна А. К., Борщевський Г. І. Гепатопротекторна ефективність препарату Лесфаль за експериментального гепатиту в щурів 37

Єрьоменко Р. Ф., Малоштан Л. М., Яценко О. Ю. Дослідження фармакологічної активності екстракту з трави люцерни посівної за умов субхронічного гепатиту в щурів 42

Киричок Л. Т., Перепелиця А. В., Кальчук Р. О. Антиоксидантна та стреспротекторна дія пірацетаму за умов моделювання хірургічної травми та запалення слизової оболонки порожнини рота 47

Кононенко А. В., Дроговоз С. М., Криворучко О. В. Листя горобини звичайної – перспективна сировина для отримання препаратів з антиартритною дією 51

Романенко Е. Г., Мамчур В. И., Левых А. Э. Значение оксида азота в обеспечении трофической функции собственной пластинки десны при экспериментальном гастродуодените 56

Семенченко О. М., Цуркан О. О., Корабльова О. А. Дослідження вмісту органічних кислот у траві деяких видів шавлії за допомогою високоефективних інструментальних методів аналізу 61

Серединська Н. М., Киричок Л. М., Мохорт М. А., Павлюк Г. В. Порівняльна оцінка протизапальної активності німесуліду, диклофенаку та амлодипіну за ад'ювантного артриту..... 65

Шарикіна Н. І., Хавич О. О., Карацуба Т. А., Пенделюк С. І., Мєшкова Н. О., Захаренко В. В. Вплив адренергічних засобів на пухлинний ріст та протипухлинну дію Хлофідену..... 70

Шиш А. М., Французова С. Б., Нагибін В. С., Мойбенко О. О. Механізми кардіопротекторного ефекту омега-3 поліненасичених жирних кислот при гострому ушкодженні міокарда за умов іммобілізаційного стресу..... 76

КЛІНІЧНА ФАРМАКОЛОГІЯ

Дроговоз С. М., Матвєєва О. В. Переваги хронофармакологічного підходу до лікування гіпертонічної хвороби..... 84

ДОСЛІДЖЕННЯ МОЛОДИХ ВЧЕНИХ

Юрченко А. І. Скринінг аналгетичної дії похідних 4-оксо(аміно-)хіназоліну 89

CONTENT..... 92

м. Київ
Видавець: ТОВ «Видавничий дім «Авіцена», 2013 р.

© «Фармакологія та лікарська токсикологія», 2013 р.

© ВД «Авіцена», 2013 р.

УДК 547.781+547.785.5:579.61+615.28

В. М. Брицун[1], Н. О. Вринчану[2]

Структурні особливості та антибактеріальна активність 1,2-дизаміщених бензімідазолів

[1]Інститут органічної хімії НАН України, м. Київ
[2]ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

Ключові слова: бензімідазол, бактерії, антибактеріальні засоби

Виникнення резистентності в мікроорганізмів до дії антимікробних препаратів є головною причиною недостатньої ефективності антимікробної хіміотерапії. Сьогодні проблема профілактики та лікування захворювань, викликаних мікроорганізмами, залишається актуальною. Одним із шляхів вирішення проблеми є пошук активних молекул і розробка на їхній основі нових, більш ефективних антимікробних засобів. Перспективною структурою для конструювання молекул ліків є бензімідазол, похідні якого можуть бути отримані за класичною реакцією Філліпса-Ладенбурга й далі функціоналізовані.

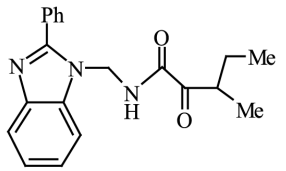
Заміщені бензімідазоли широко застосовуються в медичній практиці при патологіях, обумовлених грибами, бактеріями, найпростішими й іншими збудниками [1]. У цих речовин виявлено противірусну [2–4], антигельмінтну [5] та антибактеріальну дію. Заміщені бензімідазоли мають широкий спектр антибактеріальної активності, речовини інгібують ріст і розвиток аеробних та анаеробних мікроорганізмів, у тому числі *Mycobacterium tuberculosis* і *Helicobacter pylori* [6–9]. У заміщених бензімідазолів виявлені також антидіабетичні та протипухлинні ефекти [10–17].

Такий широкий спектр біологічної дії похідних бензімідазолу пояснюється як їхньою високою основністю та здатністю координуватися з білковими субстратами, так і структурною подібністю до пуринових нуклеотидів.

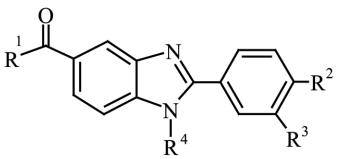
За останні 10 років синтезовано і протестовано *in vitro* тисячі нових похідних бензімідазолу, що пояснюється доступністю їхнього синтезу та високою біологічною активністю. Незважаючи на активність бензімідазолів щодо різних видів мікроорганізмів і наявність великої кількості робіт з даної тематики, у літературі відсутні оглядові статті в зазначеному напрямі.

Мета дослідження – узагальнення та систематизація інформації щодо антимікробної дії бензімідазолвмісних сполук. Структурування матеріалу здійснено за будовою тестованих сполук.

Ці сполуки найчисленніші і внаслідок можливості варіювання замісників у положеннях 1,2,4-7 перспективні для біологічних випробувань. Сполука **1** активна *in vitro* відносно аеробних мікроорганізмів, зокрема, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, МІК у діапазоні концентрацій 8–32 мкг/мл [17]. 5-Карбамоїлбензімідазоли (**2**) при тестуванні



1



2

R^1 = 4-аміно-N-бензилпіперидин, 4-фторбензиламіно, N-(2-гідроксиетил)піперазин; R^2 = H, 2-Pr, н-Bu, MeO, Cl, 4-$ClC_6H_4CH_2$, $PhCH_2O$; R^3 = H, MeO, $Me_2N(CH_2)_2N$, $Et_2N(CH_2)_2N$, (піридин-2-іл)метил; R^4 = H, Cl, CF_3, CN, COOMe, $PhCH_2$

© Колектив авторів, 2013

на грампозитивних (*S. aureus*) і грамнегативних мікроорганізмах (*Escherichia coli*) виразної активності не проявили, МІК 50–100 мкг/мл [18].

2-Арил-1-метилбензімідазоли (3) тестували *in vitro* на чутливість до грампозитивних (*S. aureus* АТСС 25923, *Streptococcus faecalis* АТСС 19433, *B. subtilis* АТСС 6633) і грамнегативних бактерій (*E. coli* АТСС 23556, *Pseudomonas aeruginosa* АТСС 10145) [19]. Встановлено, що антибактеріальний ефект сполук не виражений, МІК 12,5–100 мкг/мл. За рівнем інгібуючої активності ці речовини поступаються ампіциліну (МІК залежно від мікроорганізму складає 3,12–6,25 мкг/мл).

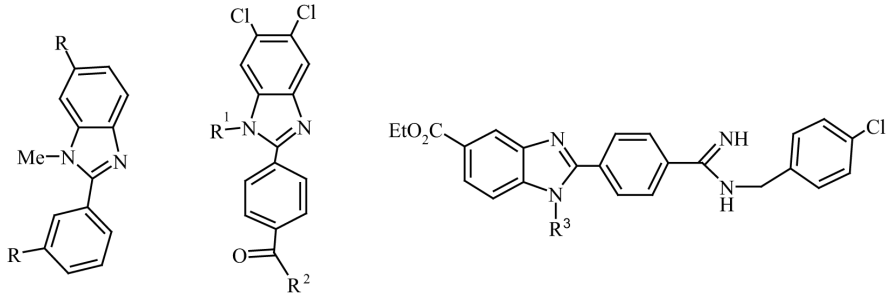
Антибактеріальна активність 1,2-діарил-5,6-дихлорбензімідазолів **(4)** співставна з такою для ампіциліну відносно *S. aureus*, у тому числі метицилін-резистентних золотистого й епідермального стафілококів (*MRSA* і *MRSE*), МІК 3,12 мкг/мл. Інгібуюча активність ампіциліну залежить від тест-мікроорганізму й знаходиться в діапазоні концентрацій 0,39–50 мкг/мл [20]. Результати вивчення антимікробної активності бензімідазолів **(5)** відносно грампозитивних бактерій (*S. aureus* АТСС 25923, *MRSA*, *S. faecalis* АТСС 29212, *MRSE*) виявили виражену антибактеріальну активність цих сполук (МІК 0,78–3,12 мкг/мл) [21].

Досліджена *in vitro* антибактеріальна активність серії 6-амідинвмісних 1-R-2-арилбензімідазолів [22–24]. Сполука **6** серед подібних структур проявила найбільшу дію відносно *S. aureus*, *MRSA*, *E. coli*, *E. faecalis* (МІК у діапазоні 3,12–12,5 мкг/мл) і за ступенем вираженості інгібуючого ефекту поступається препаратам порівняння ампіциліну і ципрофлоксацину (МІК 0,39–0,78 мкг/мл) [22]. 1-Алкіл-(3', 4'-дихлорфеніл) бензімідазоли (7) і (8) показали високу активність проти *S. aureus* (АТТС 25923) та MRSA, МІК 0,39–12,5 мкг/мл відповідно (МІК ампіциліну 0,78–50 мкг/мл) [23, 24].

Подібна за структурою до бензімідазолів **(8)** сполука **9** характеризується дещо меншою протимікробною дією відносно грампозитивних мікроорганізмів *S. aureus* та *E. faecalis* (МІК 3–25 мкг/мл) і за активністю поступаються сультаміциліну (МІК 1,56–50 мкг/мл). До дії цих речовин не чутлива кишкова (*E. coli*) і синьогнійна (*P. aeruginosa*) палички [25].

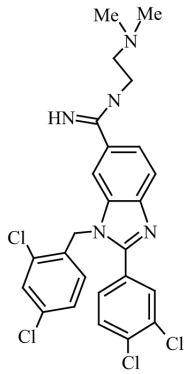
Вивчення антибактеріальних властивостей бензімідазолів **(10)** не виявило вираженого антибактеріального ефекту цих речовин (МІК відносно грампозитивних (*S. aureus*, *B. subtilis*) і грамнегативних (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*) бактерій ≥ 50 мкг/мл) [26]. Встановлено, що сполука **11** проявила активність відносно *E. coli* (МІК 6,25–12 мкг/мл) [27]. Дані дослідження активності бензімідазолів **(12)** і **(13)** показали відсутність вираженої інгібуючої дії відносно золотистого стафілококу [28].

Сполука **14** показала високу активність проти спороутворюючих бактерій (*B. cereus*) [29], а похідні бензімідазолу **(15)** та **(16)** – проти грампозитивних і

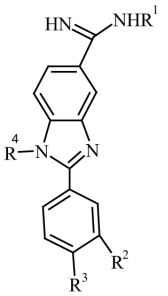


3 **4** **5**

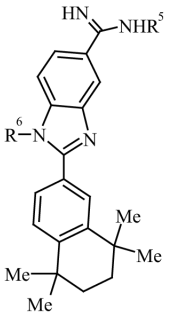
R = NH_2, NO_2, $NHCOCH_2Cl$, $NHCOCH_2SPh$; R^1 = 4-$ClC_6H_4CH_2$;
R^2 = $Me_2CHNH(CH_2)_2NH$, $EtNH(CH_2)_2NH$; R^3 = Bn, 2,4-$Cl_2C_6H_3CH_2$



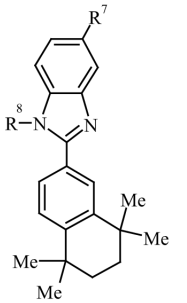
6



7

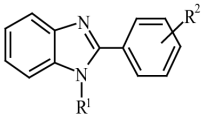


8

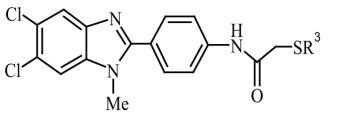


9

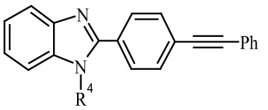
R^1 = H, 2-Pr, н-Bu, циклопропіл, циклогексил; R^2 = H, Cl, F, MeO; R^3 = H, Cl, F, MeO, CN; R^4 = H, Me, н-Bu, бензил; R^5 = H, 2-Pr, $Me_2NCH_2CH_2$; R^6 = H, н-Pr, н-Bu, циклогексил, бензил, 2,4-дихлорбензил; R^7 = H, Cl, Me, NO_2, COOH, COOMe; R^8 = H, Me, Et



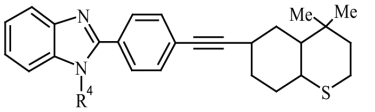
10



11



12



13

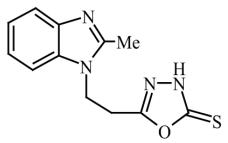
R^1 = H, Me, MeCO; R^2 = H, 2-Cl, 3-Cl, 4-Cl, 3-OH, 4-OH, 2-NO_2, 3-NO_2, 4-NO_2, 4-F, 3-MeO, 4-MeO; R^3 = 3-метилімідазол-2-іл, 1,2,4-тріазол-3-іл, 4-метил-1,2,4-тріазол-3-іл, 1-метилтетразол-5-іл, 1-фенілтетразол-5-іл, 2-метил-1,3,4-тіадіазол-5-іл, бензімідазол-2-іл, бензоксазол-2-іл, бензтіазол-2-іл; R^4 = MeO_2C, EtO_2C, BuO_2C, CF_3SO_2

грамнегативних бактерій на рівні гентаміцину та ампіциліну [30]. Встановлено, що антимікробні властивості похідних бензімідазолу (17) відносно *S. aureus* та *E. coli* відповідають таким ципрофлоксацину [31]. Методом QSAR (R^2 = 0,65–0,88; $Radj^2$ = 0,63–0,86) було досліджено взаємозв'язок «структура-активність» сполуки **17**. Як молекулярні дескриптори були взяті log P, електронні параметри, молекулярні розміри, форма й площа. Знайдено позитивну кореляцію між антибактеріальною активністю та коефіцієнтом ліпофільності (log P).

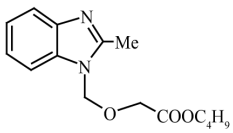
Скринінгові дослідження антимікробної дії 5-хлорбензімідазолів (18) виявили чутливість до їхньої дії грампозитивних коків (*S. aureus* ATCC 25923), *MRSA*, грампозитивних паличок (*B. subtilis* ATCC 6633) та грамнегативних мікроорганізмів (*E. coli* ATCC 25922) [32]. Встановлено, що антимікробна активність сполук, що не містять замісників у N-атома, відносно золотистого стафілококу відповідала активності ципрофлоксацину та ампіциліну (МІК 0,78 мкг/мл).

У роботі [33] наведено дані щодо антимікробної дії заміщених бензімідазолів (**19**) проти *B. cereus* (ATCC 10876) і залежності інгібуючої активності від показника ліпофільності.

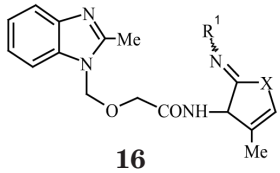
Сполуки 20 і 21 показали виразну антимікробну дію проти *E. coli* і *B. subtilis* [34, 35]. Похідні 5,6-дихлорбензімідазолу (22) і (23) є активними інгібіторами *S. aureus* та *E. coli*



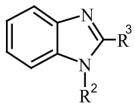
14



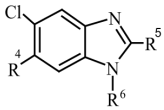
15



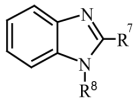
16



17

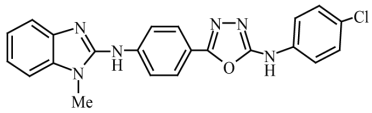


18

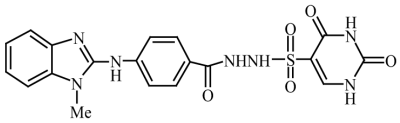


19

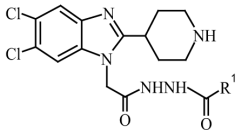
R^1 = 3-$MeOC_6H_4$; R^2 = 4-$MeC_6H_4SO_2$, $(CH_2)_9CH_2Cl$; R^3 = 4-$NO_2C_6H_4$, 4-$MeOC_6H_4$, $PhCH_2$; R^4 = H, Cl; R^5 = H, Cl; R^6 = H, Cl, NH_2, Br, 4-FC_6H_4, 4-ClC_6H_4, 4-$MeOC_6H_4$, 3-$NO_2C_6H_4$; R^7 = Me, NH_2; R^8 = H, $PhCH_2$, PhCO, 4-$MeC_6H_4CH_2$, 4-$ClC_6H_4CH_2$, 4-MeC_6H_4CO,4-ClC_6H_4CO



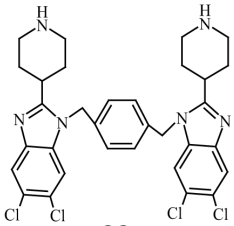
20



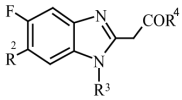
21



22



23

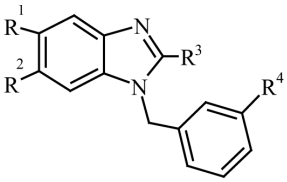


24

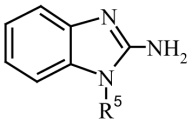
R^1 = 1-адамантил, 2-нафтил, 3,5-диметоксифеніл; R^2 = морфолін, 4-метилпіперазин, 4-фенілпіперазин, 3-метилпіперидин; R^3 = H, циклопропіл, н-пропіл; R^4 = OEt, $NH(CH_2)_2NH_2$

(МІК 6–50 мкг/мл) [36], тоді як 6-аміно-5-фторзамісні бензімідазоли (24) характеризуються помірною активністю [37].

Антибактеріальна дія полізаміщених бензімідазолів **(25)**, **(26)** *in vitro* проти *E. coli* та *P. aeruginosa*, а також залежність інгібуючого ефекту від структури сполук (QSAR) досліджувалися в роботах [38–41]. Встановлено, що сполуки **25** активні відносно *E. coli* (МІК у діапазоні концентрацій 6,25–50 мкг/мл [38]), а структури **(26)** – відносно *P. aeruginosa*, (МІК 6,25–125 мкг/мл) [39, 40]. Розрахунки QSAR проводилися методом

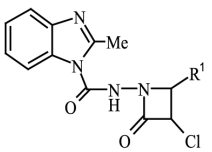


25

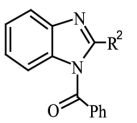


26

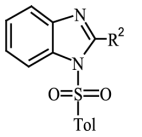
R^1 = H, Me; R^2 = H, Me; R^3 = H, NH_2; R^4 = Me, Cl, F, MeO; R^5 = $PhCH_2$, 4-$MeC_6H_4CH_2$, 4-$ClC_6H_4CH_2$, PhCO, 4-MeC_6H_4CO, 4-ClC_6H_4CO



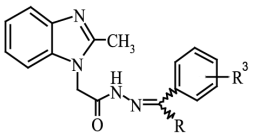
27



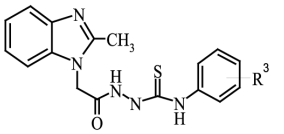
28



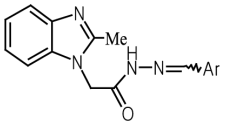
29



30



31



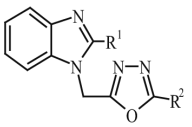
32

R^1 = Me, Et, Pr, Ph, 2-MeC_6H_4, 4-$MeOC_6H_4$, 2-$MeOC_6H_4$, 2-HOC_6H_4, 3-HOC_6H_4, 4-HOC_6H_4, 2-ClC_6H_4, 4-ClC_6H_4; R2 = Me, Ph, 2-ClC_6H_4, PhCH = CH; R^3 = H, 2-Me, 4-OH, 4-MeO, 4-Cl, NH_2; Ar = Ph, 2-HOC_6H_4, 2-ClC_6H_4, 3-$O_2NC_6H_4$, 4-HOC_6H_4, 4-$MeOC_6H_4$, PhCH = $CHCH_2$

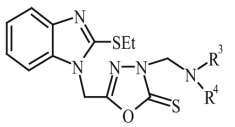
мультилінійної регресії з використанням таких параметрів, як ліпофільність (logP) [38-41], енергія гідратації [40, 41] та молярний об'єм [41].

1-Карбамоїлбензімідазоли **(27)** проявили широкий спектр дії відносно *S. aureus* (ATCC 29213), *Streptococcus mutans* (MTCC 890) і *B. subtilis* (MTCC 741), *E. coli* (ATCC 25922), *Salmonella typhi* (MTCC 733) і *P. aeruginosa* (MTCC 741) [42], тоді як сполуки **28, 29** практично не активні відносно *E. coli*, *P. aeruginosa* і *S. aureus* [43]. Похідні гідразидів 2-метил (бензімідазол-1-іл) оцтової кислоти **(30)** і **(31)** пригнічують ріст неспороутворюючих і спороутворюючих бактерій (*S. aureus* і *B. subtilis*). Активність цих сполук відносно грампозитивних мікроорганізмів виражена більшою мірою, ніж до грамнегативних (*P. aeruginosa*) [44]. Гідразиди **(32)** також інгібують ріст і розмноження *E. coli*, *S. aureus*, *S. typhi* і *P. aeruginosa* [45].

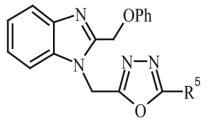
Дані дослідження антимікробної активності гетероциклічних похідних (бензімідазол-1-іл) оцтової кислоти **(33–38)** наведено в роботах [46–48]. Бензімідазолвмісні 1,3,4-оксадіазоли **(33–35)**



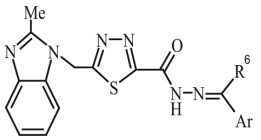
33



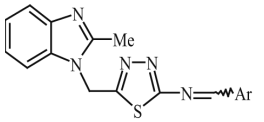
34



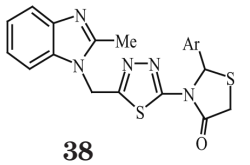
35



36

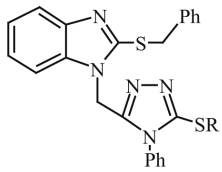


37

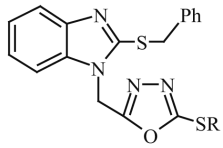


38

R^1 = H, Me; R^2 = Me, Et, 2-ClC_6H_4, 4-ClC_6H_4, 2-HOC_6H_4, 4-HOC_6H_4, 2-$MeOC_6H_4$, 4-$MeOC_6H_4$, 4-хлорбензил; R^3 = H; R^4 = 3-MeC_6H_4, 3-ClC_6H_4, 4-FC_6H_4, 4-HOC_6H_4, 4-$NO_2C_6H_4$, 2,6-$Cl_2C_6H_3$; R^3 + R^4 = морфолін; R^5 = Ph, 2-$NH_2C_6H_4$, 2-MeC_6H_4, 3-MeC_6H_4, 4-MeC_6H_4, 2-ClC_6H_4, 4-ClC_6H_4, 2-BrC_6H_4, 4-BrC_6H_4, 4-$O_2NC_6H_4$, 4-$MeOC_6H_4$, 3,4-$(MeO_2)C_6H_3$, $PhCH_2$, $PhOCH_2$, 4-$PhC_6H_4CH_2$, 4-піридил, (1'-нафтил)метил; R^6 = H, Me; Ar = Ph, 4-$NO_2C_6H_4$, 4-HOC_6H_4, 4-MeC_6H_4, 4-$MeOC_6H_4$; Ar = 2-ClC_6H_4, 3-ClC_6H_4, 4-ClC_6H_4, 2-BrC_6H_4, 3-BrC_6H_4, 4-BrC_6H_4, 2-$MeOC_6H_4$, 3-$MeOC_6H_4$, 4-$MeOC_6H_4$, 2-$NO_2C_6H_4$, 3-$NO_2C_6H_4$, 4-$NO_2C_6H_4$



39



40

R = H, Me, Et

проявили слабку активність проти *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. mutans*, *E. coli*, *P. aeruginosa* (МІК 50–200 мкг/мл) [46–48], тоді як подібні за структурою 1,3,4-тіадіазол (**36–38**) показали активність на рівні норфлоксацину проти штамів *S. aureus* MTCC 96, *B. subtilis* MTCC 619, *P. mirabilis* MTCC 425, *P. aeruginosa* MTCC 424 і *K. pneumoniae* [49–51].

Антибактеріальна активність бензімідазолвмісних 1,3,4-тріазолів та 1,3,4-оксадіазолів (**39**), (**40**) проти *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* виявилася низькою (МІК 42–105 мкг/мл) [51].

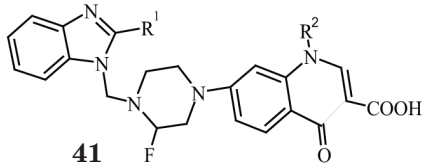
Поліциклічні бензімідазолзаміщені сполуки (**41–43**) характеризуються помірною активністю проти *B. subtilis*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* [52] та *P. aeruginosa*, *S. aureus* і *P. vulgaris* [53].

Серед сполук **44** метил-2-(4'-нітрофеніл)-1H-бензімідазол-1-карбодитіоат проявив найбільш виражену дію відносно *S. aureus* (MTCC 737), *E. faecalis* (MTCC 439), *B. cereus* (MTCC 430 [54], тоді як аміди (**45**) характеризуються слабкою активністю щодо вивчених тест-штамів бактерій [55].

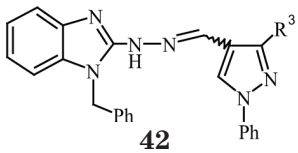
У бензімідазолів (**46**) виявлені незначні антимікробні властивості проти грампозитивних (*S. aureus*, *B. cereus*) і грамнегативних бактерій (*S. dysenteriae*, *E. coli*), а також відносно холерного вібріона (*V. cholerae*) [56].

Помірна активність зареєстрована у сполуки **47** відносно *B. subtilis*, *B. cereus*, *S. epidermidis*, *S. typhi*, *P. aeruginosa* і *K. pneumoniae* [57]. Помірна інгібуюча дія виявлена в бензімідазолів (48) проти грампозитивних і грамнегативних мікроорганізмів: *B. subtilis* (MTCC 121), *B. cereus* (ATCC 14579), *S. epidermidis* (ATCC 25923), *S. typhi* (MTCC 733), *P. aeruginosa* (MTCC 741) і *K. pneumoniae* (ATCC 29212) [58]. Невиразна дія притаманна і сполуці **49** [59].

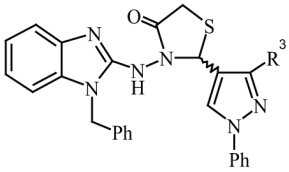
Була досліджена протимікробна дія бензімідазолів (**50–52**), що містять арилоксиметильний і (хінолін-8'-іл) оксиметильний замісники [60–61]. У сполуки **50** виявлено інгібуючу дію проти кишкової, синьогнійної палички та мікобактерії туберкульозу (*Mycobacterium tuberculosis* H37RV) [62], у похідних 2-(хінолін-8'-іл)оксиметил-бензімідазо-



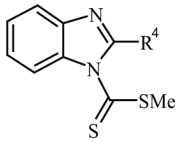
41



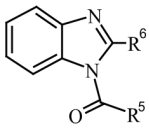
42



43

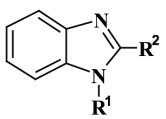


44

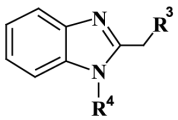


45

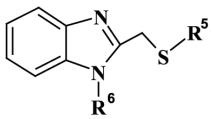
R^1 = H, Et, Pr; R_2 = Et, циклопропіл; R^3 = Ph, 4-$NO_2C_6H_4$, 4-MeC_6H_4, 2-HOC_6H_4, 2,4-$(MeO)_2C_6H_3$, 2,5-$(MeO)_2C_6H_3$;R_4 = H, Ph, $PhCH_2$, 4-$Me_2NC_6H_4$, 4-$MeOC_6H_4$, 2-ClC_6H_4, 3-ClC_6H_4, 4-ClC_6H_4, 2-$O_2NC_6H_4$, 3-$O_2NC_6H_4$, 4-$O_2NC_6H_4$, 3,4-$(MeO)_2C_6H_3$; R^5 = Ph, 4-MeC_6H_4; R_6 = Me, Ph, 4-ClC_6H_4



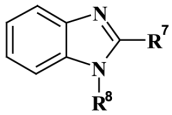
46



47

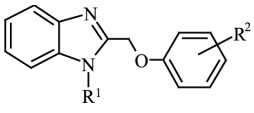


48

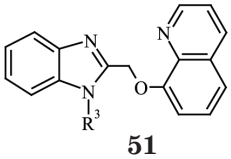


49

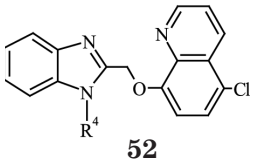
R^1, R^2 = Ph, 4-MeC_6H_4, 4-$Me_2NC_6H_4$, 3-$NO_2C_6H_4$, 4-BrC_6H_4, 4-FC_6H_4; R^3 = NMe_2, NEt_2, NPh_2, SPh, NMePh, морфолін; R_4 = 2-карбонілпіперидин; R^5 = Ph, PhCO, (2-піридил) карбоніл; R^6 = MeCO, 2-карбонілпіридин; R^7 = $C_7H_3O_2$, $C_7H_6O_3$; R^8 = PhCHO



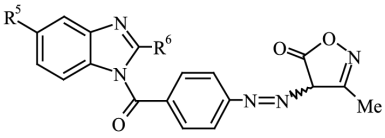
50



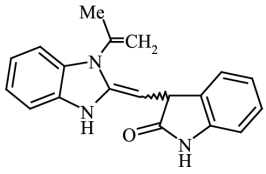
51



52



53



54

R^1 = H, Me, Et, Pr; R^2 = H, 4-Me, 3-NO_2, 4-NO_2; R^3 = H, MeCO, CH_2CH_2Cl, $COCH_2Cl$, $CONHNH_2$; R^4 = H, Me, Pr, *н*-Bu, *н*-пентил, Bz, $MeSO_2$, $PhSO_2$, MeO_2C; R^5 = H, NO_2; R^6 = H, Me, Bz, PhCH = CH, 2-HOC_6H_4, CH_2CH_2COOH

лу, сполук **51**, **52**, протимікробна дія виражена слабкою мірою [61, 62].

З метою пошуку ефективного засобу проти кишкової палички був проведений пошук молекулярних структур і моделювання (докінг) взаємодії їх з амінокислотними залишками активного сайту деформілази (PDF) [63]. Встановлено, що у сполуки **53** афінність до ферменту (енергія зв'язування становить (-325,17)) виражена більшою мірою, ніж у амоксициліну та ципрофлоксацину ((-237,61) і (-229,60) відповідно) [63].

У роботі [64], присвяченій синтезу 3-(1-ізопропеніл-1,3-дигідробензімідазол-2-іліден)-1,3дигідро-індол-2-она (**54**), зазначається, що до дії цієї сполуки чутливий золотистий стафілокок.

Таким чином, проведений аналіз антимікробної активності 1,2-дизаміщених бензімідазолів свідчить, що ці сполуки виявляють широкий спектр антимікробної активності, пригнічують ріст та розмноження грамнегативних та грампозитивних (спороутворюючих та неспороутворюючих) бактерій. До дії похідних бензімідазолів більшою мірою чутливі грампозитивні мікроорганізми, зокрема стійкі до дії антимікробних засобів *MRSA*, *MRSE*, *VRE* та ін.

1. *Машковский М. Д.* Лекарственные средства / М. Д. Машковский. Ч. 2.– М.: Медицина, 1998.– 574 с.
2. *Reddy B.* Recent developments in sequence selective minor groove DNA effectors / Reddy B. S., Sharma S. K., Lown J. W. // Curr. Med. Chem.– 2001.– V. 8, № 5.– P. 475–508.
3. *De Clercq E.* In search of effective anti-HHV-6 agents / De Clercq E., Naesens L // J. Clin. Virol.– 2006.– V.37, № 1.– P. 82–86.
4. Maribavir: a novel antiviral agent with activity against cytomegalovirus / Trofe J., Pote L., Wade E. [et al.] // Ann. Pharmacother.– 2008.– V.42, № 10.– P. 1447–1457.
5. Mebendazole in parasitic infections other than those caused b y soil-transmitted helminthes / Canete R., Escobedo A. A., Almirall P. [et al] // Trans. R. Soc. Trop.Med. Hyg.– 2009.– V. 103, № 5.– P. 437–442.
6. *Muri E. M.* Anti-Helicobacter pylori agents / Muri E. M., Williamson J. S. // Mini Rev. Med. Chem.– 2004.– V. 4, № 2.– P. 201–206.

7. *Sharara A. I.* Rabeprazole: the role of proton pump inhibitors in Helicobacter pylori eradication / Sharara A. I. / Expert. Rev. Anti. Infect. Ther.– 2005.– V. 3, № 6.– P. 863–870.
8. Противотуберкулезные свойства производных имидазола и бензимидазола / Брицун В. Н., Карпов П. А., Емец А. И. [и др.] // Журнал органічної та фарм. хімії.– 2011.– Т. 9, № 35.– С. 3–14.
9. *Boiani M.* Imidazole and Benzimidazole Derivatives as Chemotherapeutic Agents / Boiani M., Gonzalez M. // Mini Reviews in Medicinal Chemistry.– 2005.– V. 5, № 4.– P. 409–424.
10. *Bhattacharya S.* Medical implications of benzimidazole derivatives as drugs designed for targeting DNA and DNA associated processes / Bhattacharya S., Chaudhuri P. // Curr. Med. Chem.– 2008.– V. 15, № 18.– P. 1762–1777.
11. Benzimidazoles: A New Profile of Biological Activities / Pathak D., Siddiqui N., Bhrigu B. [et al.] // Pharm. Lett.– 2010.– V. 2, № 2.– P. 27–34.
12. *Khokra S. L.* / Benzimidazole An Important Scaffold In Drug Discovery / Khokra S. L., Choudhary D. // Asian J. Biochem. Pharm. Res.– 2011.– № 3.– P. 476–486.
13. *Dawood K. M*. Recent advances on the synthesis of azoles, azines and azepines fused to benzimidazole / Dawood K. M., Elwan N. M., Abdel-Wahab B. F // ARKIVOC.– 2011.– № 1.– P. 111–195.
14. Benzimidazole derivarives – an overview / Walia R., Hedaitullah Md., Naaz S. F. [et al] // Int. J. Res. Pharm. Chem.– 2011.– V. 1, № 3.– P. 565–574.
15. *Santosh P. C*. Benzimidazole: a versatile chemical entity / Santosh P. C., Pandeya S. N., Pathak A. K. // Int. J. Res. Ayur. Pharm.– 2011.– V. 2, № 6.– P. 1726–1737.
16. *Narasimhan B*. Benzimidazole: a medicinally important heterocyclic moiety / Narasimhan B., Sharma D., Kumar P. // Med. Chem. Res.– 2012.– V. 21, № 3.– P. 269–283.
17. Studies on the novel anti-staphyloccal compound nematophin / Kennedy G., Viziano M., Winders J. A. [et al] // Bioorg. Med. Chem. Lett.– 2000.– V. 10, № 15.– P. 1751–1754.
18. Synthesis and antimicrobial activity of some new 2-phenyl-N-substituted carboxamido-1H-benzimidazole derivatives/ Goker H., Tuncbilek M., Suzen S. [at al] // Arch Pharm.– 2001.– V. 334, № 5.– P. 148–152.
19. *Ayhan-Kilcigil G.* Synthesis and antimicrobial activities of some new benz imidazole derivatives / Ayhan-Kilcigil G., Altanlar N // Il Farmaco.– 2003.– V. 58, № 12.– P. 1345–1350.
20. Synthesis and Potent Antimicrobial Activity of Some Novel 4-(5, 6-Dichloro-1H-benzimidazol-2-yl)-N-substituted Benzamides / [Ozden S., Karatas H., Yildiz S., Goker H.] // Arch. Pharm.– 2004.– V. 337, № 10.– P. 556–562.
21. Synthesis and potent antimicrobial activity of some novel methyl or ethyl 1H-benzimidazole-5-carboxylates derivatives carrying amide or amidine groups [Ozden S., Atabey D., Yildiz S., Goker H] // Bioorg. Med. Chem.– 2005.– V. 13, № 5.– P. 1587–1597.
22. *Goker H.* Synthesis and potent antimicrobial activity of some novel N-(alkyl)-2-phenyl-1H- benzimidazole-5-carboxamidines / Goker H., Alp M., Yildiz S. // Molecules.– 2005.– V. 10, № 11.– P. 1377–1386.
23. Synthesis and potent antibacterial activity against MRSA of some novel 1,2-disubstituted-1H- benzimidazole-N-alkylated-5-carboxamidines [Goker H., Ozden S., Yildiz S., Boykin D. W.] // Eur. J. Med. Chem.– 2005.– V. 40, № 10.– P. 1062–1069.
24. Synthesis and potent antimicrobial activities of some novel retinoidal monocationic benzimidazoles / Ates-Alagoz Z., Alp M., Kus C. [et al.] // Arch. Pharm.– 2006.– V. 339, № 2.– P. 74–80.
25. *Ates-Alagoz Z.* Antimicrobial activities of some tetrahydronaphtha lene-benzimidazole derivatives / Ates-Alagoz Z., Yildiz S., Buyukbingol E. // Chemotherapy.– 2007.– V. 53, № 2.– P. 110–113.
26. *Bhatia N.* Synthesis and antibacterial activity of some novel 2-(substituted phenyl-1H-benzo [d] imidazole derivatives / Bhatia N., Yadav M., Pathak D. // Asian. J. Cur. Chem.– 2011.– V. 1, № 3.– P. 1–13.
27. Antimicrobial activity of a new combination system of benzimidazole and various azoles / [Ozkay Y., Tunali Y., Karaca H., Isikdag I.] // Arch. Pharm.– 2011.– V. 344, № 4.– P. 264–271.
28. Synthesis, anti-bacterial, anti-asthmatic and anti-diabetic activities of novel N-substituted-2-(4-phenylethynyl-phenyl)-1H-benzimidazoles and N-substituted 2 [4-(4,4-dimethyl-thiochroman-6-yl-ethynyl)-phenyl)-1H-benzimidazoles / Vinodkumar R., Vaidya S. D., Siva Kumar B. V. [et al.] // Europ. J. Med. Chem.– 2008.– V. 43, № 5.– P. 986–995.
29. *El-Masry A. H*. Synthesis and Antimicrobial Activity of Some New Benzimidazole Derivatives / El-Masry A. H., Fahmy H. H., Abdelwahed S. H. A // Molecules.– 2000.– V. 5, № 12.– P. 1429–1438.
30. *Fahmy H. H.* Synthesis and preliminary antimicrobial screening of new benzimidazole heterocycles / Fahmy H. H., El-masry A., Ali Abdelwahed S. H // Arch. Pharm. Res.– 2001.– V. 24, № 1.– P. 27–34.
31. *Puratchikody A.* Experimental and QSAR studies on antimicrobial activity of benzimidazole derivatives / Puratchikody A., Nagalakshmi G., Doble M // Chem. Pharm. Bull.– 2008.– V. 56, № 3.– P. 273–281.
32. *Tuncbilek M.* Synthesis and in vitro antimicrobial activity of some novel substituted benzimidazole derivatives having potent activity against MRSA / Tuncbilek M., Kiper T., Altanlar N. // Europ. J. Med. Chem.– 2009.– V. 44, № 3.– P. 1024–1033.
33. *Podunavac-Kuzmanovic S. O.* Correlations between the lipophilicity and the inhibitory activity of different substituted benzimidazoles / Podunavac-Kuzmanovic S. O., Cvetkovich D., Barna J. B. // Chem. Ind. Chem. Engin. Quart.– 2009.– V. 15, № 3.– P. 125–130.

34. *Nofal Z. M.* Synthesis, antimicrobial and molluscicidal activities of new benzimidazole derivatives / Nofal Z. M., Fahmy H. H., Mohamed H. S. // Arch. Pharm. Res.– 2002.– V. 25, № 1.– P. 28–38.
35. *Nofal Z. M.* Synthesis and antimicrobial activity of new substituted anilinobenzimidazoles / Nofal Z. M., Fahmy H. H., Mohamed H. S. // Arch. Pharm. Res.– 2002.– V. 25, № 3.– P. 250–257.
36. Synthesis and biological evaluations of novel benzimidazoles as potential antibacterial agents / He Y., Yang J., Wu B. [et al.] // Bioorg. Med. Chem. Lett.– 2004.– V. 14, № 5.– P. 1217–1220.
37. *Kus C.* Synthesis and antimicrobial activities of 5-fluoro-1,2,6-trisubstituted benzimidazole carboxamide and acetamide derivatives / Kus C., Goker H., Altanlar N. // Arch. Pharm.– 2001.– V. 334, № 11.– P. 361–365.
38. *Podunavac-Kuzmanovic S. O.* Quantative structure-activity relationships to predict antibacterial effect of some benzimidazole derivatives / Podunavac-Kuzmanovic S. O., Barna D. J., Cvetkovic D. // Acta periodica technologica.– 2008.– V. 39.– P. 181–191.
39. *Podunavac-Kuzmanovic S. O*. QSAR Modeling of antibacterial activity of some benzimidazole derivatives / Podunavac-Kuzmanovic S. O., Cvetkovic D. // Chem. Ind. & Chem. Engin. Quart.– 2011.– V. 17, № 1.– P. 33–38.
40. *Podunavac-Kuzmanovic S. O.* QSAR analysis of 2-amino or 2-methyl-1-substituted benzimidazoles against Pseudomonas aeruginosa / Podunavac-Kuzmanovic S. O., Cvetkovic D. D., Barna D. J. / Int. J. Mol. Sci.– 2009.– V. 10, № 4.– P. 1670–1682.
41. *Perisic-Janjic N. U.* RPTLC study of QSRR and QSAR for some benzimidazole derivatives / Perisic-Janjic N. U, Podunavac-Kuzmanovic S. O. // J. Planar Chromatogr. Modern TLC.– 2008.– V. 21, № 2.– P. 135–141.
42. *Ansari K. F.* Synthesis and biological activity of some heterocyclic compounds containing benzimidazole and beta-lactam moiety / Ansari K. F., Lal C. // J. Chem. Sci.– 2009.– V. 121, № 6.– P. 1017–1025.
43. *Gupta S.* Synthesis and antimicrobial screening of some acid chloride derivatives of 2-substituted benzimidazoles / Gupta S., Pancholi S. S., Gupta M. K // Orient. J. Chem.– 2009.– V. 25, № 1.– P. 219–222.
44. *Ansari K. F.* Synthesis and biological activity of some triazole-bearing benzimidazole derivatives / Ansari K. F., Lal C., Khitoliya R. K. // J. Serb. Chem. Soc.– 2011.– V. 76.– P. 341–352.
45. Microwave Assisted Synthesis and AntimicrobiaL Activity of Some Schiff's Bases / Somani R., Pawar S., Nikam S. [et al.] // Int. J. Chem. Tech. Res.– 2010.– V. 2, № 2.– P. 860–864.
46. *Ansari K. F.* Synthesis, physicochemical properties and antimicrobial activity of some new benzimidazole derivatives / Ansari K. F., Lal C Europ. // J. Med. Chem.– 2009.– V. 44, № 10.– P. 4028–4033.
47. Microwave assisted synthesis and antimicrobial activity of some newer Mannich bases / [Vijayaraghavan S., Somani R. R., Shirodkar P. Y., Kadam V. J.] // Int. J. Pharm. Tech. Res.– 2009.– V. 1, № 3.– P. 811–815.
48. Microwave assisted synthesis, characterization and biological evaluation of Benzimidazole substituted 1,3,4-oxadiazole [Jha K. K., Kumar Y., Shaharyar M., Singha S.] // Int. J. ChemTech. Res.– 2010.– V. 2, № 1.– P. 716–727.
49. Synthesis, characterization and biological evsaluation of some novel 2,5-disubstituted 1,3,4- thiadiazoles / Rajaka H., Veerasamyb R., Gupta A. K. [et al.] // Digest J. Nanomater. Biostruct.– 2009.– V. 4, № 3.– P. 443–451.
50. Conventional and Greener Approach for the Synthesis of Some Novel Substituted -4-xothiazolidine and Their 5-Arylidene Derivatives of 2-Methyl-benzimidazole: Antimicrobial Activities / Dua R., Sonwane S. K., Srivastava S. K., Srivastava S. D. // J. Chem. Pharm. Res.– 2010.– V. 2, № 1.– P. 415–423.
51. Synthesis and antimicrobial activity of certain benzimidazole and fused benzimidazole derivatives / Eisa H. M., Barghash A. M., Badr S. M., Farahat A. A // Ind. J. Chem. Sect. B.– 2010.– V. 49, № 11.– P. 1515–1525.
52. Microwave assisted synthesis of some novel benzimidazole substituted Fluoroquinolones and their antimicrobial evaluation /Jubie S., Rajeshkumar R., Yellareddy B. [et al.] // J. Pharm. Sci. Res.– 2010.– V. 2, № 2.– P. 69–76.
53. *Patil S. B.* Synthesis of 3- (1–benzyl- 1H-benzimidazol–2-L amino) – 2-(3– aryl-1-phenyl-1H- pyrazol-4-yl)thiazolidin -4-ones and their antinimicrobial activities / Patil S. B., Goudgaon N. M // Int. J. Pharm. Sci. Res.– 2010.– V. 1, № 6.– P. 50–56.
54. Synthesis and antibacterial evaluation of 2-some substituted benzimidazole-1-carbodithioate derivtives [Devmurari V. P., Pandey S., Goyani M. B., Jivani N. P.] // Int. J. Chem. Tech. Res.– 2010 – V. 2, № 1.– P. 598–605.
55. Synthesis and Biological Evaluation Of Some 2-Substituted Derivatives Of Benzimidazoles / Gupta S. K., Pancholi S. S., Gupta M. K. [et al.] // J. Pharm. Sci. Res.– 2010.– V. 2, № 4.– P. 228–231.
56. Exploration of *in vitro* time point quantitative evaluation of newly synthesized benzimidazole and benzothiazole derivatives as potential antibacterial agents / Bandyopadhyay P., Sathe M., Ponmariappan S. [et al.] // Bioorg. Med. Chem. Lett.– 2011.– V. 21, № 24.– P. 7306–7309.
57. *Lingala S.* Synthesis, antibicrobial and antihelmintic activity of some novel benzimidazole derivatives / Lingala S., Nerella R., Sambasiva K. R. S. // Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.– 2011.– V. 10, № 2.– P. 100–105.

58. *Lingala S.* Synthesis, antimicrobial and anthelmintic activity of some novel benzimidazole derivatives / Lingala S., Nerella R., Sambasiva K. R. S. // Pharm. Chem.– 2011.– V. 3, № 4.– P. 344–352.
59. Synthesis and bac terial activity of some novel benzimidazole derivatives / Pulate S. B., Durgad S. A., Kallur H. J. [et al.] // Pharmakine.– 2011.– V. 3, № 2.– P. 1–8.
60. Synthesis and Antimicrobial Studies of Some Novel Benzimidazole Derivatives [Reddy V. B., Singla R. K., Bhat V. G., Shenoy G. G.] // Asian J. Res. Chem.– 2009.– V. 2, № 2.– P. 162–167.
61. *Salman A. S. S.* Synthesis and Antimicrobial Activity of Some compounds Containing Benzimidazole Nucleus / Salman A. S. S. // J. Amer. Sci.– 2011.– V. 7, № 10.– P. 625–630.
62. *Chaudhari R. B.* Synthesis and antimicrobial activities of novel 8-(1-alkylalkyl sulphonyl/alkoxycarbonyl-benzimidazol-2-ylmethoxy)-5-chloroquinolines / Chaudhari R. B., Rindhe S. S. // J. Serb. Chem. Soc.– 2011.– V. 76, № 9.– P. 1199–1206.
63. *Sivakumar R.* Computer aided discovery of benzimidazole derivatives on peptide deformylase as antimicrobial agent / Sivakumar R., Pradeepchandr V. R., Narasimha K. J. // Europ. J. Chem.– 2011.– V. 2, № 4.– P. 558–560.
64. Synthesis and antimicrobial activity of some isatin derivatives [Madhu B. P., Maharaj J. K., Brahmeshwari G., Sarangapani M.] // J. Adv. Pharm. Sci.– 2011.– V. 1, № 1.– P. 20–33.

В. Н. Брицун, Н. А. Врынчану

Структурные особенности и антибактериальная активность 1,2-дизамещенных бензимидазолов

В обзоре обобщены и систематизированы данные литературы по антибактериальным свойствам производных бензимидазола. 1,2-дизамещенные бензимидазолы проявляют широкий спектр антибактериального действия. Наиболее выраженная активность соединений наблюдается в отношении грамположительных бактерий.

Ключевые слова: бензимидазолы, бактерии, антибактериальные средства

V. N. Britsun, N. A.Vrynchanu

Structure features and antibacterial activity of 1,2- disubstituted benzimidazoles

The literature data about antibacterial properties of benzimidazole derivatives have been generalized and systematized in the review. 1,2-disubstituted benzimidazoles have shown wide spectrum of antibacterial action. The most significant activity of them is observed on the gram-positive bacteriums.

Key words: benzimidazoles, bacteria, antibacterial substances

Надійшла: 12.02.2013 р.

Контактна особа: Брицун Василь Миколайович, доктор хімічних наук, старший науковий співробітник, Інститут органічної хімії НАН України, вул. Мурманська, буд. 5, м. Київ, 02094. Тел.: +38 0 44 499 46 06. Електронна пошта: ioch@ioch.kiev.ua

УДК 547.856

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

Вивчення кількісного взаємозв'язку між структурою похідних циклопента [*d*] піримідин-2,4(3*H*,5*H*)-діону та їхньою спазмолітичною активністю

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

Ключові слова: QSAR, циклопента [d] піримідин-2,4(3H,5H)-діони, спазмолітична активність

Спазмолітики – це лікарські засоби, що послаблюють або повністю усувають спазми гладеньких м'язів внутрішніх органів (бронхів, сечо- та жовчовивідних шляхів, шлунка, кишківника тощо) та кровоносних судин. Їх розподіляють на дві групи: нейротропні та міотропні. Міотропні спазмолітики, на відміну від нейротропних, спричиняють пряму дію на гладеньком'язові клітини, змінюючи іонний баланс клітинної мембрани. Вони використовуються при захворюваннях шлунково-кишкового тракту, урологічних захворюваннях, у гінекології тощо [1].

Незважаючи на широкий арсенал спазмолітичних засобів, доступних сьогодні для використання в медичній практиці, актуальним є пошук нових, більш ефективних та менш токсичних препаратів. Серед підходів, що використовуються для вирішення цієї проблеми, важливе місце займає метод QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship), який позитивно зарекомендував себе при встановленні залежності між структурами сполук та їхньою біологічною активністю.

Раніше було показано, що синтезовані нами похідні циклопента [*d*] піримідин-2,4(*3H,5H*)-діону проявляють спазмолітичну активність, дослідження якої виконано у відділі фармакології серцево-судинних засобів ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» під керівництвом професора М. А. Мохорта [2–5].

Мета дослідження – вивчення взаємозв'язку між структурою похідних циклопента [*d*]піримідин-2,4(*3H,5H*)-діону та їхньою спазмолітичною активністю як теоретичної основи для подальшого спрямованого конструювання ефективних спазмолітиків.

Матеріали та методи. Вивчення взаємозв'язку «структура–активність» (QSAR аналіз) було проведено методами кореляційного та регресійного аналізів (метод покрокової регресії) за допомогою програми Statistica 6.0 [8]. Були використані такі статистичні показники: r – коефіцієнт кореляції, R – коефіцієнт множинної кореляції, R^2 – коефіцієнт детермінації, *adjusted* R^2 – коригований коефіцієнт детермінації, S_{est} – стандартна похибка оцінювання, F – F-критерій Фішера, df – число ступенів свободи для F-критерію Фішера, t – t-критерій Ст'юдента, p – статистична значущість та N – кількість сполук. Якість регресійної моделі перевіряли кросвалідацією (методом *Leave-one-out*). Квадрат коефіцієнта кореляції перехресного контролю Q^2 та стандартну похибку прогнозу SDEP розраховували за формулами:

$$Q^2 = 1 - \frac{\sum \left(y_{obs} - y_{pred}\right)^2}{\sum \left(y_{obs} - y_{mean}\right)^2}, \qquad (2)$$

$$SDEP = \sqrt{\sum \frac{\left(y_{obs} - y_{pred}\right)^2}{N}}, \qquad (3)$$

де: y_{obs} – експериментальне значення; y_{pred} – прогнозоване значення; y_{mean} – середнє значення; N – кількість сполук.

Показниками спазмолітичної активності (залежна змінна) були значення

© Колектив авторів, 2013

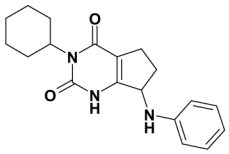
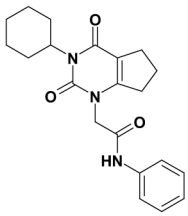
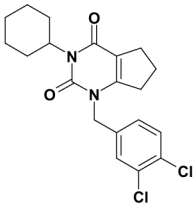
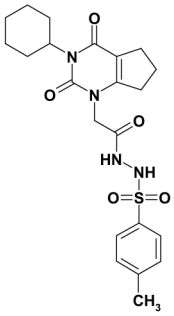
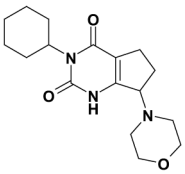
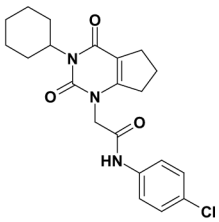
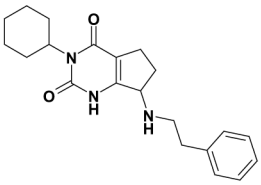
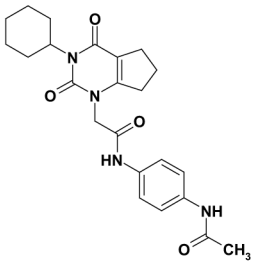
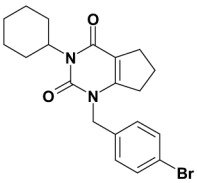
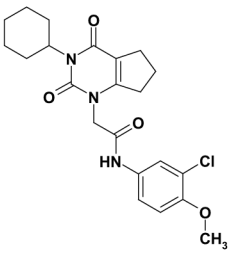
ефективних концентрацій EC_{50} (мкМ/л), що розраховували за формулою:

$$pEC_{50} = -\log EC_{50} \qquad (1)$$

Для характеристик структури похідних циклопента [*d*]піримідин-2,4(*3H,5H*)-діону (незалежні змінні) використовували розрахункові дескриптори (> 1600 дескрипторів). Оптимізацію структур похідних здійснювали за програмою HyperChem Professional 8.0 з використанням напівемпіричного методу розрахунків AM1 та алгоритму Полака-Рибера (спряжених градієнтів) до RMS градієнта 0,001 ккал/Å·моль [6]. Для скорочення часу, необхідного

Таблиця 1

Структурні формули та спазмолітична активність (pIC_{50}) похідних циклопента [d]піримідин-2,4(3H,5H)-діону

№	Структурна формула	pEC_{50}	№	Структурна формула	pEC_{50}
1		-4,92	6		-4,91
2		-5,36	7		-4,52
3		-6,22	8		-5,30
4		-4,81	9		-6,79
5		-4,81	10		-6,02

для мінімізації енергії молекул методом AM1, була проведена попередня оптимізація геометрії молекул методом молекулярної механіки (MM+). У результаті розрахунків було одержано ряд електронних та енергетичних індексів, а також оптимізовану геометрію молекул, яка була використана для розрахунку дескрипторів різних класів за допомогою програми E-DRAGON [7].

Результати та їх обговорення. Структурні формули похідних циклопента [*d*]піримідин-2,4(*3H,5H*)-діону та характеристики їхньої спазмолітичної активності (pEC_{50}) надано в таблиці 1.

За результатами кореляційного аналізу було виділено дескриптори, які мали значущі кореляції з показником спазмолітичної активності на рівні коефіцієнта кореляції (0,63–0,766) (табл. 2, 3). Зокрема, коефіцієнт Морана *MATS2e* корелює з pEC_{50} на рівні коефіцієнта кореляції $r = 0,766$, топологічний індекс заряду *JGI6* – $r = -0,739$, показник ліпофільності *LogP* (логарифм коефіцієнта розподілу сполук у системі «октанол – вода») – $r = 0,715$ тощо (табл. 3).

За результатами регресійного аналізу встановлено, що найкращі результати мають моделі, які містять дві незалежні змінні (дескриптори). При цьому коефіцієнт детермінації знаходиться в межах (0,775–0,893). Зокрема, застосування дескриптора *LogP* разом з автокореляційним дескриптором – коефіцієнтом Морана, зваженого за електронегативністю (*MATS1e*), дозволяє одержати модель 1, яка включає 77,5 % варіації pEC_{50} (R = 0,881) (рис. 1).

Модель 1: $\mathbf{pEC_{50} = -4,867 + 0,41\,(LogP) + 7,56(MATS1e)}$ (4)

$R = 0,881$; $R^2 = 0,775$; *adjusted* $R^2 = 0,711$; *S*est = 0,398; $F = 12,079$; $df = 2,7$; $p = 0,005$; $N = 10$.

Аналіз *вкладів* дескрипторів за стандартизованими регресійними коефіцієнтами (Бета-коефіцієнти) показує, що вклад *LogP* у регресію (4) дещо більший за вклад *MATS1e* (0,587 та 0,530 для *LogP* та *MATS1e* відповідно). Позитивні знаки при Бета-коефіцієнтах показують, що значення pEC_{50} зростає при збільшенні значень дескрипторів *LogP* та *MATS1e*.

Автокореляційний дескриптор – коефіцієнт Гері, зважений за електронегативністю (*GATS1e*) ($r = -0,714$), сукупно з центричним індексом *Lop* ($r = -0,699$), який визначає розгалуженість молекули, дозволяє одержати модель, яка описує 89,3 % варіації pEC_{50} (рис. 2).

Таблиця 2

Дескриптори структури, використані в кореляційному аналізі

Дескриптор	Опис
LogP	Показник ліпофільності [9]
Lop	Топологічний дескриптор – індекс центричності [10, 11]
JGI6	Топологічний індекс заряду – середній топологічний індекс заряду 6-го порядку [12, 13]
Mor10u, Mor10e, Mor10p	3D-MORSE дескриптори (3D-Molecule Representation of Structures based on Electron diffraction) [14–16]
RDF120m, RDF120e	Коди функцій радіального розподілу [17]
E1v, E1p	WHIM – зважені цілісні інваріантні молекулярні дескриптори, які є результатом аналізу головних компонент зваженої матриці, побудованої на основі центрованих атомних координат для молекули в енергетично вигідній конформації [18, 19]
BELm6	Нижнє характеристичне число Бурден-матриці [20]
MATS1v, MATS2v, MATS1e, MATS2e	Автокореляційні топологічні дескриптори. Коефіцієнти Морана [21]
GATS1e, GATS2e, GATS3e, GATS4e	Автокореляційні топологічні дескриптори. Коефіцієнти Гері [22]
R6u, R4v, R5v, R6e, R4p, R5p	GETAWAY – сумісна геометрична, топологічна та хімічна інформація про структуру молекул [23, 24]

Таблиця 3

Результати кореляційного аналізу (парні кореляції спазмолітичної активності (pEC_{50}) з дескрипторами)

Дескриптор	*r*	*t*	*p*
LogP	0,715	2,890	0,020
Lop	-0,699	-2,762	0,025
JGI6	-0,739	-3,107	0,015
Mor10u	0,716	2,900	0,020
Mor10e	0,696	2,741	0,025
Mor10p	0,658	2,474	0,038
RDF120m	-0,686	-2,665	0,029
RDF120e	-0,654	-2,443	0,040
E1v	0,699	2,762	0,025
E1p	0,672	2,564	0,033
BELm6	-0,663	-2,507	0,037
MATS1v	0,652	2,433	0,041
MATS2v	0,709	2,842	0,022
MATS1e	0,671	2,560	0,034
MATS2e	0,766	3,370	0,010
GATS1e	-0,714	-2,883	0,020
GATS2e	-0,752	-3,224	0,012
GATS3e	0,637	2,338	0,048
GATS4e	0,676	2,593	0,032
R6u	-0,744	-3,147	0,014
R4v	-0,758	-3,286	0,011
R5v	-0,736	-3,073	0,015
R6e	-0,742	-3,128	0,014
R4p	-0,640	-2,358	0,046
R5p	-0,754	-3,247	0,012

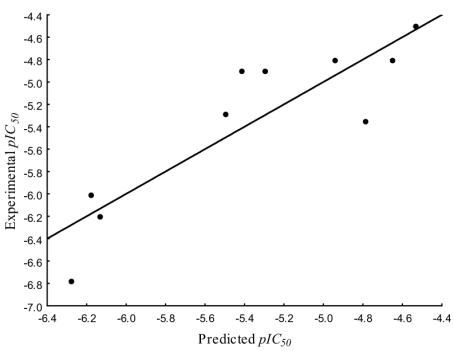


Рис. 1. Графік залежності прогнозованих значень pEC_{50} від експериментальних значень pEC_{50} за моделлю 1.

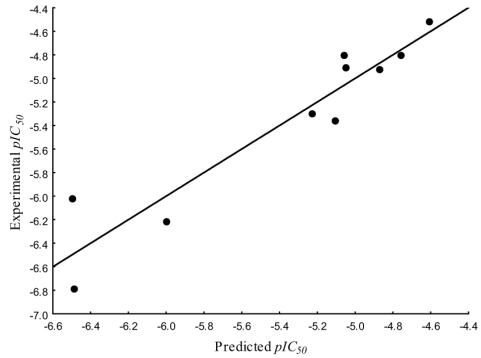


Рис. 2. Графік залежності прогнозованих значень pIC_{50} від експериментальних значень pIC_{50} за моделлю 2.

Модель 2: $\mathbf{pEC_{50} = 1{,}256 - 6{,}311(GATS1e) - 3{,}404(Lop)}$ (5)

$R = 0{,}945$; $R^2 = 0{,}893$; *adjusted* $R^2 = 0{,}862$; *S*est $= 0{,}275$; $F = 29{,}084$; $df = 2{,}7$; $p = 0{,}0004$; $N = 10$.

Негативні Бета-коефіцієнти (значення яких -0,64 та -0,623 для GATS1e та Lop відповідно) показують, що внесок дескрипторів *GATS1e* та *Lop* у регресію (5) майже однаковий, та pEC_{50} зростає при зменшенні значень обох дескрипторів *GATS1e* та *Lop*.

3D-MoRSE (Molecule Representation of Structures based on Electron

diffraction) дескриптори, що характеризують тривимірну структуру молекули, проявляють позитивну кореляцію з pEC_{50} (для *Mor10u* r = 0,716, для *Mor10e* r = 0,696, для *Mor10p* r = 0,658). Комбінація одного з них (*Mor10u*) разом із коефіцієнтом Гері (*GATS4e*) (r = 0,676) дозволяє отримати модель 3 із хорошими статистичними показниками (рис. 3).

Модель 3: $\mathbf{pIC_{50} = -9{,}991 + 1{,}259(Mor10u) + 3{,}564(GATS4e)}$ (6)

R = 0,931; R^2 = 0,866; *adjusted* R^2 = 0,828; *S*est = 0,307; F = 22,629; df = 2,7; p = 0,0009; N = 10.

Наведена модель 3 (рівняння 6) характеризує 86,6 % варіації pEC_{50}. Позитивні Бета-коефіцієнти (0,644 та 0,599 для *Mor10u* та *GATS4e* відповідно) показують, що внесок дескриптора *Mor10u* у регресію дещо більший, ніж внесок дескриптора *GATS4e*, при цьому pEC_{50} зростає при збільшенні значень обох дескрипторів.

Моделі, які кількісно описують залежність між структурою похідних циклопента [*d*]піримідин-2,4(*3H,5H*)-діону та їхньою спазмолітичною активністю, наведено в таблиці 4. Експериментальні, розраховані та прогнозовані значення показника pEC_{50} для 10 моделей, а також квадрат коефіцієнта кореляції перехресного контролю Q^2 та стандартна похибка прогнозу *SDEP* наведено в таблиці 5.

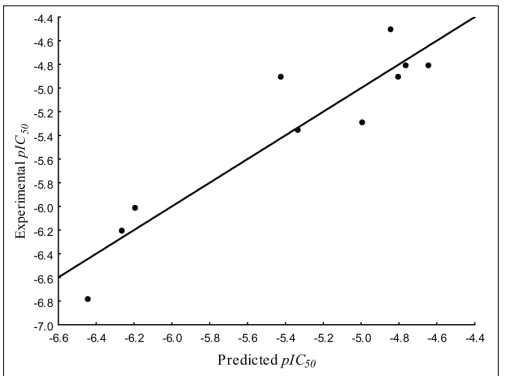


Рис. 3. Графік залежності прогнозованих значень pEC_{50} від експериментальних значень pEC_{50} за моделлю 3.

На основі побудованих моделей, прогностична здатність яких підтверджена статистичними показниками, було здійснено прогноз pEC_{50} для нових

Таблиця 4

Регресійні моделі та їхні статистичні показники

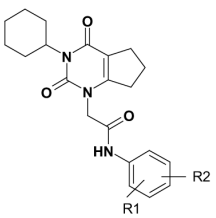
№ моделі	Регресійні моделі: pEC_{50} = f (дескрипторів)	Статистичні показники
1	= – 4,867 + 0,41(LogP) + 7,56(MATS1e)	***N*** = 10; ***R*** = 0,881; R^2 = 0,775; ***adjusted*** R^2 = 0,711; ***S est*** = 0,398; ***F*** = 12,079; ***df*** = 2,7; ***p*** = 0,005
2	= 1,256 – 6,311(GATS1e) – 3,404(Lop)	***N*** = 10; ***R*** = 0,945; R^2 = 0,893; ***adjusted*** R^2 = 0,862; ***S est*** = 0,275; ***F*** = 29,084; ***df*** = 2,7; ***p*** = 0,0004
3	= – 9,991 + 1,259(Mor10u) + 3,564(GATS4e)	***N*** = 10; ***R*** = 0,931; R^2 = 0,866; ***adjusted*** R^2 = 0,828; ***S est*** = 0,307; ***F*** = 22,629; ***df*** = 2,7; ***p*** = 0,0009
4	= 18,893 + 9,219(MATS1e) – 17,006(BELm6)	***N*** = 10; ***R***= 0,926; R^2 = 0,857; ***adjusted*** R^2 = 0,816; ***S est*** = 0,317; ***F*** = 20,955; ***df*** = 2,7; ***p*** = 0,001
5	= – 6,46 + 6,231(MATS2e) + 0,992(Mor10u)	***N*** = 10; ***R*** = 0,901; R^2 = 0,812; ***adjusted*** R^2 = 0,758; ***S est*** = 0,364; ***F*** = 15,092; ***df*** = 2,7; ***p*** = 0,003
6	= – 6,392 + 7,137(MATS2e) – 0,082(RDF120e)	***N*** = 10; ***R*** = 0,929; R^2 = 0,862; ***adjusted*** R^2 = 0,823; ***S est*** = 0,311; ***F*** = 21,954; ***df*** = 2,7; ***p*** = 0,001
7	= 0,934 – 3,914(R6u) – 3,212(Lop)	***N*** = 10; ***R*** = 0,943; R^2 = 0,889; ***adjusted*** R^2 = 0,857; ***S est*** = 0,280; ***F*** = 27,975; ***df*** = 2,7; ***p*** = 0,0005
8	= 5,585 – 12,414(R4v) – 228,483(JGI6)	***N*** = 10; ***R*** = 0,906; R^2 = 0,821; ***adjusted*** R^2 = 0,770; ***S est*** = 0,355; ***F*** = 16,079; ***df*** = 2,7; ***p*** = 0,002
9	= 21,740 – 14,414(R4v) – 14,28(BELm6)	***N*** = 10; ***R*** = 0,922; R^2 = 0,851; ***adjusted*** R^2 = 0,808; ***S est*** = 0,324; ***F*** = 19,943; ***df*** = 2,7; ***p*** = 0,001
10	= – 2,755 + 8,836(E1p) – 11,924(R4p)	***N*** = 10; ***R*** = 0,888; R^2 = 0,788; ***adjusted*** R^2 = 0,727; ***S est*** = 0,387; ***F*** = 12,987; ***df*** = 2,7; ***p*** = 0,004

Таблиця 5

Експериментальні ($pEC_{50\ exp.}$), розраховані ($pEC_{50\ calc.}$) та прогнозовані ($pEC_{50\ pred.}$) значення спазмолітичної активності

Сполука		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Q^2	SDEP
pEC_{50} exp.		-4,92	-5,36	-6,22	-4,81	-4,81	-4,91	-4,52	-5,30	-6,79	-6,02	–	–
Model 1	pEC_{50} calc.	-5,29	-4,78	-6,13	-4,93	-4,65	-5,41	-4,53	-5,49	-6,27	-6,18	–	–
	pEC_{50} pred.	-5,34	-4,61	-6,07	-4,96	-4,54	-5,47	-5,04	-5,51	-5,84	-6,24	0,506	0,494
Model 2	pEC_{50} calc.	-4,87	-5,11	-6,00	-4,76	-5,06	-5,05	-4,61	-5,23	-6,49	-6,49	–	–
	pEC_{50} pred.	-4,86	-5,07	-5,58	-4,74	-5,10	-5,07	-4,67	-5,22	-5,89	-6,79	0,455	0,452
Model 3	pEC_{50} calc.	-4,80	-5,33	-6,26	-4,64	-4,76	-5,42	-4,84	-4,99	-6,44	-6,19	–	–
	pEC_{50} pred.	-4,77	-5,32	-6,30	-4,57	-4,75	-5,74	-4,94	-4,93	-6,02	-6,25	0,647	0,417
Model 4	pEC_{50} calc.	-4,93	-4,80	-6,03	-5,20	-4,88	-5,33	-4,45	-5,31	-6,66	-6,06	–	–
	pEC_{50} pred.	-4,93	-4,66	-5,92	-5,24	-4,90	-5,38	-4,24	-5,32	-6,28	-6,08	0,729	0,366
Model 5	pEC_{50} calc.	-4,81	-5,37	-5,95	-4,75	-4,72	-5,59	-4,49	-5,39	-6,27	-6,32	–	–
	pEC_{50} pred.	-4,79	-5,38	-5,86	-4,73	-4,70	-5,90	-4,47	-5,41	-5,60	-6,50	0,431	0,530
Model 6	pEC_{50} calc.	-4,88	-5,39	-6,09	-4,80	-4,40	-4,89	-5,08	-5,44	-6,45	-6,22	–	–
	pEC_{50} pred.	-4,87	-5,41	-6,05	-4,80	-4,20	-4,88	-5,32	-5,47	-5,68	-6,33	0,512	0,490
Model 7	pIC_{50} calc.	-4,74	-5,33	-6,09	-4,37	-5,18	-5,23	-4,72	-5,38	-6,64	-5,99	–	–
	pIC_{50} pred.	-4,70	-5,33	-5,69	-4,16	-5,22	-5,28	-4,82	-5,39	-6,32	-5,98	0,720	0,371
Model 8	pEC_{50} calc.	-4,62	-5,43	-6,26	-4,68	-4,75	-5,22	-4,68	-5,88	-6,26	-5,87	–	–
	pEC_{50} pred.	-4,49	-5,46	-6,29	-4,63	-4,70	-5,26	-4,73	-6,11	-5,81	-5,82	0,581	0,455
Model 9	pEC_{50} calc.	-4,38	-5,32	-6,04	-4,73	-5,06	-5,09	-4,98	-5,33	-6,53	-6,19	–	–
	pEC_{50} pred,	-4,11	-5.31	-5,92	-4,70	-5,13	-5,11	-5,18	-5,34	-5,81	-6,26	0,522	0,486
Model 10	pEC_{50} calc.	-4,72	-5,47	-6,04	-4,76	-4,88	-5,41	-4,62	-5,16	-6,12	-6,48	–	–
	pEC_{50} pred.	-4,64	-5,50	-5,85	-4,75	-4,92	-5,60	-4,66	-5,14	-5,68	-6,85	0,454	0,519

циклопента [*d*]піримідин-2,4(*3H,5H*)-діонів загальної формули:



де: R^1, R^2 (pEC_{50}): H, OMe-2; H,OMe-3 (-6,4); H, C(O) OMe-4 (-6,86); $(OMe)_2$-2,4; (OMe)-3,4 (-7,28).

Встановлено, що показники їхньої активності pEC_{50} знаходяться в межах від -6,4 до -7,28 (модель 2), відхилення значень яких від експериментальних даних знаходиться в межах (2,4–10,2) %.

Таким чином, використовуючи метод QSAR, було отримано 10 математичних моделей, що описують залежність між структурою похідних циклопента [*d*]

піримідин-2,4(*3H,5H*)-діону та їхньою спазмолітичною активністю на рівні коефіцієнтів множинної кореляції (R 0,881–0,945). При цьому коефіцієнт детермінації знаходиться в межах (R^2 0,775–0,893).

Виявлено, що тіснота зв'язку показника спазмолітичної активності pEC_{50} з 2D-дескрипторами більша, ніж з 3D-дескрипторами.

Здійснено аналіз вкладів дескрипторів у величину показника спазмолітичної активності та розкрито їхній фізико-хімічний зміст.

Проведена методом *Leave-one-out* перевірка якості регресійних рівнянь дає підставу стверджувати, що знайдені моделі є статистично значущими (розрахований квадрат коефіцієнта кореляції перехресного контролю Q^2 – (0,431–0,729), стандартна похибка прогнозу *SDEP* – (0,366–0,530) та можуть бути використані для прогнозування спазмолітичної активності сполук ряду циклопента [*d*]піримідин-2,4(*3H,5H*)-діонів.

1. *Bungardt E.* Spasmolytics, in: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry / E. Bungardt, E. Mutschler.– Wiley-VCH, 2007.– Режим доступу: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14356007.a24_515/abstract.
2. *Кононевич Ю. М.* Синтез нових 1,3-дизаміщених 6,7-дигідро-1Н-циклопента [d]піримідин-2,4(3Н,5Н)-діонів, що проявляють спазмолітичну активність. Повідомлення 1 / Ю. М. Кононевич, А. М. Демченко // Ж. орг. фарм. хімії.– 2011.– Т. 9, Вип. 1.– С. 52–56.
3. *Кононевич Ю. М.* Синтез нових похідних 6,7-дигідро-1Н- циклопента [d]піримідин-2,4(3Н,5Н)-діону на основі 3-циклогексил-2-(2,4-діоксо-2,3,4,5,6,7-гексагідро-1Н-циклопента [d] піримідин-1-іл)ацетогідразиду. Ч. II / Ю. М. Кононевич, А. М. Демченко // Ж. орг. фарм. хімії.– 2011.– Т. 9, Вип. 2.– С. 49–52.
4. *Кононевич Ю. М.* Синтез нових 1,3-дизаміщених 6,7-дигідро-1Н-циклопента [d]піримідин-2,4(3*H*,5*H*)-діонів – потенційних спазмолітиків / Ю. М. Кононевич, А. М. Демченко // Ж. орг. фарм. хімії.– 2012.– Т. 10, Вип. 3.– С. 59–63.
5. Патент 60052 Україна, МПК A61K 31/517(2006.01) Сполука 2-(3-циклогексил-2,4-діоксо-2,3,4,5,6,7-1Н-циклопента [d]піримідин-1-іл)-N-фенілацетамід, що проявляє детрузоселективну спазмолітичну активність / Ю. М. Кононевич, А. М. Демченко, Л. С. Бобкова [та ін.]; заявник Ін-т фармакології та токсикології.– № u2010 13568; заявл. 15.11.2010; опубл. 10.06.2011, Бюл. № 11.
6. HyperChem Professional version 8.0 is a product of Hypercube, Inc., Gainesville, USA.– Режим доступу: http://www.hyper.com.
7. E-DRAGON, Virtual Computational Chemistry Laboratory.– Режим доступу: http://www.vcclab.org/lab/edragon/.
8. Statistica version 6.0 is a product of StatSoft, Inc., Tulsa, USA.– Режим доступу: http://www.statsoft.com.
9. *Pliska V.* Lipophilicity in drug action and toxicology / V. Pliska, B. Testa.– Weinheim: Wiley-VCH, 1996.– 438 p.
10. *Balaban A. T.* XXXIV. Five new topological indices for the branching of tree-like graphs / A. T. Balaban // Theoret. Chim. Acta.– 1979.– V. 53.– P. 355–375.
11. *Todeschini R.* Handbook of molecular descriptors / R. Todeschini, V. Consonni.– Weinheim: Wiley-VCH, 2000.– 680 p.
12. Charge indexes. New topological descriptors / J. Galvez, R. Garcia, M. T. Salabert, R. Soler // J. Chem. Inf. Comput. Sci.– 1994.– V. 34, № 3.– P. 520–525.
13. Topological approach to drug design / J. Galvez, R. Garcia-Domenech, J. V. Julian-Ortiz, R. Soler // J. Chem. Inf. Comput. Sci.– 1995.– V. 35, № 2.– P. 272–284.
14. *Schuur J. H.* The coding of the three-dimensional structure of molecules by molecular transforms and its application to structure-spectra correlations and studies of biological activity / J. H. Schuur, P. Selzer, J. Gasteiger // J. Chem. Inf. Comput. Sci.– 1996.– V. 36, № 2.– P. 334–344.
15. Chemical information in 3D space / J. Gasteiger, J. Sadowski, J. Schuur [et al.] // J. Chem. Inf. Comput. Sci.– 1996.– V. 36, № 5.– P. 1030–1037.
16. *Schuur J.* Infrared spectra simulation of substituted benzene derivatives on the basis of a 3D structure representation / J. Schuur, J. Gasteiger // Anal. Chem.– 1997.– V. 69, № 13.– P. 2398–2405.
17. *Hemmer M. C.* Deriving the 3D structure of organic molecules from their infrared spectra / M. C. Hemmer, V. Steinhauer, J. Gasteiger // Vib. Spectrosc.– 1999.– V. 19, № 1.– P. 151–164.
18. *Todeschini R.* New molecular descriptors for 2D and 3D structures. Theory / R. Todeschini, M. Lasagni, E. Marengo // J. Chemom.– 1994.– V. 8, № 4.– P. 263–272.
19. Weighted holistic invariant molecular descriptors. Part 2. Theory development and applications on modeling physicochemical properties of polyaromatic hydrocarbons / R. Todeschini, P. Gramatica, R. Provenzani, E. Marengo // Chemom. Intell. Lab. Syst.– 1995.– V. 27, № 2.– P. 221–229.

20. *Burden F. R.* Molecular identification number for substructure searches / F. R. Burden // J. Chem. Inf. Comput. Sci.– 1989.– V. 29, № 3.– P. 225–227.
21. *Moran P. A. P.* Notes on continuous stochastic phenomena / P. A. P. Moran // Biometrika.– 1950.– V. 37, № 1–2.– P. 17–23.
22. *Geary R. C.* The contiguity ratio and statistical mapping. The incorporated statistician / R. C. Geary // Incorp. Statist.– 1954.– V. 5, № 3.– P. 115–145.
23. *Consonni V.* Structure/response correlations and similarity/diversity analysis by GETAWAY descriptors. 1. Theory of the novel 3D molecular descriptors / V. Consonni, R. Todeschini, M. Pavan // J. Chem. Inf. Comput. Sci.– 2002.– V. 42.– P. 682–692.
24. Structure/response correlations and similarity/diversity analysis by GETAWAY descriptors. 2. Application of the novel 3D molecular descriptors to QSAR/QSPR studies / V. Consonni, R. Todeschini, M. Pavan, P. Gramatica // J. Chem. Inf. Comput. Sci.– 2002.– V. 42.– P. 693–705.

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

Изучение количественной взаимосвязи между структурой производных циклопента [*d*]пиримидин-2,4(3*H*,5*H*)-диона и их спазмолитической активностью

Для изучения количественной взаимосвязи между структурой производных циклопента [*d*] пиримидин-2,4(3*H,*5*H*)-диона и их спазмолитической активностью был использован метод *QSAR*. Установлено, что теснота связи показателя спазмолитической активности pEC_{50} с 2D-дескрипторами сильнее, чем с 3D-дескрипторами. Получено 10 регрессионных моделей, которые количественно описывают взаимосвязь между структурой производных циклопента [*d*]пиримидин-2,4(3*H,*5*H*)-диона и их спазмолитической активностью. Показано, что лучшее предсказание дают модели, которые содержат две независимые переменные и коэффициент детерминации которых находится в пределах от 0,775 до 0,893. Рассчитанные квадрат коэффициента перекрестного контроля Q^2 (находится в пределах 0,431–0,729) и стандартная ошибка прогноза *SDEP* (находится в пределах 0,366–0,530) дают основания утверждать, что выделенные модели являются статистически значимыми и могут быть использованы для прогнозирования спазмолитической активности производных циклопента [*d*]пиримидин-2,4(*3H,5H*)-диона.

Ключевые слова: QSAR, циклопента [d]пиримидин-2,4(3H,5H)-дионы, спазмолитическая активность

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

The investigation of the quantitative relationship between the structures of the cyclopenta [*d*]pyrimidine-2,4(3*H*,5*H*)-diones and their spasmolytic activity

Quantitative structure-activity relationship (*QSAR*) approach was used to develop quantitive relationship between the structures of cyclopenta [*d*]pyrimidine-2,4(3*H,*5*H*)-diones and their spasmolytic activity. It was found that correlation ratio of pEC_{50} with 2D-descriptors is stronger than with 3D-descriptors and also it was obtained 10 models that quantitively describe the relationship between the structures of cyclopenta [*d*]pyrimidine-2,4(3*H,*5*H*)-dione derivatives and their spasmolytic activity. Best predicted results give models that have two independent variables and the determination coefficient is in the range from 0.775 to 0.893. The calculated cross-validated squared correlation coeficient Q^2 (in the range from 0.431 to 0.729) and standard deviation of error of predictions SDEP (in the range of 0.366–0.53) give reason to believe that the chosen models are statistically significant and they can be used for the prediction of spasmolytic activity of cyclopenta [*d*]pyrimidine-2,4(*3H,5H*)-dione derivatives.

Key words: QSAR,cyclopenta [d]pyrimidine-2,4(3H,5H)-diones, spasmolytic activity

Надійшла: 18.03.2013 р.

Контактна особа: Кононевич Ю. М., ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Ежена Потьє, м. Київ, 03680. Тел.: +38 0 44 456 42 56.

УДК 615.01:615.015.32

І. С. Чекман[1], О. П. Мощич[2], В. Я. Антонченко[3], Л. М. Максимюк[3], М. І. Загородний[1]

Гомеопатія і наномедицина: спільне та особливості

[1]Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ
[2]Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ
[3]Інститут теоретичної фізики імені М. М. Боголюбова НАН України, м. Київ

Ключові слова: гомеопатія, наномедицина, субмінімальні дози, біологічні об'єкти

Останніми роками в різних галузях діяльності людини зростає обсяг публікацій з нанотехнологій, у тому числі й із наномедицини. Аналізуючи дані літератури та власні дослідження, зроблено співставлення властивостей нанопрепаратів та гомеопатичних лікарських засобів. Гомеопатія вивчає дію на організм речовин мінерального, рослинного, тваринного, іншого біологічного та синтетичного походження (гомеопатичних лікарських засобів) у надмалих дозах, величина яких лежить у межах від часточок грама до 10^{-9} ....., 10^{-120} і ще вищих розведень. Наномедицина досліджує вплив на організм людини лікарських засобів у нанорозмірах (1 нм = 10^{-9} м).

Раніше вважалося, що вода структурно гомогенна аж до молекулярного рівня. Сьогодні наявність наногетерогенних структур у воді визнана як стандартна молекулярна модель даної речовини. Типовий зразок структури води складається з комплексу мономерів і олігомерів-кластерів (їх ще називають наногетерогенними структурами), які містять сотні молекул води [1–4].

Ще на початку минулого століття встановлено, що в гідрофільних системах частина води не є розчинником. Так виникло вчення про нерозчинений об'єм. Це так званий ефект нерозчиненого об'єму Думанського. У цих випадках тонка плівка води на поверхні підкладки перестає бути розчинником. У воді, яка формується на гідрофільних поверхнях різної природи, можуть міститись мікрочастинки та низькомолекулярні компоненти [5].

Дослідження останніх років з біофізики води пояснюють деякі положення гомеопатії [7]. Гомеопатичні ліки створюються на принципі схожості симптомів. Доцільно висловити одне положення щодо гомеопатичних ліків: при розведенні водою в надмалих концентраціях змінюються властивості хімічних сполук або лікарських засобів. Зміна наногетерогенної структури води в режимі ультрарозведення відбувається за допомогою епітаксії разом з енергійним струшуванням, яке створює тиск і газові нанобульбашки, присутні у воді. При цьому з'являються властивості, які відрізняються від властивостей води, не обробленої струшуванням. Проведеними дослідженнями встановлено, що за великих розведень концентрація розчиненої речовини стає постійною та визначається лише кількістю розчиненої речовини [7]. Слід підкреслити, що комплексних досліджень, які були б спрямовані на встановлення змін фізичних, хімічних, фізико-хімічних та фармакологічних властивостей лікарських засобів, отриманих за технологією Ганемана, проводилося недостатньо.

Активні центри різних поверхонь можуть поляризувати воду, з молекул якої вибудовуються багатошарові водні структури, що відрізняються за своїми властивостями від об'ємної рідкої води. Роль організаторів структури води можуть відігравати не тільки тверді частинки, але й газові нанобульбашки, що присутні у воді. Така водна система отримує зовнішній вплив, що забезпе-

© Колектив авторів, 2013

чує вихідну організацію частинок відносно один одного [1].

Поверхневий натяг – це ступінь взаємодії молекул води між собою. Водопровідна вода має поверхневий натяг 73 дин/см, внутрішньо- і позаклітинна вода – 43 дин/см. Вода з низьким поверхневим натягом більш біологічно доступна. Поверхневий натяг води, що має температуру людського тіла, становить приблизно 50 дин/см. Це відповідає поверхневому натягу внутрішньо- і позаклітинної води [4].

Нанонаука – це дослідження й технологічні розробки наноматеріалів у шкалі розмірів від 0,1 до 100 нм, що призводить до одержання фундаментальних знань про природу явищ та властивості різних матеріалів, а також створення й використання структур, що набувають нових якостей завдяки своїм маленьким розмірам. Нанонаука вивчає вплив на живі та неживі системи нанорозмірних структур.

Майже 220 років тому, у Німеччині, професор Лейпцігського університету, хімік, фармаколог і лікар Христіан Фрідріх Самуель Ганеман (1755–1843) заснував новий напрям медичної науки і практики – «Гомеопатію», галузь медицини надмалих доз, що понад два століття з успіхом застосовується в медичній практиці в більшості країн Європи, Америки, Індії та інших країн світу. Гомеопатичні лікарські засоби мають визнаний офіційний статус, затверджений Європейською Державною фармакопеєю, Британською, Німецькою, Французькою, Американською та іншими фармакопеями (включно і державною фармакопеєю України), і представлені на фармацевтичному ринку більшості країн світу. С. Ганеман встановив, що в процесі «потенціювання» (серійних послідовних розведень і струшувань), у міру зменшення кількості речовини, дія ліків зазнає змін: перед початком виготовлення гомеопатичного потенційованого препарату він викликає патологічні симптоми (велика доза), потім, при подальшому розведенні, настає момент, коли не виявляють дії речовини («німа» фаза), надалі в процесі й унаслідок «потенціювання» проявляється лікувальний ефект впливу на біологічний об'єкт (так звана мала доза). Такі ефекти були отримані та описані протягом останніх десятиліть у роботах Л. Х. Гаркаві, 0. В. Квакіної, М. В. Уколової [18], П. В.Симонова [19].

У фізіології та фармакології давно відомо, що великі й малі дози мають протилежний вплив на організм. М. П. Кравков у досліді з адреналіном показав протилежний вплив великих і малих доз. Уводячи в ізольовану вену вуха кролика розчин адреналіну в розведенні 10^6, автор отримав класичний ефект – спазм судин. При наступних розведеннях ефекту не спостерігали. А при розведенні до 10^{-33} спостерігали парадоксальний ефект: розширення судин [9]. Аналогічні механізми дії виявив І. П. Павлов у роботах з кофеїном.

Фазність у реагуванні на різні дози подразників встановили І. Х. Гаркаві, М. В. Уколова, Є. В. Квакіна, які виявили десять рівнів реагування організму залежно від дози. Ними показано, що малі дози – слабкі подразники, нерідко позитивно впливають на організм, чинять ефект «тренування». П. В. Симонов встановив: субмінімальні дози речовин викликають гальмування, яке він назвав превентивним, що має виражені захисні властивості. Так, субмінімальні дози кофеїну подовжують життя білих мишей за умов кисневого голодування. Велика доза кофеїну у фазі збудження не має цієї дії, а у фазі гальмування скорочує життя білих мишей. Автор писав: «Ймовірно, властивостями викликати ефекти, протилежні дії середніх доз, володіють субмінімальні дози багатьох лікарських речовин». П. В. Симонов вважав, що саме цю властивість «емпірично використовують гомеопати в тих випадках, коли вони отримують достовірний терапевтичний ефект».

Розчини хімічно чистих адаптогенів мають здатність впливати на функціональну активність клітин кісткового мозку. Даний ефект характеризується тенденцією до домінування стимулюючої активності, що зберігається при використанні розчинів, концентрація яких виключає ймовірність безпосеред-

нього контакту молекул адаптогенів з рецепторами клітин. Очевидно, зазначений феномен обумовлений зміною структури молекул розчинника (води) з утворенням форм, здатних зберігати інформацію щодо адаптогенів з можливою її трансляцією в процесі всіх етапів послідовного розведення розчинів [10].

У роботі [11] висловлено думку, що за послідовних розведень у середовищі виникає інформаційно-силове поле, що посилюється під час розведення. Ці автори визначили гомеопатичні ліки як «інформаційно-енергетичний комплекс, здатний до переходу з одного носія на інший», розробивши інформаційно-енергетичну голограмну теорію гомеопатії.

При поступовій зміні в середовищі концентрації сечовини АТФ-на активність препаратів актоміозіну та міозину змінюється не однозначно, то зменшуючись, то збільшуючись. Такий самий багатофазний характер мають зміни АТФ-ної активності препаратів міозину та актоміозіну за дії різної концентрації АТФ. Багатофазний характер зміни АТФ-ної активності виявляється лише при слабких впливах. За збільшення концентрації сечовини в середовищах понад 40–50 мг/мл спостерігається монотонне падіння АТФ-ної активності міозину [12].

У роботі [13] вивчали дегрануляцію сенсибілізованих базофільних гранулоцитів за впливу антисироватки, використовуючи її послідовні розведення. Отримано такий самий ефект дегрануляції, як у нерозведених розчинах. Висловлено припущення, що носієм інформації при послідовних розведеннях є вода. Зазначено, що активне перемішування (струшування) посилює дієвість розчинів. Ефект, отриманий за розведень, відповідав клінічним спостереженням гомеопатів. Ефект дегрануляції зменшувався, збільшувався, або не спостерігався в міру розведень, тобто він був немонотонний, нелінійний. Нелінійність, багатофазність ефектів під впливом слабких зовнішніх впливів спостерігали й інші дослідники [12].

Хлоргілін інгібує активність моноамінооксидази у співвідношенні 1:1. Установлено, що пригнічення активності ферменту можна спостерігати за значно меншої кількості хлоргіліну (концентрації 10^{-10} і нижче). Виявлено, що інгібуючий потенціал мають навіть ті розчини в ряду розведень, які практично не містять самого хлоргіліну. Зроблено припущення, що ефект за концентрації хлоргіліну 10^{-10} і нижче забезпечує не хлоргілін, а ті зміни розчинника, що виникають у його розчинах, і що в розчинах утворюється новий «гіпотетичний інгібітор», який впливає подібно хлоргіліну. Досліджено дію хлоргіліну на активність моноамінооксидази плаценти людини, і виявлено, що в розчинах хлоргіліну з'являється «додатковий потенціал», зі здатністю до самовідтворення, і зберігається постійним при розведеннях основної речовини до концентрації 10^{-23} [14].

Виявлено, що «у відповідь на досить слабкі впливи, білок неоднозначно змінює свої властивості». Визначено біологічну активність малих доз, тобто високих розведень. Автори висловили думку, що вода є носієм інформації, переданої від первинно розчиненої в попередніх розчинах речовини. Висловлено припущення, що ті самі зміни води, що відбуваються в розчинах при потенціюванні, можуть відбуватися й у воді організму під впливом ліків, передача інформації може здійснюватися від однієї порції води до другої [12].

Реакцію організму на малі дози лікарських речовин можливо пояснити готовністю організму до такої дії. У клініці доводиться спостерігати, що хворий організм більш чутливий до ліків, ніж здоровий. Підтвердження цьому є у відомих наукових роботах академіка О. І. Черкеса та його учнів (В. Ф. Мельнікова, Н. М. Дмитрієва, Є. С. Розовська, М. І. Сластьон, С. Б. Французова) з біохімічної фармакології серцевих глікозидів. Установлено, що міокард тварин при серцевій недостатності значно більш чутливий до серцевих глікозидів (дигоксину, строфантину, конвалятоксину, периплоцину) [15].

Висловлено думку щодо інформаційної дії на організм ліків у малих дозах [16]. Але ця гіпотеза потребує подальших ґрунтовних досліджень. У роботі

[17] автори виклали фізичну гіпотезу дії водних розчинів малих концентрацій. Згідно з отриманими результатами, водна фаза 87 % спиртово-водного розчину приймає специфічну форму, що відображає конфігурацію молекул розчиненої речовини. Високі розведення, що пройшли процедуру струшування, являють собою стереоспецифічні ізотоксичні полімери, «відбиток» розчиненої речовини в розчиннику.

Яким би не був механізм динамічних перетворень під час виготовлення гомеопатичних лікарських засобів і механізм впливу надмалих доз таких ліків на хворий організм, сам факт їхнього існування для неупередженого дослідника є безсумнівним, а історія ефективного застосування в клінічній практиці нараховує вже понад два століття в більшості країн. Технологічний процес виготовлення надмалих доз, що застосовують в гомеопатії, відкритий і розроблений С. Ганеманом, описаний та впроваджений у практику всіх гомеопатичних виробництв, названий методом «динамізації» (або «потенціювання»), буде предметом розгляду в масштабі сучасних досягнень і відкриттів. Засновник Київської школи гомеопатії, доктор Д. В. Попов, який понад 60 років життя присвятив цьому напряму медицини, ще в 70-х роках XX століття стверджував: «Передбачаю, що в близькому майбутньому все людство кинеться вивчати медицину надмалих доз».

Таким чином, наномедицина досліджує вплив на організм людини матеріалів у розмірах до 100 нм (1 нм = 10^{-9} м). Гомеопатія, у свою чергу, вивчає дію на організм речовин мінерального, рослинного, тваринного, іншого біологічного та синтетичного походження (гомеопатичних лікарських засобів) у надмалих дозах, величина яких лежить у межах від часточок грама (наприклад, низьке розведення: 3D – 0,0001) до 10^{-9} ....., 10^{-120} розведень, досвід успішного застосування яких у клінічній практиці підтверджувався як протягом століть, так і найсучаснішими багатоцентровими рандомізованими, плацебо-контрольованими міжнародними дослідженнями (такими, наприклад, як IIPCOS, ISH-10, що включали понад 16 тис. хворих і проводились в 12 країнах Західної і Східної Європи, Японії, США протягом 5 років). У цьому головна відмінність і водночас важлива об'єднуюча складова можливих майбутніх взаємозв'язків сучасної наномедицини і гомеопатії.

Викладені в даній роботі деякі положення залишаються дискусійними і потребують подальших ґрунтовних досліджень спеціалістами різних напрямів для з'ясування загальних положень щодо нанотехнологій, наномеханізмів, а також гомеопатії, дії нанопрепаратів і гомеопатичних лікарських засобів на живі системи.

1. *Антонченко В. Я.* Основы физики воды / В. Я. Антонченко, А. С.Давыдов, В. В. Ильин.– К.: Наукова думка, 1991.– 667 с.
2. *Гончарук В. В.* Наука о воде / В. В. Гончарук.– К. : Наукова думка, 2010.– 511 с.
3. *Булавін Л. А.* Фізика рідин та рідинних систем / Л. А. Булавін.– Видавництво АСМІ, 2006.– 660 с.
4. *Туров В. В.* Кластеризованная вода и пути ее использования / В. В. Туров В. М. Гунько.– К. : Наукова думка, 2011.– 314 с.
5. *Думанский А. В.* Учение о коллоидах / А. В. Думанский.– ОНТИ ИКТП СССР, 1935.– 383 с.
6. *Булавін Л. А.* Фізика іонно-електронних рідин / Л. А. Булавін.– ВПЦ «Київський університет», 2008.– 367 с.
7. Біофізичні властивості водних систем і молекулярні механізми дії лікарських засобів / Л. М. Максимюк, В. Я. Антонченко, Г. О. Сирова [та ін.] // Вісник НМУ.– 2012.– № 3.– С. 127–129.
8. *Менделеев Д. И.* Границ познанию предвидеть невозможно / Д. И. Менделеев.– М. : Советская Россия, 1991.– 389 с.
9. *Кравков Н. П.* О пределах чувствительности живой протоплазмы / Кравков Н. П. // Успехи экперим. патологии.– 1924.– Т. 3, Вып. 3–4.– С. 147–172.
10. Влияние малых концентраций растворов адаптогенов на функциональную активность клеток костного мозга мишей in virto / С. Н. Удинцев, В. П. Шахов, И. Г. Боровской, С. Г. Ибрагимова // Биофизика.– 1991.– Т. 36, Вып. 1.– С. 105–108.
11. *Возианов А. Ф.* Гомеопатическое лечение больных с аденомой предстательной железы / А. Ф. Возианов, Н. К. Симеонова // Врачеб. дело.– 1989.– № 2.– С. 5–8.

12. *Шноль С. Э.* О многофазном характере зависимости аденозитрифосфатазной активности актимиозина и миозина от различных воздействий / С. Э. Шноль, М. Н. Кондрашова, Х. Ф. Шольц // Вопр. мед. химии.– 1957.– Т. 3, № 1.– С. 54–63.
13. *Benveniste J.* The memory of water / J. Benveniste // Nature.– 2004.– V. 431, № 7009.– P. 613–722.
14. *Пеккель В. А.* Необычное ингибирование активности моноаминооксидазы, индуцируемое хлоргилином / В. А. Пеккель, А. З. Киркель // Биохимия.– 1988.– Т. 53, № 7.– С. 1224–1226.
15. *Черкес А. И.* Сердечные гликозиды / А. И. Черкес, В. Ф. Мельникова, Е. С. Розовская // Руководство с фармакологии.– Л.: Медицина, 1961.– С. 267–298.
16. *Вавилова Н. М.* Гомеопатическая фармакодинамика / Н. М. Вавилова. Часть 1.– [2-е изд.].– Ростов-на-Дону : изд-во НПК «Гефест», 1992.– 456 с.
17. *Антонченко В. Я.* Физика водных растворов и гомеопатия / В. Я Антонченко, В. В. Ильин, Т. Д. Попова // Укр. гомеопат журн.– 1992.– № 1.– С. 13–18.
18. *Гаркави Л. Х.* Адаптационные реакции и резистентность организма / Гаркави Л. Х., Квакина Е. Б., Уколова М. А.– Ростов- н/Д : Изд. третье доп. Рост, ун-т, 1990.– 223 с.
19. *Симонов П. В.* Три фазы в реакциях организма на возрастающий стимул / П. В. Симонов.– М.: Мир, 1966.– С. 7, 13, 187, 224

И. С. Чекман, А. П. Мощич, В. Я. Антонченко, Л. М. Максимюк, М. И. Загородный

Гомеопатия и наномедицина: общее и особенности

В последние годы в разных отраслях деятельности человека увеличивается объем публикаций по нанотехнологиям, в том числе и в наномедицине. Анализируя данные литературы и собственные исследования, сделаны сопоставления свойств нанопрепаратов и гомеопатических лекарственных средств. Гомеопатия изучает действие на организм веществ минерального, растительного, животного, другого биологического и синтетического происхождения (гомеопатических лекарственных средств) в сверхмалых дозах, величина которых лежит в пределах от частичек грамма до 10^{-9}.....,10^{-120} и более высоких разведений. Наномедицина исследует влияние на организм человека лекарственных средств в наноразмерах (1 нм = 10^{-9} м).

Ключевые слова: гомеопатия, наномедицина, субминимальные дозы, биологические объекты

I. S. Checkman, O. P. Moshchych, V. Ya. Antonchenko, L. M. Maksimyuk, M. I. Zagorodnyy

Homeopathy and nanomedicine: general and particular

In recent years there has been an increase in publications on nanotechnology in different areas including nanomedicine. Analyzing the literature data and own research done comparing properties nanopreparations and homeopathic medicines. Homeopathy studies the effects on the body substances of mineral, plant, animal, or other biological and synthetic origin (homeopathic medicines) in micro-doses, the value of which ranges from parts of gram to 10^{-9} .....,10^{-120} and even higher dilutions. Nanomedicine explores the impact of the drug in the nanoscale (1 nm = 10^{-9} m).

Key words: homeopathy, nanomedicine, supersmall doses, biological objects

Надійшла: 22.08.2012 р.

Контактна особа: Чекман І. С., доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології та клінічної фармакології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, просп. Перемоги, 34, м. Київ. Тел.: +38 0 44 454 49 24.

УДК 616. 831-005.1: 612.13 : 547.792.1 :547. 856.1

Л. І. Маринич[1], Г. І. Степанюк[1], О. С. Пашинська[1], С. І. Коваленко[2], О. Ю. Воскобойнік[2]

Вплив похідних 6-заміщених 3R-2H- [1,2,4] тріазино [2,3-c]хіназолін-2-онів (сполук МТ-279 ТА МТ-282) на центральну та церебральну гемодинаміку інтактних тварин та за умов моделювання гострого порушення мозкового кровотоку

[1]Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова
[2]Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: похідні 6-заміщених 3R-2H- [1,2,4]тріазино [2,3-c]хіназолін-2-онів, вінпоцетин, об'ємна швидкість мозкового кровотоку

Велике медико-соціальне значення проблеми судинних захворювань головного мозку зумовлене їхньою широкою поширеністю, важкістю перебігу, а також високими показниками інвалідизації та смертності населення [6, 9]. Верхівкою «айсберга» вказаних захворювань є гострі порушення мозкового кровообігу (ГПМК). Серед різних видів ГПМК лідируюче місце посідає ішемічний інсульт, смертність від якого протягом першої доби сягає 25 %. До кінця 3-го тижня (гостра стадія ГПМК) смертність сягає 32–42 % [7, 13]. Висока частота ГПМК у цілому, та, зокрема, ішемічного інсульту, ступінь його важкості, а також висока летальність обумовлюють необхідність пошуку засобів захисту головного мозку від ішемічного та реперфузійного пошкодження, зменшення розмірів інфаркту мозку та вираженості неврологічних порушень [9].

Сьогодні на фармацевтичному ринку існує арсенал різних за своїм механізмом та мішенню дії церебропротекторів, однак вони не завжди задовольняють потреби клініцистів через недостатню ефективність та наявність побічних ефектів, що обмежують їхнє застосування [6, 11]. Це спонукає до пошуку нових речовин із захисною дією на ішемізований мозок, придатних для створення на їхній основі нових лікарських засобів.

У попередніх дослідженнях нами було встановлено, що похідні 6-заміщених 3R-2H-[1,2,4]тріазино [2,3-c] хіназолін-2-онів (сполуки МТ-279 та МТ-282) мають виразний церебропротекторний ефект на моделі двобічної оклюзії загальних сонних артерій у ненаркотизованих щурів, підтверджений вірогідним зниженням показника летальності тварин з ГПМК у критичний період експерименту та відстроченням їхньої загибелі [3]. Оскільки при ГПМК має місце прогресуюче зниження мозкового кровотоку з наступним розвитком гіпоксичних та ішемічних процесів, кінцевою точкою яких є розвиток некрозу нейронів, представляло інтерес дослідити вплив сполук МТ-279 та МТ-282 на кровопостачання головного мозку та центральну гемодинаміку.

Мета дослідження – охарактеризувати вплив сполук МТ-279 та МТ-282 на церебральну та центральну гемодинаміку в інтактних тварин та за умов моделювання ГПМК, як можливого механізму їхньої нейропротекторної дії.

Матеріали та методи. Першу серію досліджень проведено на 20 білих наркотизованих (пропофол 60 мг/кг, внутрішньочеревинно) щурах лінії Вістар обох статей, масою 180–200 г, розподілених на 4 групи по 5 тварин у кожній. Сполуки МТ-279 та МТ-282, узяті в оптимальних терапевтичних за попеpед-

© Колектив авторів, 2013

нім дослідженням дозах, вводили внутрішньовенно (в/в) одноразово окремо двом групам тварин після визначення фонових показників об'ємної швидкості мозкового кровотоку (ОШМК). 3-я група тварин отримувала препарат порівняння вінпоцетин у дозі 5 мг/кг, що за даними літератури [5] викликає достатньо виразний стимулюючий ефект на кровопостачання головного мозку. 4-та група тварин – контроль, отримувала аналогічним шляхом еквівалентну кількість 0,9 % розчину NaCl (2 мл/кг). ОШМК вимірювали за допомогою флоуметра Transonik Animal Research Floowmeters T-106 Series (USA). Периваскулярний датчик Transonik Flowprobe # 1RB1854, накладений на загальну сонну артерію, фіксував швидкість кровотоку в мл/хв. Артеріальний тиск (АТ) у стегновій артерії щурів визначали за допомогою датчика Pressure Transducer. Результати моніторування фіксували на жорсткому диску комп'ютера у вигляді графічних даних. Спостереження вели протягом 60 хв з інтервалом 5–10 хв.

Другу серію досліджень проведено за умов ГПМК, що моделювали в наркотизованих (пропофол 60 мг/кг, внутрішньочеревинно) 15 котів-самців масою 2,8–4,0 кг, розподілених на 3 групи по 5 особин у кожній. У тварин усіх груп після визначення фонових показників ОШМК та рівня АТ проводили перев'язку загальної сонної артерії справа до місця її біфуркації. Лікування проводили триразовим в/в уведенням окремо сполуки МТ-279 (10 мг/кг) та вінпоцетину (5 мг/кг): перше введення через 40 хв після моделювання патологічного стану (у межах терапевтичного вікна), а інші два – з інтервалом у 8 год. Третя (контрольна) група котів отримувала еквівалентну кількість 0,9 % розчину NaCl у такі самі часові проміжки. Показники ОШМК та рівнів АТ визначали так само, як у першій серії дослідів. Ступінь насичення киснем крові (SaO_2) вимірювали пульсоксиметром UTASOXI Pulse Oximeter 200. Рівень центрального венозного тиску (ЦВТ) визначали в магістральній веніфлеботонометром. Ефективність МТ-279 та вінпоцетину оцінювали за динамікою (у %) показників ОШМК, SaO_2, АТ та ЦВТ відносно початкового рівня, прийнятого за 100 %, а також порівняно з контрольною групою тварин. Вплив досліджуваних речовин на показники гемодинаміки фіксували через 24 год після першого введення речовин. Статистичну обробку цифрових даних проводили за методом варіаційної статистики з визначенням t-критерію Стьюдента, зміни вважали вірогідними при $P \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. У першій серії дослідів встановлено, що в щурів контрольної групи після в/в введення 0,9 % розчину NaCl (з 5 хв спостереження) (рис. 1) відмічали прогресуюче зниження показника ОШМК, який наприкінці досліду зменшився в середньому на 26 % відносно початкового рівня. Зазначена динаміка показника ОШМК на тлі введення 0,9 % розчину NaCl узгоджується з даними літератури [2].

Уведення щурам сполук МТ-279 та МТ-282 подібно до вінпоцетину призвело до зростання показника ОШМК з 5 хв спостереження як відносно початкового рівня, так і відносно тварин контрольної групи (рис. 1). При цьому максимальний приріст ОШМК під впливом досліджуваних речовин мав місце на 25–30 хв досліду і становив відповідно 69,71 %, 18,07 % та 53,16 % відносно

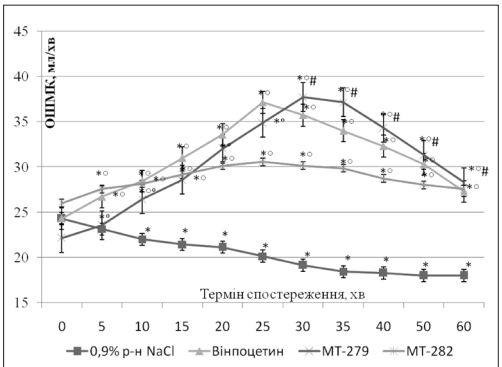


Рис. 1. Динаміка об'ємної швидкості мозкового кровотоку на тлі в/в введення сполук МТ-279 (10 мг/кг), МТ-282 (10 мг/кг) та вінпоцетину (5 мг/кг) у наркотизованих щурів (M ± m, n = 5).

*Примітка. Тут і на рис. 2: *P < 0,05 відносно початкового показника; °P < 0,05 відносно 0,9 % NaCl (2 мл/кг в/в); #P < 0,05 відносно вінпоцетину (5 мг/кг в/в).*

початкового рівня (P < 0,05). У подальшому рівень ОШМК під впливом сполук МТ-279, МТ-282 і вінпоцетину зменшувався, але на 60 хв спостереження залишався вищим від початкового. Це може бути свідченням того, що стимулююча дія зазначених речовин на мозковий кровотік є більше 1 год. За величиною максимального приросту ОШМК найефективнішою виявилася сполука МТ-279, яка вірогідно переважала МТ-282 та вінпоцетин.

Встановлено також, що одноразове в/в введення тваринам 0,9 % розчину NaCl у дозі 2 мл/кг супроводжувалося (з 15 хв спостереження), прогресуючим зниженням АТ відносно початкового рівня (рис. 2). На тлі введення сполуки МТ-279 спостерігалось певне підвищення рівня АТ відносно контрольної групи тварин (максимально на 12 %), хоча відносно фонового показника АТ протягом досліду не змінювався. Сполука МТ-282 майже не впливала на динаміку рівня АТ порівняно з контролем. На відміну від МТ-279 та МТ-282, під впливом вінпоцетину відмічали подальше (максимально на 13 %) зниження АТ (P < 0,05) у всі терміни дослідження відносно контрольного показника.

Порівнюючи показники ОШМК та рівня АТ під впливом сполук МТ-279 та МТ-282, можна зазначити, що стимуляція ними мозкового кровотоку на відміну від вінпоцетину, відбувалася без суттєвих змін АТ. Це дає підставу припустити, що посилення кровопостачання головного мозку на тлі досліджуваних речовин, імовірно, є наслідком їхньої прямої судинорозширювальної дії.

Отже, сполукам МТ-279 та МТ-282, як і вінпоцетину, притаманна стимулююча дія на кровопостачання головного мозку. При цьому більш ефективною є сполука МТ-279, яку було відібрано для подальшого дослідження за умов ГПМК.

Із даних, наведених у таблиці, видно, що в групі контрольних тварин через 24 год після моделювання ГПМК мало місце прогресуюче зниження показників ОШМК, SaO_2, АТ та ЦВТ.

Лікувальне введення котам з ГПМК сполуки МТ-279 так само, як і вінпоцетину, вірогідно протидіяло зниженню

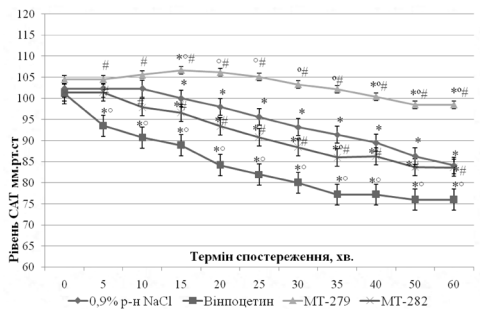


Рис. 2. Динаміка рівня систолічного артеріального тиску на тлі в/в введення сполук МТ-279 (10 мг/кг), МТ-282 (10 мг/кг) та вінпоцетину (5 мг/кг) у наркотизованих щурів (M ± m, n = 5).

показників ОШМК, SaO_2, АТ та ЦВТ як відносно контрольної групи тварин, так і фонових показників. Так, на тлі МТ-279 рівень ОШМК на 24 год спостереження був на 30 % вищим відносно контролю та на 13 % відносно референс-препарату (P < 0,05). Вказана сполука переважала також вінпоцетин за спроможністю нормалізовувати АТ і ЦВТ, співставляючись з ним за нормалізуючим впливом на SaO_2 (таблиця).

Отже, наведені дані вказують на те, що за умов ГПМК сполука МТ-279, як і вінпоцетин, проявляє властивість нормалізувати показники центральної й церебральної гемодинаміки. При цьому за ефективністю протидіяти зниженню показників ОШМК, АТ та ЦВТ сполука МТ-279 вірогідно переважає препарат порівняння, співставляючись з ним за впливом на насиченість крові киснем.

Таким чином, оцінюючи результати проведених досліджень, можна зазначити, що похідним 6-заміщених 3R-2H- [1,2,4]тріазино [2,3-c]хіназолін-2-онів – сполукам МТ-279 та МТ-282, притаманна властивість посилювати кровопостачання головного мозку в інтактних тварин, не впливаючи при цьому на рівень АТ. Сполука МТ-279, за стимулюючим впливом на рівень ОШМК вірогідно переважає вінпоцетин (5 мг/кг в/в) та, як і вінпоцетин, за умов ГПМК сприяє нормалізації показників центральної та церебральної гемодинаміки. Стимулюючий вплив МТ-279 на кровопостачання головного мозку, імовірно, є результатом її прямої вазодилатуючої дії, що

Таблиця

Показники гемодинаміки (% змін до фону) у котів з моделлю гострого порушення мозкового кровообігу на тлі введення сполуки МТ-279 (10 мг/кг, в/в) та вінпоцетину (5 мг/кг, в/в) (n = 5)

Умови досліду	ОШМК	SaO_2	АТ	ЦВТ
ГПМК+ 0,9 % розчин NaCl	-49,33 ± 2,65°	-7,50 ±0,54°	-27,32 ± 2,14°	-45,91 ± 1,60°
ГПМК+ МТ-279	-18,95 ± 1,23#*	-1,21 ± 0,64#	-4,78 ± 0,64#*	-17,79 ± 0,85#*
ГПМК+ Вінпоцетин	-31,99 ± 1,23#	-1,41 ± 0,42#	-10,85 ± 1,20#	-25,50 ± 1,71#*

*Примітки. °P < 0,05 відносно фонового показника; #P < 0,05 відносно контролю; *P < 0,05 відносно вінпоцетину.*

може бути основою її церебропротекторного ефекту.

Ще одним механізмом захисної дії МТ-279 на ішемізований мозок може бути її спроможність збільшувати відтік Ca^{2+} від ішемізованої півкулі [4], оскільки, як відомо, внутрішньоклітинне накопичення Ca^{2+} є ключовим механізмом деструктивних процесів, що лежать в основі некротичної смерті нейронів [8, 12, 14].

Висновки

1. Одноразове ввведення інтактним щурам похідних 6-заміщених 3R-2H- [1,2,4]тріазино [2,3-c] хіназолін-2-онів – сполук МТ-279 та МТ-282 (10 мг/кг, в/в) так само, як і вінпоцетину (5 мг/кг), супроводжується посиленням кровопостачання головного мозку тварин. У більшому ступені така властивість притаманна МТ-279, що за своєю ефективністю переважала референс-препарат у 1,3 разу.
2. При лікувальному триразовому внутрішньовенному ввведенні котам з ГПМК сполуки МТ-279 має місце зростання ОШМК та нормалізація показників АТ, ЦВТ. За ступенем впливу на ці показники сполука МТ-279 переважає референс-препарат, але співставна з ним за впливом на насиченість крові киснем.

1. *Гусев Е. И.* Ишемия головного мозга / Е. И. Гусев, В. И. Скворцова.– М.: Медицина, 2001.– 328 с.
2. *Иващев М. Н.* Влияние кавинтона на системную и региональную гемодинамику у бодрствующих и наркотизированных крыс / М. Н. Иващев, Е. Р. Мартынова, О. С. Медведев // Фармакол. и токсикол.– 1989.– № 1.– С. 59–62.
3. Скринінг церебропротекторної дії серед нових похідних 1,2,4 тріазинохіназоліну в умовах гострої експериментальної ішемії головного мозку / Г. І. Степанюк, Л. І. Маринич, Г. Г. Берест, С. І. Коваленко // Фармакологія та лікарська токсикологія.– 2010.– № 1–2 (14–15).– С. 75–78.
4. Вплив похідного 6-заміщених 3R-2H- [1,2,4]тріазино [2,3-c]хіназолін-2-онів (сполуки МТ-279) на стан кислотно-лужної рівноваги та рівень Ca^{2+} у крові гербел з моделлю гострого порушення мозкового кровообігу / Г. І. Степанюк, Л. І. Маринич, О. А. Ходаківський [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія.– 2012.– № 1 (26).– С. 19–23.
5. Терапевтична ефективність вінборону при гострому порушенні мозкового кровообігу в експерименті / Г. І. Степанюк, О. В. Дякова, Н. І. Волощук [та ін.] // Ліки.– 2002.– № 5–6.– С. 59–62.
6. *Черний В. И.* Острая церебральная недостаточность / Черний В. И., Ельский В. Н., Колесников А. Н.– Донецк: ООО «ИПП Промінь», 2007.– 514 с.
7. *Adibhatla R. J.* Cytidine 5-diphosphocholine (CDP-choline) in stroke and other CNS disorders / R. J. Adibhatla, J. R. Hatcher // J. Neuroschem. Res.– 2005.– V. 30.– P. 15–23.
8. *Akaike N.* Distribution of different types of calcium channels in the brain structures / N. Akaike // Neurophysiology.– 1997.– V. 29, № 4–5.– P. 297–306.
9. *Lopez M. F.* Discrimination of ischemic and hemorrhagic strokes using a multiplexed, mass spectrometry-based assay for serum apolipoproteins coupled to multi-marker ROC algorithm / M. F. Lopez, D. A. Sarracino, A. Prakashetal // Proteomics. Clin. Appl.– 2012.– V. 6, № 3–4.– P. 190–200.
10. *Durucan A.* Acute ischemic stroke: Overview of major experimental rodent models, pathophysiology, and therapy of focal cerebral ischemia / A. Durucan, T. Tatlisumak // Pharm. Biochem. And Behav.– 2007.– V. 87.– P. 179–197.
11. *Peter A.* Guide lines for Management of Ischaemic Stroke and Transient Ischaemic Attack. 2008 / A. Peter // The European Stroke Organisation (ESO) Executive Committee and the ESO Writing Committee // URL: http://www.eso-stroke.org/recommendations

12. *Resnik L. N.* Cellular calcium and magnesium metabolism in the pathophysiology and treatment of hypertension and related metabolic disorders / L. N. Resnik // An. J. Med.– 1992.– V. 93.– № 2.– P. 11–20.
13. *Torp R.* Differential expession of the glial glutamate transporters in the rat brain / R. Torp // Eur. J. Neurosci.– 2000.– V. 6, № 1.– P. 936–942.
14. Wingspan experience in the treatment of symptomatic intracranial atherosclerotic disease after antitrombotic failure / E. A. Samaniego, F. Tari-Capone, L. M. Limaetal // J. Neurointerv. Surg.– 2012.– Apr. 27 [Epub. ahead. of print.].

Л. И. Маринич, Г. И. Степанюк, О. С. Пашинская, С. И. Коваленко, О. Ю. Воскобойник

Влияние производных 6-замещенных 3R-2H- [1,2,4] триазино [2,3-c] хиназолин-2-онов (соединений МТ-279 и МТ-282) на центральную и церебральную гемодинамику интактных животных и в условиях моделирования острого нарушения мозгового кровотока

В опытах на интактных наркотизированных крысах установлено, что производные 6-замещенных 3R-2H- [1,2,4] триазино [2,3-c] хиназолин-2-онов - соединения МТ-279 и МТ-282 (10 мг / кг внутривенно) так же, как и винпоцетин (5 мг/кг внутривенно) увеличивают объемную скорость мозгового кровотока, практически не влияя на уровень артериального давления. Лечебное введение (трижды в сутки) котам с острым нарушением мозгового кровообращения соединения МТ-279 (10 мг/кг внутривенно), как и винпоцетина (5 мг/кг внутривенно), вызывало увеличение обьемной скорости мозгового кровообращения, нормализацию артериального и центрального венозного давления. По этим показателям соединение МТ-279 превосходило референс-препарат, сопоставляясь с ним по влиянию на насыщение крови кислородом.

Ключевые слова: производные 6-замещенных 3R-2H- [1,2,4] триазино [2,3-c] хиназолин-2-онов, винпоцетин, объемная скорость мозкового кровотока

L. I. Marynych, H. I. Stepaniuk, O. S. Pashyns'ka, S. I. Kovalenko, O. Y. Voskoboynik

The effect of 6-substituted 3R-2H- [1,2,4] triazino [2,3-c] quinazolin-2-ons (compound MT-279 and MT-282) on the central and cerebral hemodynamics of intact animals and under the acute ischemic stroke modeling

It was found out in the experiments on intact anesthetized rats that 6-substituted derivatives of 3R-2H-[1,2,4]triazin [2,3-c] quinazolin-2-ons (compounds MT-279 and MT-282 (10 mg / kg intravenously) as well as Vinpocetine (5 mg / kg intravenously) increase the volume rate of cerebral blood flow, without affecting blood pressure. The therapeutic use of the compound MT-279 (three times a day) on cats that suffered from acute ischemic stroke, caused the growth of volume rate of cerebral blood flow, normalization of arterial and central venous pressure. This compound MT-279 prevailed the reference drug being close in the effect on blood oxygen saturation.

Key words: 6-substituted derivatives of 3R-2H- [1,2,4] triazino [2,3-c] quinazolin-2-ons, vinpocetine, the volume rate of cerebral blood flow

Надійшла: 01.04.2013 р.

Контактна особа: Степанюк Г. І., доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018. Тел.: + 38 0 432 61 14 00.

УДК 612.81 + 615.214.2

Ю. В. Сидорова, О. Г. Образцова, О. М. Талалаєнко

Розробка раціональних підходів до терапії тривожного та депресивного синдромів при експериментальному хронічному запаленні

Донецький національний медичний університет імені М. Горького

Ключові слова: запалення, депресивність, тривожність, серотонін, НМДА рецептори, потенціалозалежні Ca^{2+} канали, інгібітори ЦОГ, антидепресанти, кетамін, верапаміл

Натепер досить поширені захворювання, основою яких є інфекційне або асептичне запалення. Ушкодження тканин, що викликає запалення, призводить до активації імунної системи організму. У першу чергу включаються регуляторні Т-лімфоцити – Т-хелпери 1 типу (Тх1), які підвищують активність макрофагів. Останні продукують прозапальні цитокіни – інтерферон-γ, фактор некрозу пухлин α (ФНП α), інтерлейкіни – Il-1, Il-2, Il-6 та ін. [1–3]. Показано, що запалення в периферичних тканинах гризунів викликає посилення експресії прозапальних цитокінів у мозку, а підвищення рівня Il-1 у мозку посилює продукцію прозапальних цитокінів у периферичних тканинах [17, 20]. Підвищення рівня цитокінів у мозку викликає порушення діяльності нейронних ансамблів різних структур, насамперед, лімбічних. Встановлено, що рецептори інтерлейкінів (Il-1RI) у мозку знаходяться в мембранах дендритних шипіків і ко-локалізовані з NR2 субодиницями НМДА рецепторів. При впливі на культивовані нейрони або зрізи гіпокампа IL-1β спостерігали посилення фосфорилювання залишків тирозину в структурі NR1 і NR2 субодиниць і збільшення трансмембранних струмів при активації НМДА рецепторів і потенціалзалежних кальцієвих каналів [8, 21]. Саме це може бути основою порушень когнітивних, мотиваційних та емоційних процесів.

У 45 % хворих на гепатит С, яких лікують цитокіном інтерфероном-α, розвивається депресивний синдром, пов'язаний з посиленням експресії ФНП α і Il-6 [5, 17]. Установлено також, що ендотоксин грамнегативних бактерій – ліпополісахарид, що є потужним стимулятором імунної системи організму, за системного введення гризунам пригнічує дослідницьку активність, соціальні взаємодії, знижує споживання їжі та збільшує тривалість сну, тобто сприяє розвитку депресивного фенотипу [1]. Уведення людині ліпополісахариду в дозі 2–4 нг/кг викликає підвищення температури, слабкість, головний біль, міалгії; у більш низьких дозах (0,8 нг/кг) ендотоксин не викликає грипоподібних симптомів, але викликає депресивні симптоми [7, 8, 20, 21].

Психоемоційним порушенням за запальних захворювань почали приділяти увагу лише нині. Принципи лікування тривожного та депресивного синдромів за хронічного запалення не досконалі. *Мета дослідження* – розробка ймовірних напрямів лікування тривожного та депресивного синдромів, що виникають за умов моделювання хронічного запалення.

Матеріали та методи. Дослідження виконано на білих безпородних щурах масою 150–250 г, яких утримували в клітках по 4–6 особин за умов 12-годинного циклу світло/темрява (включення світла о 7.00) з вільним доступом до води та їжі. Дослідження проводили відповідно до вимог комісії з біоетики Донецького національного медичного університету імені М. Горького. Хронічне асептичне запалення в щурів викликали за методом, запропонованим [1, 2]. Тваринам під шкіру спини вводили 0,5 мл 9 % оцтової кислоти; відразу після цього щурам внутрішньочеревинно вводили декстран у дозі 200 мг/кг. Через 2–3 доби на місці введення оцтової кислоти з'являвся запальний інфільт-

© Колектив авторів, 2013

рат. Про інтенсивність запального процесу судили за збільшенням лейкоцитів у крові, активацією макрофагів, за розміром запального інфільтрату і підвищенням у крові рівня С-реактивного білка. Кров для дослідження брали з хвостової вени. Проведення поведінкових досліджень розпочинали з 5–7 доби після введення щурам флогогенів.

У поведінкових дослідженнях рівень депресивності тварин визначали за загальноприйнятою методикою [12, 16]. Щурів поміщали в акваріум заввишки 50 см, заповнений водою на 2/3 висоти; температура води 22–25 °С. Реєстрували час іммобілізації щурів (пасивне плавання без рухів кінцівками, причому передні лапи були притиснуті до грудей, а задні витягнуті) протягом сеансу вимушеного плавання тривалістю 300 с. Рівень тривожності щурів визначали в підведеному хрестоподібному лабіринті [15]. Тварин поміщали на центральну площадку перед відкритим рукавом лабіринту. Протягом 5 хв реєстрували час перебування тварин у відкритих рукавах у с, кількість виходів у відкриті рукава, кількість визирань з відкритих просторів. Здатність до навчання та збереження слідів пам'яті реєстрували за допомогою методу умовної реакції активного уникнення (УРАУ) [13, 10]. Умовним подразником був дзвінок, який включався за 5 с до безумовного електробольового подразника лап (50 Гц, 1 мА). Уникання здійснювалося стрибком щурів на стрижень, з'єднаний з вимикачем напруги, що подається на електрифіковану підлогу установки. Визначали кількість сполучень умовного і безумовного подразників, необхідних для вироблення умовного рефлексу для досягнення стабільного мінімального латентного часу рефлексу.

Для з'ясування нейрохімічної природи спостережуваних поведінкових і нейрональних ефектів використовували такі речовини-аналізатори: селективний інгібітор ЦОГ-2 німесулід (Medicom, Болгарія), неселективний інгібітор ЦОГ парацетамол (ICN Polipharm, Польща), інгібітор зворотного захоплення норадреналіну та серотоніну іміпрамін (EGYS, Угорщина), селективний інгібітор зворотного захоплення серотоніну флуоксетин (Україна), неконкурентний блокатор НМДА рецепторів кетамін (Біолік, Україна), конкурентний блокатор АМРА рецепторів 6,7-динітрохіноксалін-2,3-діон (RBI, США), неконкурентний блокатор ГАМК рецепторів пікротоксин (Merk, ФРН), ко-агоніст НМДА рецепторів гліцин (Олайнфарм, Литва), блокатор потенціалзалежних Ca^{2+} каналів L-типу верапаміл (Orion Pharma Int., Фінляндія), інгібітор тирозинових протеїнфосфатаз натрію ортованадат (Уралхімреактів, РФ).

Селективні та неселективні інгібітори ЦОГ вводили наступної доби після застосування флогогенів. Антидепресанти в дозі 20 мг/кг уводили 1 раз на добу протягом 14 діб, за цих умов флогогени використовували на 8 добу після початку введення іміпраміну та флуоксетину. Кетамін (50 мг/кг) і верапаміл (20 мг/кг) уводили протягом 5 діб через 48 год після введення оцтової кислоти та декстрану. Натрію ортованадат (15 мг/кг) уводили двічі на 6 і 7 добу після використання флогогенів.

Результати дослідження обробляли загальноприйнятими методами варіаційної статистики за допомогою ліцензійної програми «Medstat». Для кожної серії визначали середнє та стандартну помилку середнього. Достовірність відмінностей порівнюваних величин оцінювали за допомогою парного критерію t-Стьюдента.

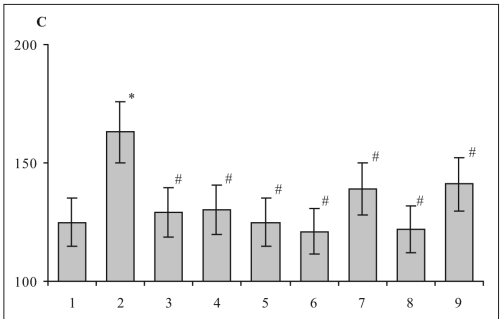
Результати та їх обговорення. Асептичне запалення після введення оцтової кислоти та декстрану проявлялося появою запального інфільтрату, лейкоцитозом, активацією макрофагів і підвищенням рівня в крові С-реактивного білка. На 5–7 добу розвитку хронічного запалення розпочинали дослідження змін показників поведінки та вплив на ці показники речовин-аналізаторів.

На тлі хронічного асептичного запалення виявлено зростання рівня депресивності тварин, що проявлялося збільшенням часу іммобілізації в тесті форсованого плавання (рис. 1) до 158,3 ± 6,3 с проти 125,3 ± 6,3 с у контролі ($P = 0,0012$, парний t тест). Селективний інгібітор ЦОГ-2 німесулід (уводили внутрішньо в дозі 5 мг/кг протягом 7 днів) скорочував час іммобілізації (рис. 1) до 128,5 ± 3,4 с проти 158,3 ± 6,3 с за умов хронічного запалення

(Р = 0,0002). До 127,2 ± 3,8 с зменшував час іммобілізації щурів за умов хронічного запалення неселективний інгібітор циклооксигенази парацетамол (рис. 1). Антидепресанти – іміпрамін (в/ч, 20 мг/кг) і флуоксетин (внутрішньо в дозі 20 мг/кг) зменшували час іммобілізації щурів у тесті форсованого плавання до 120,0 ± 4,5 с і 119,4 ± 5,0 с відповідно (рис. 1). Неконкурентний блокатор НМДА глутаматних рецепторів кетамін, що вводився внутрішньочеревинно 2 рази на добу в дозі 50 мг / кг протягом 5 днів, мав подібну дію, але його активність була меншою порівняно з антидепресантами – час іммобілізації зменшувався до 138,9 ± 3,2 с (рис. 1). Інгібітор тирозинових фосфопротеїнфосфатаз натрію ортованандат (уводили в дозі 15 мг/кг внутрішньоочеревинно за добу до тестування) діяв подібно антидепресантам, хоча і слабше, а блокатор потенціалзалежних кальцієвих каналів L-типу верапаміл (в/ч у дозі 20 мг/кг) суттєво зменшував час іммобілізації щурів у тесті форсованого плавання до 122,1 ± 7,2 с проти 158,3 ± 6,3 с за умов запалення (Р = 0,00013) (рис. 1).

За умов хронічного запалення спостерігали збільшення тривожності тварин (рис. 2). Про це свідчить зменшення часу перебування щурів у відкритих рукавах піднесеного хрестоподібного лабіринту (ПХЛ) від 136,3 ± 25,2 с у контролі до 50,6 ± 3,7 с (Р = 0,0001). Подібним чином зменшувалася кількість переходів із закритих у відкриті рукава ПХЛ від 5,3 ± 0,6 у контролі до 2,9 ± 0,5 (Р = 0,0001). Усі досліджувані речовини, крім верапамілу та іміпраміну, не викликали вірогідних змін часу перебування щурів у відкритих рукавах ПХЛ (рис. 2). Верапаміл збільшував знижений при хронічному запаленні час перебування щурів у відкритих рукавах ПКЛ від 50,6 ± 3,7 с до 122,1 ± 5,4 с (Р = 0,0001), а іміпрамін – частково від 50,6 ± 3, 7 с до 73,7 ± 4,1 с (Р = 0,001). Усі досліджувані речовини, крім кетаміну, статистично достовірно збільшували кількість переходів у рукавах ПХЛ порівняно з хронічним запаленням.

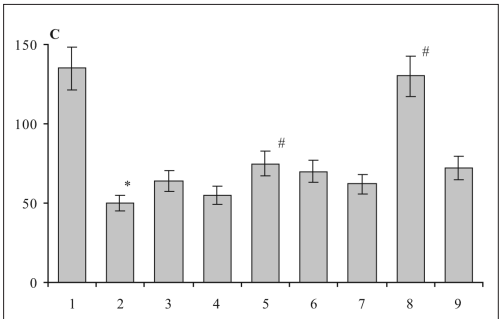
Хронічне запалення призводить до порушення процесів формування та відтворення навичок навчання. За цих умов збільшується латентний час відтворення УРАУ від 1,75 ± 0,25 с у контролі до 5,00 ± 0,27 с (Р =0,0003) і зростає кількість сполучень умовного та безумовного подразників, необхідних для вироблення стійкої УРАУ з мінімальним латентним періодом, від 7,6 ± 0,4 у контролі до 10,3 ± 0,4 за умов хронічного запалення (Р = 0,047). Усі досліджувані речовини-аналізатори



1 – контроль, 2 – хронічне запалення, 3 – хронічне запалення + німесулід, 4 – хронічне запалення + парацетамол, 5 – хронічне запалення + іміпрамін, 6 – хронічне запалення + флуоксетин, 7 – хронічне запалення + кетамін, 8 – хронічне запалення + верапаміл, 9 – хронічне запалення + натрію ортованадат

Рис. 1. Тривалість іммобілізації щурів у тесті форсованого плавання за умов хронічного запалення та впливу речовин-аналізаторів, с.

*Примітка. * Р < 0,05 відносно контролю; # Р < 0,05 відносно показника при запаленні (n = 9).*



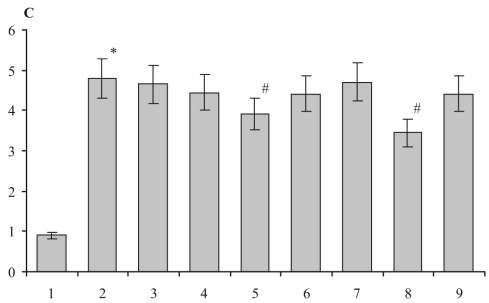
1 – контроль, 2 – хронічне запалення, 3 – хронічне запалення + німесулід, 4 – хронічне запалення + парацетамол, 5 – хронічне запалення + іміпрамін, 6 – хронічне запалення + флуоксетин, 7 – хронічне запалення + кетамін, 8 – хронічне запалення + верапаміл, 9 – хронічне запалення + натрію ортованадат

Рис. 2. Тривалість перебування щурів у відкритих рукавах ПХЛ за умов хронічного запалення та впливу речовин-аналізаторів, с.

*Примітка. * Р < 0,05 відносно контролю; # Р < 0,05 відносно показника при запаленні (n = 9).*

не викликали стастистично значущих змін величини латентного періоду УРАУ на тлі хронічного запалення (рис. 3), крім іміпраміну і верапамілу. Останні знижували латентний період УРАУ від 5,00 ± 0,27 с до 4,13 ± 0,2 і 3,95 ± 0,2 с відповідно (Р = 0,045). Усі досліджувані речовини на тлі запалення звертали збільшення кількості поєднань подразників, необхідних для вироблення стійкої УРАУ ~ на 2.

Природа підвищення рівня депресивності (збільшення часу іммобілізації) у щурів з хронічним запаленням не зрозуміла. Аналізуючи величини цього показника (рис. 1), можна думати, що рівень депресивності визначається дефіцитом серотоніну і/або норадреналіну. З іншого боку, очевидно, що рівень депресивності тварин позитивно пов'язаний з рівнем функціональної активності НМДА рецепторів у лімбічних структурах мозку, оскільки неконкурентний блокатор цих рецепторів кетамін зменшує час іммобілізації (рис. 1). Відомо також, що антидепресантноподібна активність антагоністів НМДА не пов'язана з обміном моноамінів [1]. З одного боку, інгібітори ЦОГ і антидепресанти приблизно однаково протидіють збільшенню часу іммобілізації в тесті форсованого плавання, а блокатор НМДА рецепторів кетамін поступається їм за активністю (рис. 1). З іншого боку, обидві ці групи фармакологічних речовин перешкоджають викликаному продуктами запалення (інтерлейкіни, простагландини) посиленню фосфорилювання і підвищенню функціональної активності нейрональних НМДА рецепторів [4, 22]. Виявилося також, що блокатор кальцієвих каналів L-типу верапаміл виявляє антидепресантно-подібну активність при хронічному запаленні (рис. 1). Відомо, що підвищення активності глюкокортикоїдних рецепторів у мозку призводить до розвитку тривожного й депресивного синдромів, які частково послаблюються блокаторами кальцієвих каналів [10]. Більш того, встановлено, що рецептори глюкокортикоїдів посилюють експресію та підвищують функціональну активність високопорогових кальцієвих каналів [11, 13]. Зростання рівня тривожності щурів з хронічним запаленням, про що свідчить зменшення часу перебування тварин у відкритих рукавах ПХЛ, має іншу нейрохімічну природу. На це вказує те, що всі досліджувані речовини, крім антидепресантів і верапамілу, не перешкоджали розвитку цього поведінкового ефекту (рис. 2). Очевидно, що анксіогенний вплив хронічного запалення не пов'язаний з підвищенням функціональної активності НМДА рецепторів. Те, що іміпрамін і більшою мірою флуоксетин звертали підвищення рівня тривожності щурів з хронічним запаленням, наводить на думку про втягнення в розглянутий поведінковий ефект серотонінергічної системи мозку.



1 – контроль, 2 – хронічне запалення, 3 – хронічне запалення + німесулід, 4 – хронічне запалення + парацетамол, 5 – хронічне запалення + іміпрамін, 6 – хронічне запалення + флуоксетин, 7 – хронічне запалення + кетамін, 8 – хронічне запалення + верапаміл та 9 – хронічне запалення + натрію ортованадат

Рис. 3. Латентний час відтворення навику УРАУ за умов хронічного запалення та впливу речовин-аналізаторів, с.

*Примітка. * Р < 0,05 відносно контролю; # Р < 0,05 відносно показника при запаленні (n = 9).*

Вплив серотонінергічних нейронів на емоціогенні лімбічні структури мозку опосередковано активацією, головним чином, 5-ГТ 1А і 5-ГТ 2, у меншому ступені 5-ГТ 3 рецепторів. Серотонінергічні впливи на лімбічні структури мозку, опосередковані активацією 5-ГТ 1А рецепторів, за звичайних умов анксіолітичні [19]. При хронічному запаленні відбувається посилення зворотного захоплення серотоніну і, отже, зниження концентрації моноамінів у позаклітинних просторах лімбічних струк-

тур мозку і ослаблення серотонінергічних впливів, яке призводить до зростання функціональної активності НМДА рецепторів за рахунок накопичення кінуренінового метаболіту – хінолінової кислоти [18]. Останній механізм є провідним для розвитку депресивного синдрому, але тільки допоміжним у генезі тривожного синдрому, оскільки кетамін не чинить на нього достовірного впливу (рис. 2). Анксіолітична активність блокаторів потенціалзалежних Ca^{2+} каналів, у тому числі й верапамілу (рис. 2), є встановленим фактом [9].

Важливо, що всі досліджувані речовини, крім верапамілу та меншою мірою іміпраміну, не чинили достовірного впливу на збільшений за умов запалення латентний час УРАУ (рис. 3). Іміпрамін сприяє накопиченню в позаклітинних просторах мозку не тільки серотоніну, але й норадреналіну, тобто посилює вплив норадренергічних нейронів блакитної плями на лімбічні структури мозку. У свою чергу, активація блакитної плями сприяє підтримці уваги, більш легкому відтворенню слідів пам'яті [3, 6]. Вплив блокаторів потенціалзалежних Ca^{2+} каналів, до яких відноситься верапаміл, пов'язаний з обмеженням надходження Ca^{2+} у цитоплазму дендритних шипіків і ослабленням розвитку НМДА-залежних форм синаптичної пластичності (тривалі потенціація та депресія), які є клітинною основою формування та відтворення слідів пам'яті та навичок навчання.

Висновок

Отримані дані вказують на те, що блокатори потенціалзалежних Ca^{2+} каналів найефективніші щодо одночасного зменшення проявів тривожного й депресивного синдромів, індукованих хронічним запаленням.

1. *Комиссаров И. В.* Роль моноаминергического компонента в антидепрессивном эффекте неконкурентных антагонистов N-метил-D-аспартата / И. В. Комиссаров, Ю. В. Кидин // Журнал АМН Украины.– 2005.– Т. 11, № 3.– С. 583–591.
2. *Тринус Ф. П.* Нестероидные противовоспалительные средства / Ф. П. Тринус, Н. А. Мохорт, Б. М. Клебанов.– К.: Здоров'я, 1975.– 240 с.
3. Activation of locus coeruleus enhances the responses of olfactory bulb mitral cells to weak olfactory nerve input / M. Jiang, E. R. Griff, M. Ennis [et al.] // The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience.– 1996.– V. 16, № 19.– P. 6319–6329.
4. *Akaneya Y.* The remarkable mechanism of prostaglandin E2 on synaptic plasticity / Y. Akaneya // Gene regulation and systems biology.– 2008.– V. 1.– P. 83–89.
5. *Asnis G. M.* Interferon-induced depression in chronic hepatitis C: a review of its prevalence, risk factors, biology, and treatment approaches / G. M. Asnis, R. De La Garza 2nd // Journal of clinical gastroenterology.– 2006.– V. 40, № 4.– P. 322–335.
6. Brain alpha 1-adrenergic neurotransmission is necessary for behavioral activation to environmental change in mice / E. A. Stone, Y. Zhang, H. Rosengarten [et al.] // Neuroscience.– 1999.– V. 94, № 4.– P. 1245–1252.
7. Cytokine-associated emotional and cognitive disturbances in humans / A. Reichenberg, R. Yirmiya, A. Schuld [et al.] // Archives of general psychiatry.– 2001.– V. 58, № 5.– P. 445– 452.
8. Distribution of interleukin-1 receptor complex at the synaptic membrane driven by interleukin-1β and NMDA stimulation / F. Gardoni, M. Boraso, E. Zianni [et al.] // Journal of neuroinflammation.– 2011.– V. 8, № 1.– P. 14.
9. Effect of calcium on anxiolytic activity of diazepam and verapamil in rats / S. B. Hiremath, S. Anand, L. D. Srinivas, M. R. Rashed // Indian journal of pharmacology.– 2010.– V. 42, № 6.– P. 406–408.
10. Glucocorticoid receptor overexpression in forebrain: a mouse model of increased emotional lability / Q. Wei, X. Y. Lu, L. Liu [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.– 2004.– V. 101, № 32.– P. 11851–11856.
11. Glucocorticoids specifically enhance L-type calcium current amplitude and affect calcium channel subunit expression in the mouse hippocampus / P. Chameau, Y. Qin, S. Spijker [et al.] // Journal of neurophysiology.– 2007.– V. 97, № 1.– P. 5–14.
12. IL-1ra alleviates inflammatory hyperalgesia through preventing phosphorylation of NMDA receptor NR-1 subunit in rats / R. X. Zhang, A. Li, B. Liu [et al.] // Pain.– 2008.– V. 135, № 3.– P. 232–239.
13. *Knoll J.* A method for the elaborationof a non-extinguishable conditioned reflex in the rat / J. Knoll, K. Kolemen, B. Knoll // Acta physiologica Academiae Scientiarum Hungaricae.– 1955.– V. 6, № 2.– P. 327–345.
14. NaCl-Kynurenine pathway in major depression: evidence of impaired neuroprotection / A. M. Myint, Y. K. Kim, R. Verkerk [et al.] // Journal of affective disorders.– 2007.– V. 98, № 1–2.– P. 143–151.
15. *Pitenger C.* Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms / C. Pittenger, R. S. Duman // Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology.– 2008.– V. 33, № 1.– P. 88–109.
16. *Porsolt R. D.* «Behavioural despair» in rats and mice: strain differences and the effects of imipramine / R. D. Porsolt, A. Bertin, M. Jalfre // European journal of pharmacology.– 1978.– V. 51, № 3.– P. 291–294.

17. *Reyes T. M.* Interleukin-1 beta differentially affects interleukin-6 and soluble interleukin-6 receptor in the blood and central nervous system of the monkey / T. M. Reyes, C. L. Coe // Journal of neuroimmunology.– 1996.– V. 66, № 1–2.– P. 135–141.
18. *Sah P.* Apical dendritic location of slow afterhyperpolarization current in hippocampal pyramidal neurons: implications for the integration of long-term potentiation / P. Sah, J. M. Bekkers // The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience.– 1996.– V. 16, № 15.– P. 4537–4542.
19. Serotonin-1A autoreceptors are necessary and sufficient for the normal formation of circuits underlying innate anxiety / J. W. Richardson-Jones, C. P. Craig, T. H. Nguyen [et al.] // The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience.– 2011.– V. 31, № 16.– P. 6008–6018.
20. Suffredini A. F. Dose-related inflammatory effects of intravenous endotoxin in humans: evaluation of a new clinical lot of Escherichia coli O:113 endotoxin / A. F. Suffredini, H. D. Hochstein, F. G. McMahon // The Journal of infectious diseases.– 1999.– V. 179, № 5.– P. 1278–1282.
21. The inhibitory effects of interleukin-6 on synaptic plasticity in the rat hippocampus are associated with an inhibition of mitogen-activated protein kinase ERK / V. Tankredi, M. D`Antuono, C. Cafe [et al.] // Journal of neurochemistry.– 2000.– V. 75, № 2.– P. 634–643.
22. *Handly S. L.* Effects of alfa-adrenoceptor agonists and antagonists in a mazeexploration model of fear-motivated behavior / S. L. Handley, S. Mithani // Naunyn-Schmiedeberg's archives of farmacology.– 1984.– V. 327, № 1.– P. 1–5.

Ю. В. Сидорова, О. Г. Образцова, А. Н. Талалаенко

Разработка рациональных подходов к терапии тревожного и депрессивного синдромов при экспериментальном хроническом воспалении

В условиях моделирование хронического асептического воспаления у крыс наблюдали изменение поведения, а именно повышение уровней депрессивности и тревожности, которые проявлялись увеличением времени иммобилизации в тесте форсированного плавания и уменьшением времени пребывания животных в открытых рукавах приподнятого крестообразного лабиринта. Наблюдали также нарушение выработки и воспроизведения условнорефлекторной реакции активного избегания, судя по увеличению латентного времени и количества сочетаний раздражителей, необходимых для получения стабильной рефлекторной реакции. На основании полученных данных авторы предполагают, что возрастание уровня депрессивности в условиях хронического воспаления обусловлено повышением функциональной активности НМДА рецепторов и ослаблением серотонинергических влияний на кортикальные нейроны. Увеличение тревожности животных может быть связано с ослаблением серотонинергических влияний на нейроны лимбических структур и/или повышением функциональной активности высокопороговых Ca^{2+} каналов L-типа в этих нейронах. Нарушение мнестических процессов при воспалении может быть обусловлено метапластическим смещением порога индукции синаптической пластичности в связи с повышением функциональной активности НМДА рецепторов и высокопороговых Ca^{2+} каналов L-типа. Повышенный уровень депрессивности при воспалении ослаблялся ингибиторами ЦОГ, антидепрессантами, кетамином и верапамилом. Анксиогенное влияние воспаления частично уменьшалось только имипрамином и верапамилом.

Ключевые слова: воспаление, депрессивность, тревожность, серотонин, НМДА рецепторы, потенциалозависимые Ca^{2+} каналы, ингибиторы ЦОГ, антидепрессанты, кетамин, верапамил

J. Sidorova, O. Obraztsova, A.Talalaenko

Development of rational approaches to therapy of anxiety and depressive syndromes in experimental chronic inflammation

In the modeling of chronic aseptic inflammation of rats it was observed change of behavior , namely increased levels of depression and anxiety, which became apparent due to increase in time of immobilization in the forced swimming test and decrease in time spent by the animals in the open arms of elevated cross maze. It was also observed a violation of the development and reproduction of the conditioned reflex of active avoidance response, as a result of increase in latency time and the number of combinations of stimuli needed to obtain a stable reflex reaction. Based on these data, the authors suggest that the increase in the level of depression in chronic inflammation is caused by an increase of functional activity of the NMDA receptors and the weakening of the serotonergic effects on cortical neurons. Increased levels of anxiety in animals may be due to the weakening effects of serotonergic neurons in the limbic structures, and / or an increase in the functional activity of high-threshold Ca^{2+} L-type channels in these neurons. Violation of mnemonic processes during inflammation may be conditioned by the metaplastic displacement of threshold of induction of synaptic plasticity due to increased functional activity of the NMDA receptors and high-threshold Ca^{2+} channels of L-type. Increased level of depression during inflammation was attenuated by COX inhibitors, antidepressants, ketamine and verapamil. Anxiogenic effect of inflammation was partly decreased by only imipramine and verapamil.

Key words: inflammation, depression, anxiety, serotonin, NMDA receptors, voltage-Ca^{2+} channels, COX, antidepressants, ketamine, verapamil

Надійшла: 26.11.2012 р.

Контактна особа: Сидорова Ю. В., асистент, кафедра фармакології, Донецький національний медичний університет імені М. Горького, просп. Ілліча, 16, м. Донецьк, 83003.
Тел.: +38 0 62 344 31 73. Електронна пошта: vanul@i.ua

УДК 615.244

А. К. Вороніна[1], Г. І. Борщевський[2]

Гепатопротекторна ефективність препарату Лесфаль за експериментального гепатиту в щурів

[1]ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ
[2]ПАТ «Фармак», м. Київ

Ключові слова: гепатит, ессенціальні фосфоліпіди, Лесфаль

Численні епідеміологічні дослідження свідчать про наявність безпосереднього причинно-наслідкового зв'язку хімічного забруднення довкілля та зростання порушень з боку основних органів та систем, серед яких захворюванням печінки належить питома вага. Незважаючи на те, що хвороби гепатобіліарної системи внаслідок дії хімічних сполук як токсикологічна проблема розглядаються вже понад 100 років [1], вони залишаються актуальними й нині.

При захворюваннях печінки та інших органів часто порушується не тільки зовнішньо секреторна функція, а й інші функції печінки, що негативно впливають на перебіг захворювання. Тому виникає потреба у використанні лікарських засобів, яким притаманний широкий спектр гепатопротекторної дії. У зв'язку з цим слід відзначити лікарські засоби, в основі яких лежать ессенціальні фосфоліпіди [2, 3].

Роль фосфоліпідів у реалізації їхньої гепатопротекторної дії зумовлена здатністю забезпечувати біологічну активність зв'язаних з мембранами білків і рецепторів, регулювати метаболічні процеси між внутрішньоклітинним і міжклітинним простором, брати участь у синтезі ейкозаноїдів тощо.

Експериментальні та клінічні результати підтверджують припущення, що фосфоліпіди проявляють захисну, лікувальну та регенеративну дію стосовно біологічних мембран ендотеліальних клітин синусів і гепатоцитів.

ПАТ «Фармак» створено ін'єкційний препарат на основі ессенціальних фосфоліпідів. Розроблена технологія дозволяє отримувати гомогенний препарат у вузькому діапазоні наночастинок, із зменшеним умістом етанолу, що підвищує стабільність препарату на основі ессенціальних фосфоліпідів.

Мета дослідження – оцінка гепатопротекторної ефективності препарату Лесфаль виробництва ПАТ «Фармак» на моделі експериментального гепатиту та обґрунтування доцільності його застосування в клініці.

Матеріали та методи. Препарат Лесфаль (розчин для ін'єкцій) містить субстанцію «Ессенціальних фосфоліпідів». Експериментальне дослідження виконано на білих статевозрілих щурах-самцях (Rattus norvegicus). Лабораторні тварини були надані ПП «Біомодель-сервіс» (м. Київ). Термін акліматизації склав 7 днів.

Тваринам згодовували ad libitum стандартний раціон для лабораторних тварин, що постачався фірмою «Phoenix» («Фенікс», Україна). Вода із міського водогону (після оберненого осмосу й стерилізації УФ-випромінюванням) подавалася ad libitum. Для підстилки використовували попередньо автоклавовану тирсу вільхи (Alnus glutinosa).

У кімнатах для утримання тварин підтримували наступні умови: температура – 20–24 °С, вологість – 30–70 %, цикл освітлення – 12 год світло/12 год темрява.

З метою вивчення гепатопротекторної ефективності препарату Лесфаль виробництва ПАТ «Фармак» щурів було розподілено на три групи по 10 тварини у кожній: перша – контрольна, тваринам якої вводили розчинник (вода для ін'єкцій); у щурів другої

© Колектив авторів, 2013

групи моделювали токсичний гепатит шляхом внутрішньочеревинного введення протягом 7 днів 50 % олійного розчину тетрахлорметану (ТХМ) у дозі 0,5 мл/кг маси тіла [4]; третя група — те саме, що й для попередньої групи, але додатково за 2 год до введення розчину ТХМ протягом 7 днів та 3 днів після припинення експозиції ТХМ щурам внутрішньочеревинно вводили Лесфаль у дозі 44,26 мг/кг маси тіла. Протягом усього експерименту спостерігали за станом тварин, їхнім зовнішнім виглядом та поведінкою.

Через 24 год після останнього введення Лесфалю під легким ефірним наркозом брали кров зі стегнової вени та піддавали евтаназії методом цервікальної дислокації.

Печінку відмивали через воротну вену 1 % розчином KCl та гомогенізували в 0,05М Трис-HCl буфері (pH 7,5). Усі процедури виконували з дотриманням холодового режиму (t +4 °C).

Активність перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у печінці досліджували, оцінюючи швидкість накопичення продуктів реакції з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-реактанти) за методом І. Д. Стальної та Т. Г. Гаришвілі [5].

Білок у гомогенаті печінки визначали за методом O. H. Lowry [6].

Активність аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ), лужної фосфатази (ЛФ), гамма-глутамілтрансферази (ГГТ), а також уміст білірубіну, холестерину в сироватці крові досліджували на біохімічному аналізаторі Prestige 24i (Японія), використовуючи тести фірми Cormay, Польща.

Тканину печінки досліджували традиційними гістологічними методами. Препарати фарбували гематоксиліном і еозином. На заморожених зрізах виявляли нейтрофільний жир Суданом чорним В. Мікроскопію і мікрофотографування проводили за допомогою мікроскопа OLIMPUS BX41. Статистичну обробку результатів проводили методом варіаційної статистики з визначенням t-критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення. Дані біохімічних показників сироватки крові щурів з тетрахлорметановим гепатитом та результати застосування Лесфалю наведено в таблиці 1. За даної моделі токсичного гепатиту спостерігали збільшення вмісту загального білірубіну в сироватці крові щурів майже в 2,6 разу порівняно з контрольними тваринами. Введення Лесфалю значною мірою сприяло нормалізації вмісту білірубіну, який зменшився на 43 % порівняно з даним показником у тварин з експериментальним гепатитом. У сироватці крові нелікованих тварин на 35 % збільшився вміст холестерину відносно щурів контрольної групи. У тварин, що отримували Лесфаль, даний показник залишився на рівні контролю.

У результаті проведених досліджень нами також встановлено, що в сироватці крові щурів за умов уведення ТХМ активність АлАТ і АсАТ збільшилася відповідно в 1,9 та 1,3 разу порівняно з контролем. Це свідчить про активацію маркерних ферментів цитолізу при введенні гепатотоксину і зростання некрозодистрофічних порушень у гепатоцитах. Також за умов уведення ТХМ відмічалося значне зниження коефіцієнта де Рітіса (АсАТ/АлАТ) – на 29 %, що характеризує високий ступінь ураження печінки. Застосування Лесфалю за умов гострого токсичного гепатиту сприяло зниженню активності АлАТ на 35 %, а АсАТ на 12 % (табл. 2), співвідношення АсАТ/АлАТ було на рівні контролю.

Збільшення лужнофосфатазної активності сироватки крові в 1,3 разу при введенні гепатотоксинів вказує на розвиток холестазу. При лікувально-профілактичному введенні Лесфалю активність лужної фосфатази значно зменшилась, хоча й не досягла рівня контролю.

Визначення активності ГГТ має велике значення для діагностування захворювань печінки. У групі з експериментальним гепатитом даний показник збільшився в 5,6 разу порівняно з контролем. У тварин, що отримували Лесфаль, активність ГГТ знизилася майже в 3 рази порівняно з нелікованими щурами, що разом з рівнем активності АлАТ, АсАТ і ЛФ є доказом гепатопротекторної активності даного препарату.

Таблиця 1

Деякі біохімічні показники сироватки крові щурів-самців за умов ТХМ-індукованого гепатиту та внутрішньочеревинного застосування Лесфалю в дозі 44,26 мг/кг протягом 10 днів (M ± m, n ≥ 6)

Показник	Експериментальна група		
	Контроль	ТХМ	ТХМ + Лесфаль
Загальний білірубін, ммоль/л	1,88 ± 0,18	4,8 ± 0,6*	2,72 ± 0,3*, **
Холестерин, ммоль/л	1,66 ± 0,09	2,20 ± 0,05 *	1,67 ± 0,13 **
Активність АлАТ, МО/л	63,44 ± 3,35	119,45 ± 12,77*	77,82 ± 6,10 **
Активність АсАТ, МО/л	157,00 ± 8,16	210,82 ± 13,44*	186,55 ± 7,33*, **
Коефіцієнт де Рітіса	2,47	1,76	2,4
Активність ЛФ, МО/л	280,66 ± 15,08	352,76 ± 26,43 *	209,61 ± 19,02 *, **
Активність ГГТ, МО/л	0,29 ± 0,12	1,63 ± 0,20 *	0,59 ± 0,18 **

*Примітка. Тут і в табл. 1, 2: *вірогідні зміни порівняно з контролем; **вірогідні зміни порівняно з групою нелікованих тварин.*

Таблиця 2

Швидкість аскорбатзалежного утворення продуктів ПОЛ у печінці самців щурів за умов ТХМ-індукованого гепатиту та внутрішньочеревинного застосування Лесфалю в дозі 44,26 мг/кг протягом 10 днів (M ± m, n ≥ 6)

Показник	Експериментальна група		
	Контроль	ТХМ	ТХМ + Лесфаль
ТБК - реактанти, нмоль/хв×мг білка	0,301 ± 0,019	0,350±0,008*	0,285 ± 0,014**

Лікувально-профілактичне застосування Лесфалю сприяло суттєвій нормалізації швидкості аскорбатзалежного утворення продуктів взаємодії з тіобарбітуровою кислотою, що є критерієм стану ПОЛ у печінці.

Згідно з даними, представленими в таблиці 2, швидкість аскорбат-залежного утворення продуктів реакції з тіобарбітуровою кислотою в печінці нелікованих щурів збільшувалась на 16 % порівняно з контролем.

При зовнішньому огляді щурів контрольної та дослідних груп ознак патологічних змін виявлено не було. Тварини залишалися активними, шерстний та шкірний покрови чисті, ознак ушкоджень, запальних гіперпластичних відхилень не спостерігали. Очі, ніс, губи та зовнішні статеві органи нормальної будови. На слизових оболонках ознак ушкоджень та запальних уражень також не спостерігали.

При розтині цих тварин серозні оболонки плевральної та навколосерцевої порожнин були гладенькими, блискучими, без проявів ушкоджень та запалення, кількість вільної серозної рідини в порожнинах не збільшена.

Що стосується черевної порожнини, то в усіх тварин, яким уводили, досліджуваний препарат на фоні експериментального гепатиту, індукованого ТХМ, у вісцеральній серозній оболонці очеревини печінки спостерігалася запальна реакція, що супроводжувалась адгезією часток печінки. Якщо у тварин контрольної групи краї органу були конусоподібної форми, то в дослідних тварин вони були закруглені, а печінка – з коричневато-жовтуватим відтінком.

При мікроскопічному дослідженні оглядових препаратів печінки контрольних і дослідних тварин порушень гістоархітектоніки органу не спостерігали. Тканина мала характерний часточковий малюнок. Гепатоцити, в основному, з незміненими властивостями, у більшості мали полігональну форму з чіткими контурами. У цитоплазмі паренхіматозних клітин виявлялися базофільні брилки, ядра круглої форми, з дрібним хроматином, у них розміщувались по 1–2 ядерця. Вісцеральна очеревина та фіброзна капсула печінки в 70 % випадків у групі тварин з гострим гепатитом і в 60 % при застосуванні Лесфалю були осередковано потовщені,

розрихлені й інфільтровані гістіоцитами, лімфоцитами. У цих тварин під капсулою виявляли значно збільшені за розміром кулеподібні гепатоцити з зернистою чи оптично пустою цитоплазмою. Ядра в таких клітинах були невеликих розмірів з щільною каріоплазмою, ядерця в них не визначалися.

У печінці нелікованих тварин та щурів, яким уводили Лесфаль, у цитоплазмі гепатоцитів виявляли вакуолі. При фарбуванні Суданом чорним В у паренхіматозних клітинах контрольних тварин реакція на жир була негативною, тоді як у тварин дослідних груп реакція на ліпіди була позитивною.

Застосування Лесфалю сприяло зменшенню ознак жирової інфільтрації гепатоцитів, де переважали дрібні та середні ліпідні включення.

Слід відзначити, що в усіх тварин з тетрахлорметановим гепатитом та у деяких тварин, яким уводили Лесфаль, поряд з незмінними ядрами подекуди зустрічали поодинокі, значно збільшені за розміром ядра. Хроматинові зерна в них були грубими, розміщувалися дифузно по каріоплазмі чи поблизу кардіолеми.

У печінкових часточках інфільтрація мала дифузний характер. Це свідчить про наявність хронічної форми запального процесу. У деяких тварин дослідних груп зрідка зустрічалися гепатоцити з ознаками альтерації, цитоплазма їхня була еозинофільною, ядра були деформовані чи лізировані. Спостерігали також осередки повнокрів'я міжчасточкових вен і синусоїдів, у просвіті останніх відмічали збільшену кількість мононуклеарів. Зірчасті ретикулоендотеліоцити осередковано були активними, ядра їх збільшені за розміром, витягнутої форми, інтенсивно фарбувалися гематоксиліном.

Таким чином, за даних умов експерименту в нелікованих щурів з експериментальним гепатитом виявлена значна запальна реакція в капсулі і вісцеральній очеревині печінки, тоді як при застосуванні Лесфалю вона спостерігалася в меншої кількості тварин і носила осередкований характер.

Також, у тварин, які отримували Лесфаль, ознаки жирової інфільтрації гепатоцитів спостерігалися в меншому ступені, переважали дрібні та середні ліпідні включення порівняно з нелікованими тваринами.

На моделі токсичного ураження печінки тетрахлоретаном встановлено, що згідно з даними біохімічного аналізу маркерів пошкодження печінки в сироватці крові та морфологічних досліджень печінки препарат Лесфаль виробництва ПАТ «Фармак» проявляє гепатопротекторну ефективність.

1. *Zimmerman H. J.* Hepatotoxicity // Appleton-Century-Crofts / H. J. Zimmerman.– 1978.– New-York.
2. *Григоренко Е. И.* Опыт лечения больных с алкогольным и неалкогольным стеатогепатитом препаратом «Энерлив» / Григоренко Е. И., Левченко М. В., Пуздря Е. Г. // Крымский терапевтический журнал.– 2008.– № 2.– С. 4–9.
3. *Короткий В. Н.* Эссенциальные фосфолипиды в комплексном лечении больных с печеночной недостаточностью, вызванной длительной механической желтухой / Короткий В. Н., Колосович И. В., Чегусов В. В. // Медицина сегодня.– 2008.– № 10 (245).
4. *Uma Maheswari M.* Antihepatotoxic effect of grape seed oil on rat / Uma Maheswari M, Rao PG M. // Journal of Applied Sciences and Environmental Management.– V. 9, № 3.– P. 77–80.
5. *Стальная И. Д.* Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / Стальная И. Д., Гаришвили Т.Г. // Современные методы в биологии: под ред. В. Н. Ореховича.– М. : Медицина, 1977.– С. 66–68.
6. Protein measurement with Folin phenol reagent / Lowry O. H., Rosebroughch N. J., Farr A. L., Randall R. J. // J. Biol. Chem.– 1951. –V. 193.– P. 265–275.

А. К. Воронина, Г. И. Борщевский

Гепатопротекторная эффективность препарата Лесфаль при экспериментальном гепатите у крыс

Острые и хронические заболевания печени являются важными причинами заболеваемости и смертности во всем мире. Обычные медицинские методы лечения многих таких заболеваний имеют ограниченную эффективность. Целью данного исследования было оценить гепатопротекторное действие препарата Лесфаль производства ПАО «Фармак» на модели экспериментального гепатита у крыс, вызванного четыреххлористым углеродом (CCl_4). Было установлено, что препарат

Лесфаль проявил гепатопротекторное действие, приводя к снижению активности аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, щелочной фосфатазы и гамма-глутамил трансферазы, а также к нормализации уровня билирубина и холестерина. Гепатопротекторноя активность была также подтверждена результатами гистологического исследования ткани печени.

Ключевые слова: гепатит, эссенциальные фосфолипиды, Лесфаль

A. K. Voronina, G. I. Borshchevskiy

Hepatoprotective efficiency L'esfal in rats with experimental hepatitis

Acute and chronic liver diseases are important causes of morbidity and mortality worldwide. Conventional medical therapies for many of these diseases have limited efficacy. The aim of this study was to evaluate the hepatoprotective action of L'esfal produced by «Farmak» for liver damage in rat induced by carbon tetrachloride(CCl_4). It was found that the L'esfal exhibited moderate hepatoprotective effect as confirmed by lowering the serum activities of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase and gamma-glytamil transferase and normalize bilirubin and cholesterol levels. The hepatoprotective activity was also supported by histopathological studies of liver tissue.

Key words: hepatitis, ессенціальні фосфоліпіди, L'esfal

Надійшла: 07.02.2013 р.

Контактна особа: Вороніна Алла Костянтинівна, кандидат біологічних наук, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Ежена Потьє, м. Київ, 03680.
Тел.: +38 0 44 456 78 65. Електронна пошта: alla_voronina@ukr.net

УДК 615.322:612.015.348:616.36-002

Р. Ф. Єрьоменко, Л. М. Малоштан, О. Ю. Яценко

Дослідження фармакологічної активності екстракту з трави люцерни посівної за умов субхронічного гепатиту в щурів

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: екстракт з трави люцерни посівної, субхронічний гепатит, антиоксидантна активність, мембраностабілізуюча активність

Захворювання печінки займають провідне місце в структурі захворюваності та поширеності хвороб органів травлення в сучасному світі. У 2010 році поширеність захворювань, зокрема, хронічного гепатиту серед населення України складала 769,7 на 100 тис. населення [7]. Печінка відіграє важливу роль у підтримці білкового гомеостазу, і її пошкодження призводить до порушення білоксинтезуючої функції. При таких захворюваннях печінки, як гепатит, ішемія, гепатоз, цироз тощо відбувається пошкодження гепатоцитів як структурного субстрату анаболізму та катаболізму білка, що супроводжується гіпопротеїнемією, диспротеїнемією, гіпер-γ-глобулінемією, гіперазотемією та підвищенням рівня в крові таких ферментів, як γ-глутамілтранспептидаза, амінотрансферази та інших за рахунок руйнування та загибелі гепатоцитів [6].

Зважаючи на це, доцільним є застосування в комплексній терапії захворювань печінки лікарських засобів, які б були донорами структурних компонентів амінокислот та інших біологічно активних речовин і попереджали руйнування гепатоцитів. Джерелом таких речовин є екстракт з трави люцерни посівної (*Medicago sativa*) (ЕТЛП) з роду бобових (*Fabaceae*), який містить білки, 17 амінокислот, у тому числі 8 незамінних, 8 ферментів, що розщіплюють білки та сприяють їхньому засвоєнню, зокрема – бетаїн, які можуть безпосередньо впливати на білоксинтетичні процеси в печінці; та біологічно активні речовини з антиоксидантними, мембраностабілізуючими, органопротекторними, протизапальними та іншими властивостями, такі як: дубильні речовини, сапоніни, кумарини, фітоестрогени, вітаміни А, Д, B_1, B_{12}, С, Е, К; мікро- та макроелементи Ca, Mg, Mn, Fe, Zn, Cu, K, Si, Na, F; хлорофіл; ізофлавоноїди генистеїн, дайдзеїн, куместрол; флавоноїди апігенін, лютеолін, кверцетин, рутин та інші; органічні кислоти: кофейну, галову, ферулову, метоксикумарову, уронову; алкалоїди; аспарагін; антоціани; карбогідрати; моно- та полісахариди; пігменти; крохмаль [4, 8].

Мета дослідження – вивчення фармакологічної активності ЕТЛП порівняно з класичним гепатопротектором силібором за умов субхронічного гепатиту в щурів.

Матеріали та методи. Дослідження проведено на 32 білих безпородних щурах масою 180–200 г, вирощених у віварії НФаУ, що утримувалися на стандартному харчовому раціоні відповідно до встановлених норм та з дотриманням вимог комісії з біоетики НФаУ та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001 р.), узгоджених з положеннями «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.) [3]. Тварини були розподілені на 4 групи по 8 особин у групі: 1 – інтактний контроль (ІК); 2 – контрольна патологія (КП); 3 – дослідна група тварин, яким перорально уводили ЕТЛП у дозі 25 мг/кг; 4 – дослідна група тварин, яким перорально уводили препарат порівняння силібор у дозі 50 мг/кг. Тваринам дослідних груп вводили препарати в вищезазначених дозах, КП – розчинник протягом 1-го тижня до початку та протягом усього терміну експерименту. Дозу ЕТЛП 25 мг/кг обрано згідно з результатами власних досліджень

© Колектив авторів, 2013

[5], а дозу силібору 50 мг/кг згідно з даними літератури [7]. Субхронічний гепатит у тварин II–IV груп моделювали внутрішньошлунковим уведенням щурам етанолу та тетрахлорметану за визначеною схемою протягом 6 діб: спочатку вводили 50 % олійний розчин тетрахлорметану в дозі 0,4 мл/100 г маси тіла, через 2 год – вводили 40 % водний розчин етанолу в дозі 1,3 мл/100 г маси тіла [3]. ЕТЛП та силібор уводили тваринам під час експерименту щоденно протягом 6 діб через 2 год після введення етанолу. На 7 добу щурів зважували та виводили з експерименту методом декапітації під барбаміловим наркозом. Загальний стан щурів та функціональний стан печінки оцінювали наступними показниками: виживаність тварин, динаміка маси тіла, масовий коефіцієнт печінки (МКП), біохімічні показники, які визначали в гомогенаті печінки та в сироватці крові [1, 3]. Визначали показники, що характеризують білоксинтезуючу функцію печінки: у тканині печінки – вміст білка за Лоурі [1, 3], у сироватці крові – рівень загального білка, молекул середньої маси (МСМ), альбуміну, сечовини, показники окисної модифікації білків (ОМБ) – альдегідфенілгідразон (АФГ) та кетондинітрофенілгідразон (КФГ) [1–3, 9], активність ферментів аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ) [1, 3], γ-глутамілтрансферази (ГГТ) [1, 3], рівень холестерину [1, 3]. Інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та стан антиоксидантного захисту (АОЗ) оцінювали за вмістом ТБК-реактантів, каталази та відновленого глутатіону (G-SH) у гомогенаті печінки [1, 3].

Отримані експериментальні дані обробляли методами варіаційної статистики за допомогою стандартного пакета статистичних програм «Statistica 6,0». Для отримання статистичних висновків застосовували параметричні методи (метод Н'юмана-Кейлса). При порівнянні статистичних показників був прийнятий рівень значущості $P < 0,05$. Результати дослідження надано в таблицях 1–2 та рис. 1–2.

Результати та їх обговорення. Отримані результати дослідження свідчать про те, що субхронічний вплив на щурів групи КП етанолу та тетрахлорметану протягом 6 днів призводить до порушення функціонального стану організму, у тому числі – печінки. Негативні зміни функціонального стану організму та печінки щурів групи КП виявлялися тенденцією до зниження маси тіла, зменшенням виживаності на 12 %, збільшенням маси печінки, яке віддзеркалилось достовірним відносно ІК збільшенням МКП у 1,4 разу, що вказує на розвиток набряку й запалення та порушення трофічних і метаболічних процесів у печінці та в організмі тварин у цілому. Цей висновок підтверджується біохімічними дослідженнями сироватки крові щурів групи КП, результати яких показали, що під субхронічним впливом етанолу та тетрахлорметану відбувається руйнування мембран гепатоцитів, на що вказує: достовірне відносно ІК підвищення в сироватці крові активності ферментів АсАТ та АлАТ – у 1,5 та 1,9 разу відповідно, ГГТ – у 1,5 разу, рівня холестерину – у 1,5 разу (табл. 1).

У тканині печінки спостерігали інтенсифікацію процесів ПОЛ та порушення активності антиоксидантної системи (АОС), що проявилося вірогідним відносно ІК збільшенням рівня ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) у 1,2 разу та зменшенням активності в тканині печінки ферменту АОЗ каталази та вмісту G-SH у 1,4 та 1,2 разу відповідно (рис. 1) [3].

Субхронічний вплив етанолу та тетрахлорметану призвів до порушення білоксинтезуючої функції печінки тварин групи КП, що проявилося достовірним відносно ІК зниженням рівня загального білка в сироватці крові на 13 %, білка в тканині печінки – на 20 %; збільшенням таких продуктів руйнування білка як молекули середньої маси (МСМ) на 16 % та кінцевого продукту розпаду білка, сечовини – на 43 %; зниженням серед білкових фракцій транспортних білків альбумінів на 39 % та β-глобулінів – на 40 %, що вказує на розвиток гіпопротеїнемії, γ-глобулінів на 49 % і свідчить про диспротеїнемію та порушення функції імунної системи, та збільшенням α_1-глобулінів на 117 %, які вказують на розвиток гострої фази пошкодження печінки (табл. 2) [1–3, 6, 8].

Таблиця 1

Показники функціонального стану печінки щурів за умов субхронічного гепатиту та застосування екстракту з трави люцурни посівної

Показник	Умови досліду			
	Інтактний контроль	Контрольна патологія	ЕТЛП, 25 мг/кг	Силібор, 50 мг/кг
Виживаність, %	100	88	100	100
Динаміка маси тіла, %	+2,4 %	–4,2 %	–2,9 %	–0,9 %
МКП, г/100 г	3,38 ± 0,12	4,79 ± 0,24*	4,02 ± 0,18*/**	4,08 ± 0,12*/**
У сироватці крові				
АсАТ, ммоль/л·год	0,83 ± 0,03	1,25 ± 0,05*	1,21 ± 0,10*	1,05 ± 0,04*
АлАТ, ммоль/л·год	0,73 ± 0,06	1,36 ± 0,07*	0,99 ± 0,04*/**	0,96 ± 0,06*/**
γ-Глутаміл-трансфераза, мккат/л	0,77 ± 0,05	1,17 ± 0,10*	0,84 ± 0,06**	0,72 ± 0,02**
Холестерин, ммоль/л	1,08 ± 0,06	1,64 ± 0,17*	1,16 ± 0,04**	1,17 ± 0,12**

*Примітка. *Відхилення показника достовірно відносно групи інтактного контролю, $P \leq 0,05$; **відхилення показника достовірно відносно групи контрольної патології, $P \leq 0,05$.*

Зростання в сироватці крові рівня ранніх та пізніх маркерів окисної деструкції білків АФГ та КФГ при спонтанній ОМБ на 136 % (λ = 274 нм) та 200 % (λ = 363 нм) відповідно свідчить про інтенсифікацію ОМБ та пошкодження системи АОЗ організму тварин (рис. 2) [2, 9].

Лікувально-профілактичне введення ЕТЛП та силібору відновлювало функціональний стан печінки, що проявилося, у першу чергу, підвищенням виживаності до 100 %, зменшенням втрати маси тіла та достовірним відносно групи КП зниженням масового коефіцієнта печінки на 16–17 %. Останнє також свідчить про протизапальні властивості ЕТЛП та силібору та їхній позитивний вплив на трофічні процеси в печінці. Про антицитолітичну, мембранопротекторну та органопротекторну дію ЕТЛП та силібору свідчить достовірне відносно групи КП зниження активності ферментів АлАТ на 27,2 % та на 29,4 % відповідно, ГГТ до інтактного рівня – на 28,2 % та на 38,4 % відповідно та холестерину також до інтактного рівня – на 29,3 % та на 28,7 % відповідно (табл. 1).

Антиоксидантні властивості ЕТЛП та силібору проявилися незначним інгібуванням процесів ПОЛ, зокрема, вміст ТБК-АП у гомогенаті печінки тенденційно відносно КП знижувався до рівня інтактних тварин. На відміну від силібору в дозі 50 мг/кг ЕТЛП у дозі 25 мг/кг достовірно відносно групи КП підвищував у гомогенаті печінки активність ферменту АОЗ каталази на 15 %. Уміст відновленого глутатіону під впливом ЕТЛП залишався на рівні показника інтактних тварин, у той час як силібор сприяв його підвищенню достовірно відносно групи ІК майже в 2,5 разу (рис. 1).

Аналіз біохімічних показників, що характеризують білоксинтезуючу функцію печінки, показав, що лікувально-профілактичне введення ЕТЛП у дозі 25 мг/кг та препарату порівняння силібору в дозі 50 мг/кг щурам із субхронічним етанол-тетрахлорметановим гепатитом призводило до достовірного порівняно з групою КП збільшення вмісту загального білка в сироватці крові на 20 % і вмісту білка в тканині

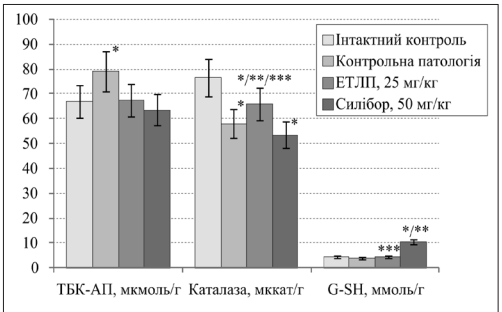


Рис. 1. Показники стану перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту у тканині печінки щурів за умов субхронічного гепатиту та застосування екстракту з трави люцерни посівної.

*Примітка. *Відхилення показника достовірно відносно групи інтактного контролю, $P \leq 0,05$; **достовірно відносно групи контрольної патології, $P \leq 0,05$; ***достовірно відносно групи, що отримувала Силібор, $P \leq 0,05$.*

Таблиця 2

Показники білоксинтезуючої функції печінки у щурів за умов субхронічного гепатиту та застосування екстракту з трави люцерни посівної

Показник	Умови досліду			
	Інтактний контроль	Контрольна патологія	ЕТЛП, 25 мг/кг	Силібор, 50 мг/кг
Загальний білок (кров), г/л	75,1 ± 2,3	65,5 ± 2,8*	77,5 ± 4,4**	79,1 ± 2,8**
Білок (печінка), г/100 мг	0,10 ± 0,01	0,080 ± 0,004*	0,120 ± 0,004**	0,120 ± 0,004**
МСМ, ум. од.	0,202 ± 0,004	0,234 ± 0,016*	0,206 ± 0,003**	0,211 ± 0,004**
Сечовина, ммоль/л	4,67 ± 0,43	6,67 ± 0,71*	5,93 ± 0,30	5,87 ± 0,52
Білкові фракції, г/л:				
Альбуміни	21,1 ± 2,8	12,9 ± 2,8*	16,8 ± 1,8	19,1 ± 2,5
α_1-Глобуліни	4,1 ± 1,3	8,9 ± 3,1*	10,2 ± 1,2*	10,10 ± 2,89*
α_2-Глобуліни	12,30 ± 1,39	12,60 ± 1,13	14,50 ± 1,49	15,10 ± 1,73
β-Глобуліни	17,50 ± 2,12	10,50 ± 1,94*	14,00 ± 1,08	15,00 ± 1,15
γ-Глобуліни	16,20 ± 2,58	8,34 ± 1,93*	13,40 ± 1,94	15,20 ± 2,13

*Примітка. *Відхилення показника достовірно відносно групи інтактного контролю, $P \leq 0,05$; **відхилення показника достовірно відносно групи контрольної патології, $P \leq 0,05$.*

печінки на 50 % та достовірного відносно групи ІК збільшення вмісту білка в тканині на 20 %, що свідчить про здатність досліджуваних препаратів не тільки відновлювати білоксинтетичні процеси в печінці. У групах тварин, які отримували ЕТЛП та силібор, спостерігали достовірне відносно групи КП зниження кількості МСМ у сироватці крові майже на 15 % та тенденцію до зменшення рівня в сироватці крові сечовини на 12 %. Про зниження гіпопротеїнемії в організмі щурів під впливом ЕТЛП та силібору свідчить зростання в сироватці крові білкової фракції альбумінів приблизно на 40 % та β-глобулінів – у середньому на 40 % порівняно з КП. Про відновлення функції імунної системи свідчить зростання γ-глобулінової фракції білків на 60 % (ЕТЛП) та 82 % (силібор) порівняно з групою КП (табл. 2).

Під впливом ЕТЛП у дозі 25 мг/кг спостерігали зниження інтенсивності окисної модифікації білків, про що свідчить достовірне відносно групи КП зниження майже до інтактного рівня ранніх та пізніх маркерів окисної деструкції білкових молекул АФГ та КФГ при спонтанній ОМБ – на 52,7 % та на 59,4 % відповідно. Силібор у меншому ступені змінював ці показники: він достовірно відносно групи КП знижував рівень АФГ та КФГ при спонтанній ОМБ на 27 % та на 57,2 % відповідно (рис. 2).

Таким чином, ЕТЛП за умов курсового введення щурам з моделлю субхронічного гепатиту сприяє 100 % виживаності тварин, зменшує прояви інтоксикації та відновлює функціональний стан печінки, що може бути зумовлено біологічно активними речовинами, що входять до складу ЕТЛП (білок, амінокислоти, дубильні речовини, ізофлавоноїди, флавоноїди апігенін, лютеолін, кверцетин, рутин, органічні кислоти кофейна, галова, ферулова тощо).

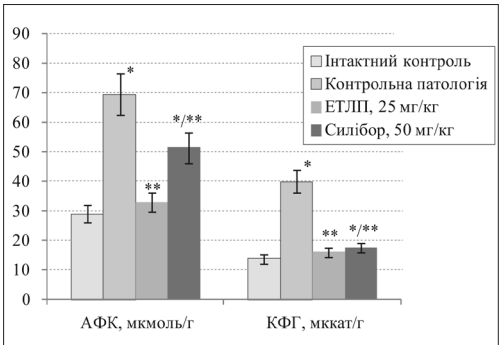


Рис. 2. Показники окисної модифікації у щурів за умов субхронічного гепатиту та застосування екстракту з трави люцерни посівної, у. о.

*Примітка. *Відхилення показника достовірно відносно групи інтактного контролю, $P \leq 0,05$; **достовірно відносно групи контрольної патології, $P \leq 0,05$.*

Висновок

У дослідах на щурах з моделлю субхронічного гепатиту встановлено, що курсове лікувально-профілактичне введення екстракту з трави люцерни посівної (щоденно протягом 6 днів у дозі 25 мг/кг) сприяє 100 % виживаності тварин, зменшенню ознак інтоксикації (масового коефіцієнта печінки, умісту молекул середньої маси та сечовини в крові), нормалізації функціонального стану печінки (зниження активності маркерних ферментів цитолізу, підвищення вмісту загального білка в тканині печінки, загального білка та окремих його фракцій у крові, зменшення вмісту продуктів ПОЛ, у тому числі продуктів окисної модифікації білків тощо). За гепатопротекторною активністю екстракт з трави люцерни посівної не поступається, а за окремими показниками переважає препарат порівняння силібор.

1. Биохимические показатели крови, их референсные значения, причины изменения уровня в сыворотке крови [Електронний ресурс] / В. В. Андрушкевич.– Новосибирск, 2006.– Режим доступу: http://www.labdiagnostic.ru/docs/specialists/bioxim_poka-zat.shtml
2. *Гринштейн С. В.* Структурно-функциональные особенности мембранных белков / С. В. Гринштейн, О. А. Кост // Успехи биологической химии.– 2001.– Т. 41.– С. 77–104.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек; за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова.– К.: Авіцена, 2001.– 528 с.
4. Дослідження фенольного комплексу із трави люцерни посівної / С. В. Ковальов, А. М. Ковальова, Р. Ф. Єрьоменко та ін. // Фармацевтичний часопис.– 2008.– № 2(6).– С. 27–30.
5. *Єрьоменко Р. Ф.* Дослідження впливу екстракту з трави люцерни посівної на стан мембранних білків та мембран в умовах гемолізу еритроцитів / Р. Ф. Єрьоменко // Український біофармацевтичний журнал.– 2011.– № 6 (17).– С. 22–26.
6. *Ежова Г. П.* Биомедицинские исследования гомеостаза организма человека: учеб.– метод. пособ. / Г. П. Ежова, А.А. Бабаев.– Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет, 2010.– 80 с.
7. Синтез эфиров тритерпеноидов группы лупана и их гепатопротекторная активность / О. Б. Флехтер, Л. Т. Карачурина, В. В. Поройков [и др.] // Биоорганическая химия.– 2000.– Т. 26, № 3.– С. 215–223.
8. *Ткач С. М.* Современные подходы к диагностике и лечению жировой болезни печени / С. М. Ткач // Здоров'я України.– 2008.– № 22.– С. 64–65.
9. Токсикологические последствия окислительной модификации белков при различных патологических состояниях (обзор литературы) / Ю. И. Губский, И. Ф. Беленичев, Е. Л. Левицкий [и др.] // Сучасні проблеми токсикології.– 2005.– № 3.– С. 20–26.

Р. Ф. Еременко, Л. М. Малоштан, О. Ю. Яценко

Исследование фармакологической активности экстракта из травы люцерны посевной в условиях субхронического гепатита у крыс

Установлено, что субхроническое влияние комбинации гепатотоксинов этанола и тетрахлорметана на печень крыс вызывает деструкцию мембран гепатоцитов и приводит к нарушению функциональной активности печени. Экстракт из травы люцерны посевной (ЭТЛП) в дозе 25 мг/кг лучше, чем препарат сравнения силибор в дозе 50 мг/кг, при лечебно-профилактическом введении восстанавливает белоксинтезирующую функцию печени за счет содержания большого количества белка, аминокислот и других биологически активных веществ, которые определяют антиоксидантные, мембраностабилизирующие, органопротекторные и противовоспалительные свойства ЭТЛП.

Ключевые слова: экстракт из травы люцерны посевной, субхронический гепатит, антиоксидантная активность, мембраностабилизирующая активность

R. F. Yeromenko, L. M. Maloshtan, O. Yu. Yatsenko

The study of the pharmacological activity of extract Medicago sativa sowing grass under conditions of subchronic hepatitis on rats

It was found that the subchronic effect of a combination of hepatotoxins of ethanol and carbon tetrachloride on the liver of rats caused the destruction of the membrane of hepatocytes and lead to the disruption of the functional activity of the liver. The extract Medicago sativa sowing grass (EGMS), dosing 25 mg / kg, is better than the reference medicine of silibor dosing 50 mg / kg both in medical-prophylactic oral administration, can restore the protein synthesis function of the liver due to the high protein content, amino acids and other biologically active substances that determine the antioxidant, membrane stabilizing, organoprotective and anti-inflammatory properties of EGMS.

Key words: extract Medicago sativa sowing grass, subchronic hepatitis, antioxidant activity, membrane stabilizing activity

Надійшла: 18.02.2013 р.

Контактна особа: Єрьоменко Римма Фуатівна, кандидат біологічних наук, доцент, кафедра біології, фізіології та анатомії людини, Національний фармацевтичний університет, вул. Мельникова, 12, м. Харків, 61002. Тел./факс: +38 0 57 706 30 73.

УДК 615.27:615.21

Л. Т. Киричок, А. В. Перепелиця, Р. О.Кальчук

Антиоксидантна та стреспротекторна дія пірацетаму за умов моделювання хірургічної травми та запалення слизової оболонки порожнини рота

Харківський національний медичний університет,
ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії НАМН України», м. Харків

Ключові слова: пірацетам, моделювання стресу, лапаротомія, запалення слизової оболонки порожнини рота, антиоксидантна активність,стреспротекція

Останніми роками пірацетам, відомий ноотропний засіб [1], широко досліджується як препарат метаболічної дії [2]. Серед нейрометаболічних ефектів пірацетаму увагу привертають його антиоксидантні властивості, що попереджають розвиток оксидативного стресу, запобігаючи збудженню стрес-стимулюючих систем організму [3, 4]. Адже саме з порушення окиснювальної рівноваги в організмі розпочинається виникнення типових нейрогормональних та соматичних ознак емоційного стресу [5]. Разом із тим, застосування пірацетаму в комплексній терапії у випадках, що потребують невідкладної допомоги (порушення мозкового кровообігу, черепно-мозкова травма, хірургічне втручання та ін.), патогенетично пов'язано з наданням стреспротекторного впливу, необхідного для захисту від емоційної напруги, що виникає в будь-якій клінічній ситуації. Таке припущення має суттєве практичне значення, тим більше, що пірацетаму властивий антистресовий ефект щодо дії різних несприятливих факторів [1–4].

Мета роботи – виявлення в експерименті сполучення антиоксидантної та стреспротекторної дії пірацетаму за умов моделювання патології стресового генезу – хірургічної травми та запалення слизової оболонки порожнини рота.

Матеріали та методи. Роботу виконано на 36 безпородних статевозрілих білих щурах обох статей вагою 200–250 г з додержанням сучасних вимог біоетики (Страсбург, 1986 р., Київ, 2001 р., 2003 р.). Тварин було розподілено по 6 особин у 3 групи кожної серії: 1 – інтактний контроль, 2 – модельна патологія, 3 – застосування пірацетаму на фоні патології. Дві серії дослідів – це використання двох моделей патології, що супроводжуються емоційною напругою з ознаками стресу [6, 7] – лапаротомія та запалення слизової оболонки порожнини рота (СОПР).

Лапаротомію, як модель хірургічного стресу, виконували за асептичних умов на наркотизованих тіопенталом натрію (60 мг/кг внутрішньочеревинно) тваринах з подальшим накладанням шарами швів.

Запалення слизової оболонки порожнини рота (СОПР) відтворювали так само під тіопенталовим наркозом шляхом 5-хв втирання 4 % розчину натрію гідроксиду в щелепно-альвеолярну складку на рівні кликів.

Показниками емоційно-стресової напруги були такі, що відбивають стан гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи (ГГНС): вагові коефіцієнти (ВК) зобної залози, селезінки та наднирників, уміст у них аскорбінової кислоти (АК), рівень кортизолу та кількість еозинофілів у крові, стан слизової оболонки шлунка (СОШ) [8]. Стан окиснювальної рівноваги оцінювали за вмістом у крові й ткані СОПР продуктів ПОЛ – дієнових кон'югатів (ДК) і малонового діальдегіду (МДА), за активністю антиоксидантних ферментів – супероксиддисмутази (СОД) і каталази (КЛ), за сумарним умістом метаболітів оксиду азоту (NO) та SH-груп, що також пов'язані з антиоксидантним захистом [9].

Пірацетам вітчизняного виробництва (20 % розчин в ампулах, «Галичфарм», Україна) уводили щурам за 60 хв до

© Колектив авторів, 2013

закінчення моделювання патології одноразово внутрішньошлунково в дозі 250 мг/кг, що апробована в експериментальних роботах як захисна за різних екстремальних умов [2, 9, 10].

Цифровий матеріал оцінювали статистично порівняно з інтактним контролем і патологією методом варіаційного ряду за тестом t-Ст'юдента з поправкою Бонферонi [11].

Результати та їх обговорення. Дані, одержані за умов лапаротомії (табл. 1), свідчать про те, що моделювання хірургічного втручання супроводжується системною стресовою реакцією з боку ГГНС. Її типовими проявами є: перерозподілення клітинних форм лімфоїдних органів, про що свідчить зменшення ВК зобної залози й селезінки; активізація діяльності кори надниркиків, що видно з їхньої гіпертрофії, із зменшенням у них умісту АК; підвищення рівня кортизолу в крові; еозинопенія, тісно пов'язані з інтенсивністю глюкокортикогенезу та порушенням трофіки СОШ, що сягає 2,2 ± 0,31 бала при відсутності в контролі [10].

При моделюванні хірургічного втручання в організмі щурів нейрогормональні зміни супроводжуються окиснювальним стресом, який проявляється підвищенням у крові рівня продуктів ПОЛ у вигляді збільшення ДК і МДА. Про порушення окиснювальної рівноваги в бік переважання прооксидантних процесів свідчить також збільшення в крові сумарних метаболітів NO та одночасне зменшення вмісту SH-груп, зниження активності СОД і КЛ, тобто ослаблення ферментативного та неферментативного антиоксидантного захисту організму [12], що спостерігається за умов досліду (табл. 1).

Уведення пірацетаму за умов лапаротомії захищає тварин від дії несприятливого фактора. Це знайшло відображення в тому, що більшість змінених під впливом лапаратомії показників відновлюються, хоча й не повністю, а деякі: ВК тимуса, трофіка СОШ і ДК крові, – зберігаються на рівні інтактного контролю. Як видно з даних таблиці 1, за умов експериментальної моделі хірургічної травми стреспротекторна та антиоксидантна дії пірацетаму сполучаються, стабілізуючи нейрогормональну регуляцію та врівноваженість прооксидантних та антиоксидантних процесів у відповідь на емоційно-стресове ушкодження.

Використана в роботі модель запалення СОПР порівняно з лапаротомією супроводжується менш виразними емоційно-стресовими порушеннями. З боку ГГНС відмічається зниження вмісту АК у надниркиках і підвищення рівня кортизолу в крові, що не призводить до

Таблиця 1

Показники стреспротекторної та антиоксидантної дії пірацетаму за умов лапаротомії в щурів

Показник	Інтактний контроль	Лапаротомія	Пірацетам + лапаротомія
ГГНС			
ВК тимуса	0,193 ± 0,01	0,149 ± 0,01*	0,171±0,01**
ВК правого наднирника	0,020 ± 0,001	0,032 ± 0,002*	0,0290±0,0001*
ВК лівого наднирника	0,021 ± 0,001	0,040 ± 0,001*	0,028±0,001*,**
ВК селезінки, %	0,598 ± 0,010	0,295 ± 0,01*	0,423±0,01*,**
АК наднирників, мг %	461,3 ± 6,9	341,3 ± 10,8*	398,3±10,8*,**
Кортизол крові, нмоль/л	50,3 ± 1,4	116,9 ± 1,5*	74,8 ± 1,4*,**
Еозинофіли,·10^3/л	266,0 ± 5,5	104,2 ± 3,9*	161,2 ± 2,9*,**
Стан СОШ, бал	0	2,20 ± 0,31*	1,30 ± 0,21*
ПОЛ-АОЗ (кров)			
ДК, ммоль/л	9,28 ± 0,20	11,17 ± 0,30*	10,89 ± 0,10*
МДА, мкмоль/л	17,9 ± 0,3	44,2 ± 0,9*	28,9 ± 1,5*,**
NO (сум.), мкмоль/л	34,1 ± 1,7	84,8 ± 1,6*	49,4 ± 2,0*,**
SH-гр, мкмоль/л	6,7 ± 0,3	3,9 ± 0,2*	5,1 ± 0,3*,**
СОД, у.о.	5,8 ± 0,1	3,9 ± 0,2*	4,9 ± 0,2*,**
КЛ, у.о.	4,5 ± 0,1	2,7 ± 0,1*	4,1 ± 0,1*,**

*Примітка. Тут і в табл. 2, 3: *P ≤ 0,05 порівняно з інтактним контролем; ** P ≤ 0,05 порівняно з патологією.*

гіпертрофії наднирників (табл. 2). Вагові коефіцієнти лімфоїдних органів зберігаються на інтактному рівні, а кількість еозинофілів крові та трофіка СОШ змінюються типово для стресу.

Стан системи окиснювальної рівноваги порушується більш суттєво і стосується як про-, так і антиоксидантного компонентів. Підвищення вмісту продуктів ПОЛ сполучається із типовими змінами сумарних метаболітів NO і SH-груп крові та із зниженням активності антиоксидантних ферментів.

За цих експериментальних умов уведення пірацетаму частково запобігає виникненню нейрогормональної стимуляції стресової реакції, статистично достовірно збільшується лише рівень АК у наднирниках, який не досягає контрольного значення. Більш виразною була дія пірацетаму щодо показників ПОЛ та АОЗ. Майже всі вивчені показники стану цієї системи, за виключенням ДК, частково відновлюють своє значення.

Як видно, показники ПОЛ-АОЗ частково відновлюються під впливом пірацетаму і, вочевидь, визначають більшу стійкість нейрогормональної регуляції стресу та його наслідків. Це може бути пов'язано із внутрішньоклітинним відновленням окиснювального метаболізму, у тому числі і в лімфоїдних клітинах тимуса, селезінки, крові, що відмічалося під впливом препаратів з антистресовою активністю із різних фармакологічних груп, включаючи й ноотропи [13]. У наших дослідах за умов запалення антиоксидантну дію пірацетаму спостерігали не тільки в крові, але й у тканині СОПР. Як видно з даних таблиці 3, вона виявляється за показниками вмісту продуктів ПОЛ, SH-груп, активністю СОД та КЛ.

Таким чином, можна вважати, що стресове пошкодження, як і фармаколо-

Таблиця 2

Стреспротекторна та антиоксидантна дія пірацетаму за умов моделювання запалення слизової оболонки порожнини рота в щурів

Показник	Інтактний контроль	Запалення СОПР	Пірацетам+ запалення СОПР
ГГНС			
ВК тимуса	0,146 ± 0,009	0,123 ± 0,01	0,128 ± 0,01
ВК правого наднирника	0,019 ± 0,001	0,022 ± 0,001	0,025 ± 0,001*
ВК лівого наднирника	0,020 ± 0,001	0,021 ± 0,001	0,026 ± 0,003
ВК селезінки	0,539 ± 0,020	0,535 ± 0,020	0,453 ± 0,020*
АК наднирників, мг %	410,0 ± 13,1	303,8 ± 13,0*	340,0 ± 6,6*
Кортизол крові, нмоль/л	44,5 ± 0,8	56,2 ± 0,9*	62,8 ± 1,3*,**
Еозинофіли,·10^3/л	218,2 ± 6,8	182,2 ± 4,9*	104,2 ± 2,6*,**
Стан СОШ, бал	0	2,0 ± 0,3*	1,0 ± 0,2*,**
ПОЛ-АОЗ (кров)			
ДК, ммоль/л	12,9 ± 0,3	33,3 ± 1,6*	23,9 ± 1,5**
МДА, мкмоль/л	7,3 ± 0,2	8,4 ± 0,3*	8,9 ± 0,2*
NO (сум.), мкмоль/л	29,1 ± 1,7	58,6 ± 1,3*	44,4 ± 2,0*,**
SH-гр, мкмоль/л	5,69 ± 0,20	3,42 ± 0,20*	4,13 ± 0,20*,**
СОД, у.о.	4,8 ± 0,1	3,1 ± 0,1*	3,9 ± 0,2*,**
КЛ, у.о.	3,5 ± 0,1	2,0 ± 0,2*	3,1 ± 0,2**

Таблиця 3

Показники стану ПОЛ та антиоксидантного захисту в слизовій оболонці порожнини рота щурів за умов запалення та застосування пірацетаму

Показник	Інтактний контроль	Запалення СОПР	Пірацетам+ запалення СОПР
ДК, ммоль/г	13,5 ± 0,7	22,8 ± 1,2*	20,1 ± 0,5*
МДА, мкмоль/г	7,6 ± 0,2	12,4 ± 0,8*	8,3 ± 0,2*,**
NO (сум.), мкмоль/г	20,6 ± 1,4	52,5 ± 1,5*	40,3 ± 1,3*,**
SH-гр., мкмоль/г	5,7 ± 0,2	3,3 ± 0,2*	4,8 ± 1,1
СОД, у.о.	5,06 ± 0,20	3,7 ± 0,20*	4,39 ± 0,30
КЛ, у.о.	3,68 ± 0,2	2,15 ± 0,1*	2,94 ± 0,2**

гічний захист від нього відбуваються, у першу чергу, за участю саме таких чутливих реакцій, як регуляція окиснювальної рівноваги, тому показники стану системи ПОЛ-АОЗ, на нашу думку, можуть бути біохімічними маркерами фармакологічного захисту від емоційного напруження.

Висновки

1. Встановлено, що за умов моделювання хірургічної травми та гострого запалення слизової оболонки порожнини рота в щурів пірацетам (250 мг/кг одноразово в/шлунково) проявляє антиоксидантну й стреспротекторну дію, з яких перша проявляється більш чітко, незалежно від ступеня прояву стресової напруги.
2. Отримані результати свідчать про доцільність застосування пірацетаму як препарату супроводу при хірургічних втручаннях та патології запального генезу для корекції емоційно-стресорного впливу.

1. Ноотропні засоби / Грігорова І. А., Звягінцева Т. В. (ред.) [та ін.].– Харків: «Контраст», 2005.– 167 с.
2. Метаболитотропные препараты / Мазур И. А., Чекман И. С., Беленичев И. Ф. [и др.].– Запорожье, 2007.– 309 с.
3. *Бурчинский С. Г.* Пирацетам: механизмы действия и перспективы применения новых лекарственных форм / Бурчинский С. Г. // Журнал практического врача.– 2002.– № 3.– С. 10–13.
4. *Карнаух Э. В.* Антистрессовая кардиопротекция / Карнаух Э. В. // Експерим. і клінічна медицина.– 2005.– № 1.– С. 58–64.
5. *Киричок Л. Т.* Молекулярные основы окислительного стресса и возможности его фармакологической регуляции / Киричок Л. Т., Зубова Е. О. // Междунар. мед. журнал (Харьков).– 2004.– № 1.– С. 144–148.
6. *Перепелица А. В.* Сравнительная активность современных антиоксидантов в условиях экспериментального хирургического стресса / Перепелица А. В., Горбач Т. В., Киричек Л. Т. // Експерим. і клінічна медицина.– 2005.– № 4.– С. 30–33.
7. *Корж В. И.* Нейрогормональные и метаболические показатели воспаления слизистой оболочки полости рта у крыс в условиях иммобилизационного стресса / Корж В. И., Кальчук Р. О / Междунар. журнал прикладних и фундаментальних исследований.– 2012.– № 1.– С. 62–63.
8. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації; за ред. О. В. Стефанова.– К. : Авіцена, 2001.– С. 457–471.
9. Лабораторные методики для изучения состояния антиоксидантной системы и уровня перекисного окисления липидов / Щербань Н. Г., Горбач Т. В., Гусєва Р. Н. [и др.].– Харьков : ХГМУ, 2004.– 36 с.
10. *Киричек Л. Т.* Стресспротекторы в эксперименте и в клинике / Киричек Л. Т.– Харьков: ЦПП «Контраст», 2008.– 302 с.
11. *Гланц С.* Медико-биологическая статистика: пер. с англ / С. Гланц.– М. : Практика, 1998.– 459 с.
12. *Звягинцева Т. В.* Роль метаболитов оксида азота в механизмах развития экспериментального ожога / Звягинцева Т. В., Кривошапка А. В., Желнин Е. В. // Експерим. і клінічна медицина.– 2011.– № 2 (51).– С. 5–9.
13. *Важничая Е. М.* Ноотропы и система крови в условиях стресса / Е. М. Важничая, Т. А. Девяткина.– Полтава: Полимет, 2002.– 156 с.

Л. Т. Киричек, А. В. Перепелица, Р. О. Кальчук

Антиоксидантное и стресспротекторное действие пирацетама в условиях моделирования хирургической травмы и воспаления слизистой оболочки полости рта

При моделировании хирургической травмы и воспаления слизистой оболочки полости рта у крыс показано наличие у пирацетама антиоксидантного действия, более выраженного, чем сочетающегося с ним стресспротекторного по состоянию нейрогормональной активности. Поэтому показатели состояния системы ПОЛ-АОЗ могут быть биохимическими маркерами фармакологической защиты от эмоционального напряжения.

Ключевые слова: пирацетам, моделирование стресса, лапаротомия, воспаление слизистой оболочки полости рта, антиоксидантная активность, стресспротекция

L. T. Kirichek, A. V. Perepelitsa, R. O. Kalchuk

Antioxidant and stressprotective effects of piracetam under modeling of surgical trauma and inflammation of oral mucosa

Under modeling of surgical trauma (laparotomy) and inflammation of oral mucosa on rats an antioxidant and stressprotective effects of piracetam were revealed. On the base of experimental data antioxidant effect of piracetam was more pronounced then its stressprotective action evaluated on parameters of neurohumoral activity. Thus the parameters of lipoperoxidation and antioxidant defense may bee used as biochemical markers of pharmacological stressprotection.

Key words: piracetam; laparotomy; stress modeling; inflammation of oral mucosa; antioxidant activity; stressprotection

Надійшла: 25.10.2012 р.

Контактна особа: Киричок Людмила Трохимівна, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології та медичної рецептури, Харківський національний медичний університет, просп. Леніна, 4, м. Харків, 61022. Тел.: +38 0 67 830 16 46. Електронна пошта: tana_zv@list.ru

УДК 615.322:582.734.3:615.275.3

А. В. Кононенко, С. М. Дроговоз, О. В. Криворучко

Листя горобини звичайної – перспективна сировина для отримання препаратів з антиартритною дією

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: листя горобини звичайної, антиартритна дія, ад'ювантний артрит

Фітотерапія є одним із напрямів фармакотерапії, який активно розвивається останнім часом. У зв'язку зі зростаючою кількістю випадків запальних захворювань і частим їхнім хронічним перебігом доцільним є пошук та розробка безпечних протизапальних лікарських препаратів при їхньому довготривалому застосуванні. Досвід пошуку таких препаратів свідчить, що найвдалішим шляхом є використання сировини фармакопейних рослин. Прикладом такої рослини є горобина звичайна, яка на відміну від синтетичних речовин, має більш м'яку, але досить ефективну дію, малу токсичність, широкий спектр дії, не викликає значних побічних реакцій при тривалому застосуванні [1, 2]. У джерелах літератури є дані про те, що листя горобини звичайної навесні містить таку саму кількість БАР, що й плоди восени [1, 3].

Мета дослідження – вивчення протизапальної дії екстракту листя горобини звичайної для обґрунтування створення на його основі протиартритного засобу, придатного для тривалої фармакотерапії.

Матеріали та методи. Поглиблене вивчення протизапальної активності екстракту горобини звичайної проводили на моделі ад'ювантного артриту (АА) [4] у щурів за методичними рекомендаціями ДЕЦ МОЗ України [5].

Для досліду були використані білі щури лінії Вістар вагою 200–250 г [5]. Референтним препаратом був обраний класичний антифлогістик диклофенак натрію («Вольтарен» Novartis Pharma SAS, табл. 25 мг). Об'єкт дослідження – густий водний екстракт листя горобини звичайної, отриманий на кафедрі фармакогнозії Національного фармацевтичного університету під керівництвом доцента О. В. Криворучко.

Екстракт листя горобини звичайної вводили внутрішньошлунково в лікувальному режимі в умовно-ефективній дозі 100 мг/кг, яку було визначено в скринінгових дослідженнях на моделях карагенінового та зимозанового набряків у щурів [6]. Тварин було розподілено на 4 групи: 1 група – інтактний контроль, 2 група – щури, яким уводили ад'ювант Фрейнда (контрольна патологія); 3 група – тварини, яким уводили ад'ювант Фрейнда + густий екстракт горобини звичайної в дозі 100 мг/кг; 4 група – щури, які отримували ад'ювант Фрейнда, а також диклофенак натрію в дозі 8 мг/кг [5]. Досліджувані препарати вводили внутрішньошлунково в лікувальному режимі один раз на добу з першого дня моделювання патології протягом усього досліду (21 день) [5].

Вплив препарату горобини та диклофенаку натрію на розвиток і перебіг АА оцінювали за їхньою здатністю зменшувати набряк кінцівок, загальною кількістю лейкоцитів, рівнем ШОЕ [5, 7], вмістом сіалових кислот (СК) [8] та загального білка (ЗБ) [9], рівня лужної фосфатази (ЛФ) [10], активністю АлАТ та АсАТ [9], умістом ТБК-АП та відновленого глутатіону (ВГ) [7, 9] у сироватці крові експериментальних тварин, а також проводили морфологічне дослідження суглобів задніх кінцівок [5]. Вимірювання об'єму набряку лап щурів проводили планіметричним методом у динаміці на 1, 5, 7, 9, 12, 15, 17, 19 та 21 добу дослідження [5].

На 22 добу тварин виводили з експерименту евтаназією, ампутовані задні кінцівки фіксували у 10 % розчині

© Колектив авторів, 2013

нейтрального формаліну. Після промивки в проточній воді, м'язи та шкіру відшаровували. Гомілковостопні суглоби піддавали декальцинації в 5 % розчині мурашиної кислоти, занурювали в целоїдин. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином і проводили морфологічні дослідження [5]. Статистичну обробку результатів проведено за допомогою системи Excel MS Office з використанням методів параметричної статистики Манна-Уітні та Н'юмана-Кейлса [11].

Результати та їх обговорення. На моделі АА через 1 добу після введення ад`юванта Фрейнда в усіх тварин із групи контрольної патології на місці введення розвивалася місцева запальна реакція, що супроводжувалася значним збільшенням об`єму задніх кінцівок (у 1,4 разу), потім з`явилися щільні вузлики.

У тварин з груп контрольної патології та груп, лікованих екстрактом горобини звичайної та диклофенаком натрію, максимальний набряк кінцівок спостерігали на першу добу досліду, потім набряк почав спадати. Екстракт листя горобини звичайної та диклофенак натрію сприяли достовірному зменшенню набряку лапи в щурів (рис. 1): із першого дня застосування референтний препарат почав проявляти активність (20,4 %), тоді як у групі тварин, лікованих екстрактом горобини звичайної, об'єм набряку не відрізнявся від групи контрольної патології. Вже на 5 добу екстракт горобини звичайної виявляв протизапальну активність на рівні 20 %, а референтний препарат – 23,3 %. На 7 та 9 добу досліду екстракт горобини звичайної поступався активності препарату порівняння лише на 4 %. На 12 добу антиексудативна активність у групі тварин, лікованих екстрактом горобини звичайної, становила 30,5 %, диклофенаком натрію – 38,9 %. Поступово протизапальна активність екстракту горобини звичайної підвищувалася: на 15 добу досліду вона дорівнювала 33,1 %, але не перевищувала активність препарату порівняння (40,6 %). Максимальну антиексудативну активність досліджувані препарати виявили на 21 добу: екстракт горобини звичайної – 56,2 %, а диклофенак натрію – 70,8 %.

Середня антиексудативна активність екстракту листя горобини звичайної за весь час експерименту (21 день) склала 29,6 %, диклофенаку натрію – 38,3 %.

Після субплантарного введення ад'юванту Фрейнда в щурів спостерігали запальну реакцію, що супроводжувалася швидким розвитком гіперемії та набряку ураженої кінцівки. З 12-ої доби досліду в щурів почали з'являтися ознаки ураження парної лапи (гіперемія, порушення рухомості), що супроводжувалося змінами наступних показників: кількість лейкоцитів збільшилася в 3 рази, рівень ШОЕ – 4,7 разу, активність АлАТ та АсАТ зросла в 1,8 разу, уміст СК збільшився в 1,5 разу, рівень ЗБ знизився в 1,5 разу, рівень ЛФ зріс у 1,6 разу. Усе це свідчить про розвиток потужного запального процесу та початок розвитку генералізованого артриту [5].

Застосування препаратів, що вивчалися, сприяло достовірній нормалізації кількості лейкоцитів та ШОЕ, а також

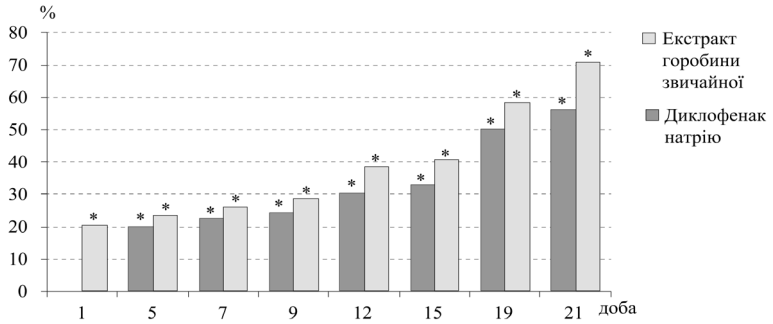


Рис. 1. Антиексудативна активність екстракту горобини звичайної на моделі ад'ювантного артриту.

*Примітка. *Достовірно відносно контрольної патології.*

біохімічних показників крові. На 12 добу досліду за впливом на рівень лейкоцитів екстракт горобини перевищував дію диклофенаку натрію на 36 % та мав однаковий з ним вплив на ШОЕ, а на 22 добу ці показники під впливом препаратів повернулися до вихідного рівня. За впливом на активність АлАТ, уміст ЗБ на 22 день екстракт листя горобини звичайної дещо переважав дію референтного препарату на 10 та 22 % відповідно.

Екстракт листя горобини звичайної позитивно впливав на процеси вільнорадикального окиснення (ТБК-АП) та антиоксидантну систему (ВГ) на відміну від препарату порівняння, який не чинив достовірної антиоксидантної дії. Екстракт листя горобини звичайної достовірно переважав диклофенак натрію за впливом на рівень ТБК-АП, знижуючи його на 37 % та підвищуючи рівень ВГ – на 54 % порівняно з контрольною патологією.

При гістологічному дослідженні гомілковостопних суглобів у всіх тварин з АА виявляли морфологічні ознаки розвитку запальних, гіперпластичних та деструктивно-дистрофічних процесів. У періартикулярних тканинах (прилеглих сухожиллях, зв'язках і підшкірножировій клітковині) відзначали масивну клітинну інфільтрацію, переважно лімфоїдно-нейтрофільну зі скупченнями плазмоцитів, часті васкуліти й гранульоми. Виявляли вогнища міоцитолізу, набряклі м'язові волокна, зміну забарвлення. У судинах нерідкі гнійні емболи та тромби (рис. 2б).

У всіх щурів з АА відзначено значні тканинні зміни синовіальних оболонок, серед яких переважали проліферативно-запальні процеси: виражена проліферація крайових синовіоцитів, а також поява лейкоцитарного інфільтрату з домішкою гістіоцитів і фібробластів різного ступеня зрілості в товщі синовіту (рис. 2б).

Вогнищево панус пенетрує в хрящ, заміщаючи його сполучною тканиною. Хрящові поверхні деяких суглобів повністю інвазовано синовітом так, що важко розрізнити, де закінчується хрящ і починається сполучна тканина. На тих поверхнях, де хрящ безпосередньо контактує з синовітом, він звужений (на 26 % порівняно з інтактним контролем), втрачає характерне зональне розташування ходроцитів, щільність розташування яких також знижена порівняно з інтактним контролем у 1,2 разу (таблиця). Зрідка хрящова поверхня втрачає чіткість меж і має нерівні контури.

Позитивний вплив досліджуваних препаратів на перебіг АА було підтверджено морфологічними дослідженнями. Застосування диклофенаку натрію з лікувальною ціллю не знижує вираженості запально-проліферативних процесів у періартикулярних тканинах. М'якотканинні структури густо інфільтровані лейкоцитами, містять гранульоми. Ознаки синовіту відзначаються, але синовіальні оболонки дещо спокійніші, ніж у групі контрольної патології. У разі, коли проліферативні процеси локалізовані тільки в субсиновіальном шарі, а крайові синовіоцити лежать у

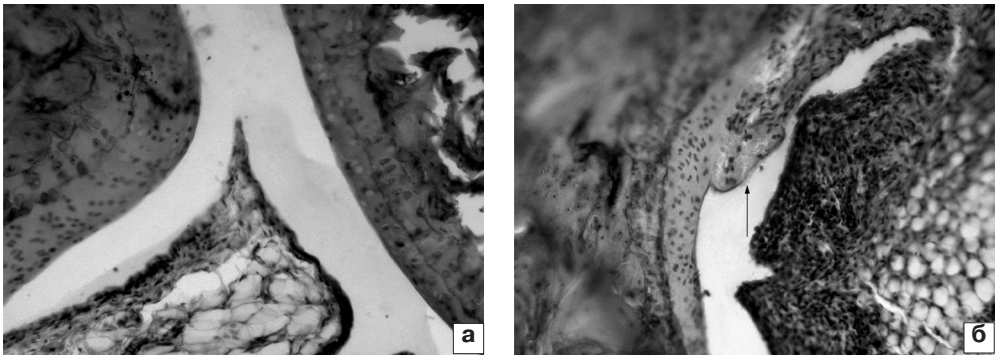


Рис. 2 Гіаліновий хрящ суглобової поверхні інтактного щура. Синовіальна оболонка нормальної будови (а). Гомілковостопний суглоб щура після інокуляції ад'юванта Фрейнда. Гіперплазований синовій (праворуч) формує панус (стрілка) і наповзає на хрящ, інвазуючи його. Хондроцити разташовані хаотично (б). Гематоксилін-еозин × 150.

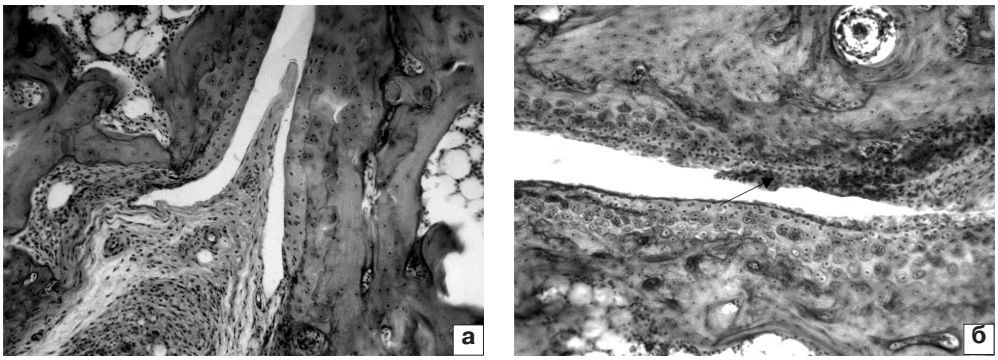


Рис. 3. Гомілковостопний суглоб щура, лікованого диклофенаком натрію. Синовій без крайової проліферації синовіоцитів, хрящ не змінений (а). Гомілковостопний суглоб щура, лікованого екстрактом листя горобини звичайної. Синовіальний панус, наповзаючий на хрящову поверхню (стрілка) (б). Гематоксилін – еозин × 150.

1–2 шари, синовіт лежить у суглобовому просторі, не торкаючись хрящової поверхні, і хрящ при цьому не змінений (рис. 3а). Крім того, суглобові поверхні з повністю інвазованим хрящем не зустрічаються. Товщина хряща не відновлюється, проте щільність розташування хондроцитів підвищується (таблиця).

У групі тварин, лікованих екстрактом листя горобини звичайної синовіальна оболонка з ознаками проліферативного синовіту формує панус і наповзає на бічну поверхню хряща (рис. 3б). Але, на відміну від нелікованих тварин, повної інвазії синовія в хрящову тканину не відзначено. Лише іноді зустрічаються невеликі ділянки, де сполучна тканина щільно зростається з хрящовою. Рідко зустрічаються незначні за довжиною безклітинні ділянки і ділянки з дуже вузьким хрящем, де ходроцити разташовані лише в 2–3 ряди. Однак показник – клітинна щільність хондроцитів, зростає до рівня інтактного контролю на відміну від референтного препарату (таблиця). Хондроцити в суглобових хрящах тварин цієї групи лежать густо, але не завжди впорядковано.

Висновки

Таким чином, результати фармакологічного та морфологічного дослідження є доказом протизапальної ефективності біологічно активних речовин листя горобини. Результати вивчення екстракту листя горобини звичайної на моделях карагенінового, зимозанового набряків [6] та ад'ювантного артриту довели, що листя горобини звичайної є перспективною сировиною для створення ефективного та безпечного протиартритного препарату. Важливим є ще те, що екстракт листя горобини звичайної надає певний нормалізуючий вплив на стан суглобів: знижує вираженість синовіту, у результаті чого не було виявлено хрящових поверхонь, повністю інвазованих та/або зі зруйнованою синовіальною оболонкою. Крім того, під впливом екстракту листя горобини звичайної підвищується клітинна щільність хондроцитів до рівня показника інтактних тварин на відміну від диклофенаку натрію. Застосування екстракту листя горобини звичайної сприяло достовірній нормалізації кількості лейкоцитів та ШОЕ, а також біохімічних

Таблиця

Морфометричні показники суглобового хряща щурів за умов ад'ювантного артриту та застосування екстракту листя горобини звичайної

Група	Товщина хряща, у. о.	Клітинна щільність на у. о. площі
Інтактний контроль	11,48 ± 0,29	27,15 ± 0,94
Контрольна патологія	8,51 ± 0,52[1]	23,33 ± 1,09[1]
Диклофенак	8,14 ± 0,72[1]	24,66 ± 1,70
Екстракт листя горобини звичайної	8,53 ± 0,37[1]	27,16 ± 0,98[2]

Примітка. [1]Достовірно (P ≤ 0,5) відносно інтактного контролю; [2]достовірно (P ≤ 0,5) відносно контрольної патології.

показників крові. Екстракт листя горобини звичайної перевищував дію диклофенаку натрію за впливом на рівень лейкоцитів, активність АлАТ, вміст ЗБ, рівень ТБК-АП та рівень ВГ.

Достатня сировинна база та вищенаведені ефекти екстракту листя горобини звичайної є підтвердженням перспективності створення протизапального засобу з антиартритною дією.

1. *Кононенко А. В.* Обґрунтування використання листя горобини звичайної як альтернативи її плодам / А. В. Кононенко, С. М. Дроговоз, О. В. Криворучко // Вісник фармації.– 2012.– № 3 (71) – С. 72–74.
2. Фітохімічне обгрунтуваня протизапальної активності біологічно активних речовин листя горобини звичайної / А. В. Кононенко, С. М. Дроговоз, О. В. Криворучко, Д. Б. Лобанова // Клінічна фармація.– 2012.– Т. 16.– № 2.– С. 51–54.
3. *Криворучко О. В.* Горобина / Криворучко О. В. // Фармацевтична енциклопедія: голова ред. ради та автор передмови В. П. Черних.– К.: Моріон, 2005.– 848 с.– С. 238.
4. *Yannaki E.* The Proteasome Inhibitor Bortezomib Drastically Affects Inflammation and Bone Disease in Adjuvant-Induced Arthritis in Rats / E. Yannaki, A. Papadopoulo, E. Athanasiou // Arthritis & Rheumatism.– 2010.– V. 62.– № 11.– P. 3277–3288.
5. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації: за ред. член-кор. АМН України О. В. Стефанова.– К.: Авіценна, 2001.– 528 с.
6. *Кононенко А. В.* Дослідження антиексудативної активності екстракту листя горобини звичайної на моделях зимозанового та карагенінового набряків / А. В. Кононенко, С. М. Дроговоз, К. Г. Щокіна // Український біофармацевтичний журнал.– 2012.– № 3 (20).– С. 39–43.
7. *Franchini M.* Inflammation and hemostatis: a bidirectional interaction / M. Franchini, D. Veneri, G. Lippi // Clinical Laboratory.– 2007.– № 53.– P. 63–67.
8. Efficiency of several genetic and serological markers to differentiate patients with recent onset rheumatoid arthritis and fibromyalgia / Gonzalez C., Hernandez-Cruz B., Rico-Borrego M. J. [et al.] // Clinical Chemistry.– 2009.– V. 55, № 6.– P. 127.
9. *Камышников В. С.* Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике / В. С. Камышников: в 2 т.– Мн. : Беларусь, 2000.– Т. 1.– 495 с.
10. Біохімічні методи дослідження крові хворих / Левченко В. І., Новожитская Ю. М., Сахнюк В. В. [та ін.] // Методичні рекомендації для лікарів хіміко-токсикологічних відділів державних лабораторій ветеринарної медицини України.– К., 2004.– 104 с.
11. *Лапач С. М.* Статистичні методи в медико-біологічних дослідженнях із застосуванням Exel / С. М. Лапач, А. В. Чубенко, П. М. Бабіч.– К.: Моріон, 2001.– 408 с.

А. В. Кононенко, С. М. Дроговоз, О. В. Криворучко

Листья рябины обыкновенной – перспективное сырье для получения препаратов с антиартритным действием

В данной статье приведены результаты углубленного исследования противовоспалительного действия экстракта листьев рябины обыкновенной на модели адъювантного артрита у крыс для обоснования создания на его основе противоартритного средства, подходящего для длительной фармакотерапии. В результате эксперимента было доказано, что экстракт листьев рябины обыкновенной оказывает определенное нормализующее влияние на состояние суставов, повышается клеточная плотность хондроцитов до уровня показателя интактных животных в отличие от диклофенака натрия. Кроме того, экстракт листьев рябины обыкновенной превышает действие референтного препарата по влиянию на уровень лейкоцитов и некоторые биохимические показатели крови.

Ключевые слова: листья рябины обыкновенной, антиартритное действие, адьювантный артрит

A. V. Kononenko, S. M. Drogovoz, O. V. Krivoruchko

Sorbus aucuparia leaves is a perspective raw material for obtaining the drugs with anti-arthritic action

This article presents the results of depth study of anti-inflammatory activity of sorbus aucuparia leaves extract that was carried out under adjuvant arthritis model on rats to justify the creation on its base anti-arthritis medicines suitable for long-term pharmacotherapy. the study proved that the sorbus aucuparia leaves extract had a definite normalizing effect on the joints, increased cell density of chondrocytes to the level of intact animals, as opposed to diclofenac sodium. In addition, the sorbus aucuparia leaves extract exceeded the applicable reference drug by its effect on the level of white blood cells and some biochemical blood parameters.

Key words: sorbus aucuparia leaves, anti-arthritic action, adjuvant arthritis

Надійшла: 26.02.2013 р.

Контактна особа: Кононенко Анна Володимирівна, аспірант, кафедра фармакології, Національний фармацевтичний університет, вул. Мельникова, 12, м. Харків. Тел.: +38 0 57 706 30 69.
Електронна пошта: Emilia41618@yandex.ua

УДК 616.311.2:577.12:543.272.3:612.3:616.334-002-092.4

Е. Г. Романенко, В. И. Мамчур, А. Э. Левых

Значение оксида азота в обеспечении трофической функции собственной пластинки десны при экспериментальном гастродуодените

ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины»

Ключевые слова: оксид азота, гастродуоденит, трофическая функция

В последние годы значительно расширились представления о роли оксида азота (NO) и его метаболитов в различных физиологических и патологических процессах, в патогенезе различных заболеваний, в том числе полости рта и желудочно-кишечного тракта [2, 4, 7]. Доказана двойственная роль этого универсального эндогенного регулятора, способного оказывать как повреждающие, так и защитные воздействия на слизистую оболочку, которые во многом зависят от концентрации этого соединения. Оксид азота регулирует моторику пищеварительного тракта, желудочную секрецию, микроциркуляцию, стимулирует секрецию слизи и в физиологических условиях оказывает цитопротективное действие [3, 7]. Очевидно, подобное действие оксид азота должен оказывать на ткани полости рта, однако, в литературе эти данные освещены недостаточно и требуют дополнительного изучения. Каковы же клеточные мишени NO? Во-первых, это растворимая цитоплазматическая гуанилатциклаза, учавствующая в образовании цГМФ. Во-вторых, важная молекулярная мишень для оксида азота – это белки, содержащие SH-группы. NO служит эффективным катализатором образования дисульфидных мостиков. Благодаря взаимодействию с SH-группами NO может регулировать такой важный для клетки процесс, как биосинтез белка [3]. Совокупность этих сведений позволяет предположить, что дефицит или избыток оксида азота может нарушать трофические процессы в тканях и снижать их регенераторный потенциал.

© Колектив авторів, 2013

Цель исследования – изучение влияния оксида азота на трофическую функцию собственной пластинки десны при экспериментальном гастродуодените у крыс.

Материалы и методы. Модель хронического гастродуоденита воспроизводили на крысах обоего пола линии Вистар массой 70–90 г (22 животных). Контрольную группу составили 10 интактных животных. Лабораторным крысам в течение 40 дней вводили 50 % медицинскую желчь интрагастрально, 1 мл на 100 г веса животного один раз в сутки [12]. В контрольной группе крысам интрагастрально вводили стерильный физиологический раствор. При выполнении эксперимента придерживались рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с использованием животных в соответствии с положениями «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, которых используют для экспериментальных и научных целей». Животных содержали на обычном рационе в стандартных условиях вивария. Эвтаназию животных осуществляли под тиопенталовым наркозом (40 мг/кг массы тела внутрибрюшинно) путем тотального кровопускания из сердца. Гомогенаты десны получали растиранием с толченым стеклом навески ткани в 0,05М Трис-HCl буфере (pH 7,4) с последующим центрифугированием при 2500 *g* в течение 15 мин. Образование NO оценивали по суммарному уровню нитритов и нитратов (NO_x) в сыворотке крови спектрофотометрическим методом по реакции Грисса [13, 14] с предварительной конверсией нитратов в нитриты. Содержание белка в сыворотке крови и гомогенатах слизистой оболочки десны крыс

определяли биуретовым методом. Для морфологического исследования брали участки десны в области резцов и моляров верхней и нижней челюстей животных. Фиксацию препаратов проводили в течение суток в 10 % водном забуференом растворе формалина. С целью приготовления гистологических препаратов из фрагментов тканей были сделаны блоки стандартной величины с последующей проводкой тканей в этиловом спирте возрастающей концентрации и заливкой в парафин. Окраску препаратов проводили гематоксилином и эозином на предметных стеклах. Гистологические препараты оценивали методом световой микроскопии микроскопом Axioskop 40 (ZEISS). Морфометрический анализ осуществляли при помощи микроскопа, цветной видеокамеры и видеокарты для ввода изображения в компьютер. Компьютерную морфометрию осуществляли при помощи программ: Carl Zeiss AxioVs40 V4.6.3.0 и ImagePro Plus V 3.0.00.00. Морфометрическому анализу подвергали изображения, увеличенные в 100 раз. С помощью морфометрии определяли толщину эпителия и высоту сосочков собственной пластинки десны (мм).

Статистическую обработку данных проводили с использованием лицензионной программы STATISTICA 6.1. Определяли среднюю арифметическую величину (M), величину ошибки среднего (m), критерий значимости (t) Стьюдента, степень достоверности различий (p). Перед применением параметрических критериев проводили проверку гипотезы о нормальном законе распределения случайных величин посредством критерия Шапиро-Уилка.

Результаты и их обсуждение. Считается, что на ранних этапах развития воспаления в слизистых оболочках происходит повышение продукции NO, являющейся компенсаторным механизмом для обеспечения кровоснабжения и поддержания высокого уровня метаболизма в тканях за счет прямой вазодилатации. При прогрессировании заболевания происходит истощение источников синтеза NO (L-аргинин) и снижение его образования, что приводит к повышению агрегационной способности тромбоцитов, снижению фибринолитической активности крови, нарушению регуляции сосудистого тонуса и развитию микротромбозов сосудистой системы. Негативное воздействие NO начинает проявляться, когда его суммарная концентрация резко снижается либо возрастает, приводя к функциональным и структурным повреждениям органа [2, 3, 5]. Результаты исследования (таблиця) показали, что уровень стабильных метаболитов NO в гомогенатах тканей десны крыс с гастродуоденитом уменьшался почти в три раза ($P < 0,001$) по сравнению с показателем в группе интактных животных, что говорит об истощении депо оксида азота при данном заболевании. Отмечается достоверное уменьшение содержания белка в тканях у животных экспериментальной группы ($P < 0,01$). Очевидно, на фоне хронической гастродуоденальной патологии происходит активация катаболических процессов в десне. Поскольку оксид азота непосредственно влияет на трофику тканей, усиливая их кровоснабжение, следует рассмотреть морфологические изменения, происходящие в собственной пластинке десны, при

Таблица

Содержание белка и метаболитов оксида азота в сыворотке крови и гомогенатах ткани десны у крыс (M ± m)

Группа животных	Белок, г/л		Метаболиты NO, мкмоль/л	
	гомогенат десны	сыворотка крови	гомогенат десны	сыворотка крови
Контрольная (n =10)	6,6 ± 0,3	50,5 ± 3,3	134,9 ± 3,4	2,2 ± 0,2
Экспериментальная (n =22)	4,8 ± 0,1 (P < 0,01)	54,1 ± 3,7 (P < 0,05)	49,3 ± 3,2 (P < 0,001)	37,6 ± 7,3 (P < 0,001)

Примечание. P – достоверность различий с показателями контрольной группы животных.

сопутствующей гастродуоденальной патологии, так как именно в ней залегают кровеносные сосуды, питающие эпителиальный пласт.

Собственная (соединительнотканная) пластинка слизистой оболочки десны, на которой лежит пласт эпителия, состоит из волокнистой соединительной ткани, образующей в поверхностных отделах многочисленные выступы или сосочки. Они внедряются в пласт эпителия. Эти соединительнотканные сосочки построены из рыхлой соединительной ткани, в них проходят кровеносные сосуды, питающие эпителий [1]. Соответственно эпителий также образует выросты, заполняющие промежутки между соединительнотканными сосочками (рис. 1, 2). Считается, что эти сосочки увеличивают площадь соприкосновения между эпителием и соединительной тканью и способствуют лучшему обмену веществ между ними. Кроме того, они обеспечивают более прочное прикрепление эпителиального пласта к собственной пластинке слизистой оболочки.

Соединительнотканные сосочки особенно сильно развиты у свободного края десны, здесь они настолько глубоко проникают в эпителиальный слой, что оказываются отделенными от поверхности лишь немногими слоями эпителиальных клеток. Питание эпителиоцитов осуществляется диффузно через базальную мембрану со стороны подлежащей соединительной ткани [5].

Высота соединительнотканных выступов пропорциональна толщине эпителия. По высоте и рельефу соединительнотканных сосочков можно косвенно судить о размере капиллярного русла, питающего эпителиальный пласт десны. Таким образом, уменьшение высоты соединительнотканных сосочков ведет к нарушению трофики эпителия и ухудшению прикрепления к собственной пластинке десны. Рельеф соединительнотканных сосочков у крыс с гастродуоденитом претерпевает значительные изменения, становится сглаженным (рис. 3). Отмечается достоверное снижение высоты соединительнотканных сосочков до 0,011 ± 0,001 мм у животных экспериментальной группы против 0,037 ± 0,003 мм у крыс контрольной группы ($P < 0,001$). В собственной пластинке десны определяются явления фиброза сосочкового и сетчатого слоя.

Отмечается обтурация просвета кровеносных сосудов и капилляров пучками коллагеновых волокон и основного вещества («зарастание» капилляров). В сосочковом слое соединительнотканной пластинки десны определяется большое количество тучных клеток, являющихся ранними предвестниками воспалительной реакции. Локальная гипоксия стимулирует выделение тучными клетками соединительной ткани гистамина и гепарина. В настоящее время участию медиаторов тучных клеток в коррекции гемостаза придается значение. P. Valent и соавт. [40] установили, что вокруг затромбированных участков сосудов скапливается большое количество тучных клеток, секретирую-

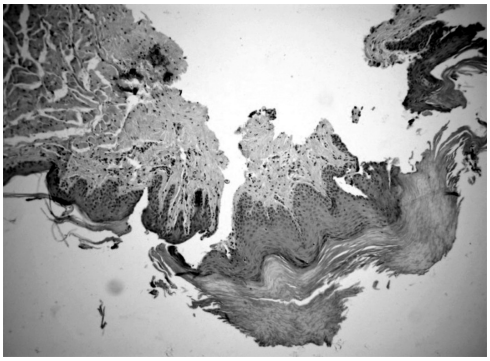


Рис. 1. Десна крысы контрольной группы. Увеличение × 100. Окрашивание – гематоксилин-эозин.

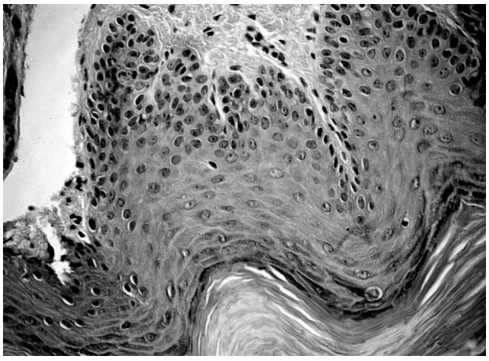


Рис. 2. Десна крысы контрольной группы. Увеличение × 200. Окрашивание – гематоксилин-эозин.

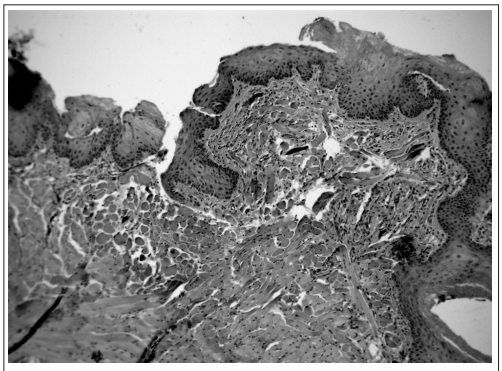


Рис 3. Десна крысы экспериментальной группы. Сглаженность соединительнотканных сосочков десны. Увеличение × 200. Окрашивание – гематоксилин-эозин.

щих медиаторы, способствующие восстановлению кровотока [10].

Эпителиальный слой слизистой оболочки десны истончен до 0,091 ± 0,001 мм у животных экспериментальной группы против 0,124 ± 0,005 мм у крыс контрольной группы ($P < 0,01$). Истончение эпителия рассматривается как неблагоприятный признак, вследствие которого эпителий и подлежащие ткани подвергаются усиленному воздействию повреждающих веществ и атаке микроорганизмов [1].

Выявленные изменения, происходящие в собственной пластинке десны у экспериментальных животных, являются дистрофическими и связаны с распадом белковых структур вследствие гипоксии. Гипоксия и недостаточность пластического обеспечения с одной стороны, сами по себе приводят к нарушению функционирования тканей, а с другой стороны, способствуют развитию структурных, морфологических изменений (дистрофии, атрофии, склероза).

В то же время в сыворотке крови крыс с гастродуоденитом количество метаболитов оксида азота резко повышалось, также происходило достоверное увеличение количества белка (таблица). Разнонаправленные изменения в тканях десны и сыворотке крови объясняются тем, что при экспериментальном гастродуодените метаболиты оксида азота кумулируются в крупных сосудах кровеносной системы, чтобы обеспечивать адекватное кровоснабжение жизненно важных органов и поддержание гомеостаза [8, 9]. Возрастание концентрации метаболитов оксида азота в крови при гипоксических условиях необходимо для генерации NO и улучшения кровоснабжения тканей [11]. При этом происходит перераспределение стабильных метаболитов оксида азота в тканях, дефицит их содержания в тканях пародонта, что ведет к спазму и тромбозу капилляров, развитию трофической недостаточности в тканях десны.

Первичные дистрофические изменения в собственной пластинке десны обусловливают снижение барьерной функции эпителия к повреждающему действию механических, физических, химических и микробных факторов внешней среды. Знание патогенетических механизмов развития хронического катарального гингивита при сопутствующей гастродуоденальной патологии дает возможность построения рациональных терапевтических мероприятий.

В перспективе планируется изучить действие препаратов-доноров оксида азота на состояние трофической функции соединительнотканной пластинки десны у крыс с экспериментальным гастродуоденитом.

1. *Быков В. Л.* Функциональная морфология эпителиального барьера слизистой оболочки полости рта / В. Л. Быков // Стоматология.– 1997.– № 3.– С. 12–17.
2. *Гоженко А. И.* Роль оксида азота в регуляции микроциркуляции и агрегатного состояния крови / А. И. Гоженко, С. Г. Котюжинская, А. И. Котюжинский // Укр. мед. альманах.– 2000.– Т. 3, № 1.– С. 197–200.
3. *Ивашкин В. Т.* Клиническое значение оксида азота и белков теплового шока / В. Т. Ивашкин, О. М. Драпкина.– М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011.– 376 с.
4. *Канканян А. П.* Стимуляция синтеза оксида азота как возможная протективная функция слюны и ее нарушения при заболеваниях пародонта / А. П. Канканян, С. Э. Акопов // Стоматология.– 1996.– Т. 75, № 3.– С. 19–21.
5. *Лазебник Л. Б.* Роль оксида азота (NO) в патогенезе некоторых заболеваний органов пищеварения / Л. Б. Лазебник, В. Н. Дроздов, Е. Н. Барышников // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.– 2005.– № 2.– С. 4–11.

6. *Лангле Р. П.* Атлас заболеваний полости рта : пер. с англ / Р. П. Лангле, К. С. Миллер; под ред. Л. А. Дмитриевой.– [3-е изд.] – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008.– 220 с.
7. *Мотавкин П. А.* Оксид азота в органах пищеварительной системы / П. А. Мотавкин // Pacific Medical Journal.– 2004.– № 2.– С. 13–17.
8. *Реутов В. П.* Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих / В. П. Реутов, Е. Г. Сорокина, В. Е. Охотин, Н. С. Косицын.– М.: Наука, 1998.– 160 с.
9. *Реутов В. П.* Кислород как ингибитор нитритредуктазной активности гемоглобина / В. П. Реутов, Я. И. Ажипа, Л. П. Каюшин // Изв. АН СССР. Сер. биол.– 1983.– № 3.– С. 408–418.
10. New aspects in thrombosis research: possible role of mast cells as profibrinolytic and antithrombotic cells / P. Valent, M. Baghestanian, H. C. Bankl [et al.] // Thromb. Haemost.– 2002.– V. 87, № 5.– P. 786–790.
11. *Moncada S.* Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology / S. Moncada, R. M. J. Palmer, E. A. Higgs // Pharmacol. Rev.– 1991.– V. 43, № 1.– P. 109–142.
12. *Зак М. Ю.* Вплив жовчних кислот на морфологічний стан шлунка у експериментальних тварин / Зак М. Ю., Мосійчук Л. М., Руденко А. І. // Biomedical and biosocial anthropology.– 2011.– № 16.– С. 56 –59.
13. *Green L. C.* Analysis of nitrate, nitrite, and [15 N] nitrate in biosocial fluids / Green L. C., Wagner. D. A., J. Glogowski // Analytical Biochemistry.– 1982.– V. 126, № 1.– P. 131–138.
14. Фотометрический метод определения нитратов и нитритов в биологических жидкостях (инструкция по применению) / А. П. Солодков, И. С. Веремей, С. С. Осорчук [и др.].– Витебский гос. мед. ун-т, 2011.– 9 с.

О. Г. Романенко, В. Й. Мамчур, А. Е. Лєвих

Значення оксиду азоту в забезпеченні трофічної функції власної пластинки ясни при експериментальному гастродуоденіті

За умов відтворення хронічного гастродуоденіту в щурів було досліджено вміст стабільних метаболітів оксиду азоту в крові та гомогенатах слизової оболонки ясен, а також їхній вплив на трофічну функцію сполучнотканинної пластинки ясен. Виявлено, що рівень стабільних метаболітів NO у гомогенатах тканин ясен щурів з гастродуоденітом зменшувався майже в 3 рази (P < 0,001) порівняно з показником у групі інтактних тварин, що свідчить про виснаження депо оксиду азоту при захворюванні. Відзначається достовірне зменшення вмісту білка в тканинах ясен у тварин експериментальної групи (P < 0,05), що свідчить про переважання катаболічних процесів. Знижується висота сполучнотканинних сосочків ясен до 0,011 ± 0, 001 мм у тварин експериментальної групи проти 0,037 ± 0,003 мм у щурів контрольної групи (P < 0,001). У власній пластинці ясен визначаються явища фіброзу сосочкового і сітчастого шару. Відзначається обтурація просвіту кровоносних судин і капілярів пучками колагенових волокон і основної речовини. Подібні явища свідчать про дистрофічні зміни в слизовій оболонці ясен, а поява великої кількості тучних клітин – про включення медіаторів запалення в патологічний процес.

Ключові слова: оксид азоту, гастродуоденіт, трофічна функція

E. G. Romanenko, V. I. Mamchur, A. E. Lievykh

Importance of nitric oxide in ensuring of trophic function of lamina propria of the gum in experimental gastroduodenitis

Under modeling of chronic gastroduodenitis in Wistar rats the levels of nitric oxide stable metabolites in the blood and mucosal homogenates of the gums were examined and their impact on the trophic function of connective plate gums was analyzed. It has been revealed that the level of NO stable metabolites in tissue homogenates of rats with gastroduodenitis decreased almost three times (p < 0,001) compared to the group of intact animals, indicating that the depletion of nitric oxide deposit with the disease. There was a significant decrease in the protein content of gingival tissues in animals of the experimental group (P < 0,05), indicating the prevalence of catabolic processes in the gum. Reduced height of the connective tissue papillae of the gum 0,011 ± 0,001 mm was revealed in animals of the experimental group versus 0,037 ± 0,003 mm in rats of the control group (P < 0,001). The phenomenon of fibrosis of papillary and reticular layers was determined in the lamina propria gums. Obstruction of the lumen of blood vessels and capillaries by collagen fibers and ground substance was observed. These phenomena indicate degenerative changes in the gum, and the emergence of a large number of mast cells indicates the inclusion of inflammatory mediators in the disease process.

Key words: nitric oxide, gastroduodenitis, trophic function

Поступила: 05.03.2013 г.

Контактное лицо: Романенко Елена Григорьевна, кандидат медицинских наук, ассистент, кафедра детской стоматологии, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины». Тел.: +38 0 562 27 89 88. Электронная почта: helenromanenko@mail.ru

УДК 615.322:582.949.27:581.45:547.455:547.466

О. М. Семенченко, О. О. Цуркан, О. А. Корабльова

Дослідження вмісту органічних кислот у траві деяких видів шавлії за допомогою високоефективних інструментальних методів аналізу

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

Ключові слова: органічні кислоти, метод газової хроматографії з мас-детектуванням, рідинна хроматографія, шавлія кільчаста, шавлія відхилена, шавлія лікарська

Хроматографічні методи дослідження знаходять все більше застосування у фармацевтичній практиці завдяки точності, високій відтворюваності, простоті пробопідготовки. Ці переваги виявляються незамінними при контролі якості та стандартизації рослинних лікарських препаратів різних форм. Серед хроматографічних методів високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) [1] та газова хроматографія з мас-детектуванням [2] є найефективнішими для визначення слабких органічних кислот [3].

Відомо, що органічні кислоти відіграють важливу роль в обміні речовин рослин. Вони є проміжними продуктами оксидації вуглеводів, жирів, амінокислот і білків, а також використовуються в синтезі амінокислот, алкалоїдів, стероїдів і, у такий спосіб, є проміжною ланкою між обміном вуглеводів, жирів, білків тощо. Органічні кислоти мають широкий спектр біологічної дії на організм людини.

Мета роботи – дослідження якісного складу та кількісного вмісту органічних кислот у траві шавлії кільчастої, шавлії відхиленої та шавлії лікарської методами рідинної хроматографії та газової хроматографії/мас-спектрометрії (ГХ/МС).

Матеріали та методи. Об'єктами дослідження були трава шавлії кільчастої, трава шавлії відхиленої та трава шавлії лікарської, заготовлені в червні 2012 року в фазу масового цвітіння в Національному ботанічному саду імені М. М. Гришка, м. Київ.

Дослідження органічних кислот проводили на рідинному хроматографі фірми «Agilent Technologies» (модель 1100), обладнаному діодно-матричним детектором, з використанням колонки Synergi Hydro-RP. Хроматографування проводили при довжині хвилі 210 нм, швидкості потоку 1,0 мл/хв та температурі термостату колонки 20 °С. Об'єм проби, що уводився, – 25 мкл. Як рухому фазу А використовували ацетонітрил, фазу В – 0,006 М трифтороцтову кислоту pH 2,35 у режимі градієнтного елюювання. Умови градієнтного режиму наведено нижче.

Для порівняння використовували розчини фармакопейних стандартних зразків органічних кислот.

Екстракцію повітряно-сухої сировини проводили за допомогою води дистильованої, а саме: до 0,3 г сировини додавали 10 мл води дистильованої, гомогенізували на гомогенізаторі протягом 20 хв, фільтрували через паперовий фільтр «синя стрічка».

Час, хв	Рухома фаза А, % (об/об)	Рухома фаза В, % (об/об)
0→8	100	0
8→25	100→60	0→40
25→28	60→10	40→0
28→35	100	0

© Колектив авторів, 2013

Паралельно дослідження вмісту органічних кислот проводили за допомогою газової хроматографії з мас-детектуванням. Для цього одержували метилові ефіри органічних кислот за допомогою метилюючого агента (14 % трихлорид бору (BCl3) у метанолі, Supelco 3-3033). Як внутрішній стандарт використовували тридекан.

Хімічний склад проби аналізували на хромато-мас-спектрометрі Hewlett Packard HP-6890 з мас-селективним детектором HP-5972. Розділення компонентів суміші проводили з використанням капілярної колонки HP-INNOWAX (нерухома фаза – поліетиленгліколь) – 30 м × 0,25 мм × × 0,25 мкм, швидкість потоку газуносія – 1,2 мл/хв. Об'єм проби, що уводився, становив 2 мкл в режимі splitless, тобто без розділення потоку. Температура інжектора – 250 °С. Температуру термостата програмували від 50 °С до 250 °С зі швидкістю 4 °С/хв.

Для ідентифікації компонентів використовували дані бібліотеки мас-спектрів NIST05 і WILEY 2007 з загальною кількістю спектрів понад 470000 у поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS та NIST. Вміст сполук розраховували відносно внутрішнього стандарту.

Результати та їх обговорення. Результати визначення якісного складу та кількісного вмісту органічних кислот методом рідинної хроматографії в траві шавлії кільчастої, шавлії відхиленої та шавлії лікарської наведено в таблиці 1.

У результаті досліджень встановлено наявність 5 органічних кислот у траві шавлії відхиленої та шавлії лікарської з найбільшим відсотковим вмістом фумарової, щавлевої та яблучної кислот – 40,50 %, 20,37 % та 13,96 % відповідно. У траві шавлії кільчастої встановлено наявність 4 органічних кислот, з яких найбільший вміст становила щавлева кислота – 12,56 %.

Результати визначення якісного складу та кількісного вмісту органічних кислот методом газової хроматографії з мас-детектуванням у траві шавлії кільчастої, шавлії відхиленої та шавлії лікарської наведено в таблиці 2.

У результаті досліджень встановлена наявність 23 органічних кислот у траві шавлії відхиленої, домінуючими є фумарова, щавлева, малонова та яблучна кислоти – 36,50 %, 17,29 %, 12,33 % та 10,45 % відповідно. У траві шавлії лікарської встановлена наявність 17 органічних кислот, з найбільшим умістом лимонної, яблучної та малонової кислот. Найменшу кількість органічних кислот ідентифіковано та кількісно визначено в траві шавлії відхиленої, а саме: 16 органічних кислот, домінуючими з яких є лимонна, яблучна та щавлева кислоти – 31,21 %, 20,79 % та 11,44 % відповідно.

Проведені дослідження вказують на високу кореляцію одержаних результатів методом рідинної хроматографії та методом газової хроматографії з мас-детектуванням, що свідчить про точність обох методик та про можливість їхньої взаємозамінності при визначенні якісного складу та кількісного вмісту органічних кислот у траві шавлії кільчастої, шавлії відхиленої та шавлії лікарської.

Таблиця 1

Якісний склад та кількісний вміст органічних кислот у траві досліджуваних видів шавлії (рідинна хроматографія)

№	Час утримування піків, хв	Назва компонента	Уміст органічних кислот в перерахунку на суху сировину, %		
			Шавлія відхилена	Шавлія кільчаста	Шавлія лікарська
1	3,86	щавлева кислота	20,37	12,56	5,42
2	5,15	яблучна кислота	13,96	2,77	4,29
3	10,35	фумарова кислота	40,50	2,53	0,83
4	26,52	бензойна кислота	0,25	-	0,20
5	27,91	саліцилова кислота	0,13	0,02	0,04

Таблиця 2

Якісний склад та кількісний вміст органічних кислот у траві досліджуваних видів шавлії (газова хроматографія з мас-детектуванням)

№	Час утримування піків, хв	Назва компонента	Вміст органічних кислот, %		
			шавлія відхилена	шавлія кільчаста	шавлія лікарська
1	4,80	капронова кислота	0,19	-	0,43
2	6,10	3-гексенова кислота	0,48	-	-
3	6,74	2-гексенова кислота	0,77	-	-
4	9,35	щавлева кислота	17,29	11,44	5,17
5	11,60	малонова кислота	12,33	8,19	23,02
6	12,43	фумарова кислота	36,50	0,54	6,43
7	13,41	бурштинова кислота	1,78	5,29	5,22
8	13,96	бензойна кислота	0,20	0,36	0,22
9	15,83	глютарова кислота	0,07	0,16	0,49
10	16,99	фенілоцтова кислота	0,19	-	-
11	17,05	метоксибурштинова кислота	0,17	7,62	-
12	17,28	саліцилова кислота	0,10	-	0,27
13	19,70	тартронова кислота	-	3,33	-
14	20,22	3-окси-3-метилглютарова кислота	-	0,23	-
15	21,75	яблучна кислота	10,45	20,79	23,56
16	22,12	2-оксоглютарова кислота	-	5,05	-
17	22,35	суберова кислота	0,15	-	-
18	23,14	корична кислота	0,30	-	-
19	24,30	азелаїнова кислота	0,53	-	1,01
20	28,98	лимонна кислота	9,10	31,21	26,87
21	32,01	ванілінова кислота	0,36	0,95	1,07
22	35,24	пара-оксикорична кислота	6,28	-	0,83
23	37,10	4-оксибензойна кислота	0,15	0,29	0,18
24	37,45	бузкова кислота	0,42	0,52	0,11
25	37,92	гентизинова кислота	0,19	-	0,22
26	39,83	ферулова кислота	2,00	4,03	4,89

Висновки

1. Розроблено методики визначення якісного складу та кількісного вмісту органічних кислот у траві деяких видів шавлії з використанням високоефективних інструментальних методів аналізу, а саме методу рідинної хроматографії та методу газової хроматографії з мас-детектуванням.
2. Методом газової хроматографії з мас-детектуванням встановлено більш повний склад органічних кислот в досліджуваній сировині завдяки високоефективному розподіленню компонентів складної суміші в газовій фазі та мас-спектрометрії, за допомогою якої ідентифікували як відомі, так і невідомі компоненти суміші.
3. Розроблена методика з використанням рідинної хроматографії дозволяє встановити вміст основних органічних кислот у досліджуваній сировині та придатна для рутинного аналізу, оскільки дозволяє обійтися без трудомісткої операції одержання похідних.

1. Державна фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр».– [1-е вид.].– Доп. 2.– Х. : ДП «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008.– С. 59–62.
2. Применение хромато-масс-спектрометрии для изучения компонентного состава фармакопейных видов лекарственного растительного сырья / Разживин Р. В., Решетняк В. Ю., Кузьменко А. Н. [и др.] // Вестник Московского Университета.– Сер. 2.– Химия.– 2009.– Т. 50, № 1.– С. 67–70.

3. Marc Schiller, Holger von der Heydt, Frieder Marz, Peter C. Schmidt. Quanification of sugars and organic acids in hygroscopic pharmaceutical herbal dry extracts. // Journal of Chromatography A.– 968 – 2002.– P. 101–111.
4. *Гуляев И. В.* Анализ фармацевтических веществ методами газовой хромато-масс-спектрометрии и капиллярной хромадистилляции – масс-спектрометрии: Автореф. дис. …канд. хімічн. наук.– Х., 2012.– С. 8.

О. М. Семенченко, А. А. Цуркан, О. А.Кораблева

Исследование содержания органических кислот в траве некоторых видов шалфея с помощью высокоэффективных инструментальных методов анализа

Разработаны методики идентификации и количественного определения органических кислот в траве шалфея мутовчатого, шалфея отклоненного и шалфея лекарственного. Установлен состав органических кислот в исследуемом сырье. Проведен сравнительный анализ результатов, полученных с помощью метода ВЭЖХ и ГХ-МС.

Ключевые слова: органические кислоты, метод газовой хроматографии с масс-детектированием, жидкостная хроматография, шалфей мутовчатый, шалфей отклоненный, шалфей лекарственный

O. M. Semenchenko, A. A. Tsurkan, O. A. Korableva

Determination of the organic acids in the herb of salvia verticillata, salvia patens and salvia officinalis by high effective instrumental methods of analysis

The methods for identification and quantification of organic acids in the herbs of *Salvia verticillata L.*, *Salvia patens L.* and *Salvia officinalis L.* have been developed. The composition of organic acids of the dry herbal materials has been determined. The results obtaining by HPLC and GC-MS have been compared.

Key words: organic acids, gas chromatography with mass-detection, liquid chromatography, Salvia verticillata L., Salvia patens L., Salvia officinalis L.

Надійшла: 21.02.2013 р.

Контактна особа: Семенченко Ольга Михайлівна, здобувач, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ», вул. Ежена Потьє 14, м. Київ, 03057. Тел.: +38 066 209 02 61.
Електронна пошта: o.m.semenchenko@gmail.com

УДК 615.276:615.72-002-036.8-092.9

Н. М. Серединська, Л. М. Киричок, М. А. Мохорт, Г. В. Павлюк

Порівняльна оцінка протизапальної активності німесуліду, диклофенаку та амлодипіну за ад'ювантного артриту

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

Ключові слова: німесулід, диклофенак, амлодипін, ад'ювантний артрит, протизапальна активність

Надзвичайно гетерогенним захворюванням є ревматоїдний артрит (РА), в основі патогенезу якого лежить складне, недостатньо вивчене поєднання генетично детермінованих і набутих дефектів фізіологічних імунорегулюючих механізмів, що обмежують патологічну активацію імунної системи у відповідь на потенційно патогенні, а, нерідко, і фізіологічні стимули [1–3]. Зазначене захворювання проявляється виразною запальною реакцією суглобів, больовим синдромом, зниженням рухової активності та ін. Це потребує підбору лікарських засобів різних фармакотерапевтичних груп, здатних пригнічувати запальні процеси, усувати або принаймні ослаблювати больовий синдром [4–6].

Ад'ювантна хвороба або ад'ювантний артрит (АА), викликана уведенням повного ад'юванта Фрейнда (АФ), є однією з найадекватніших моделей артритів, зокрема, РА, що використовуються в експериментальній медицині [7, 8]. По-перше, це зумовлено власне патогенезом артриту, зокрема, ревматоїдного, в основі якого лежить реакція гіперчутливості уповільненого типу і який, за сучасними уявленнями, є автоімунним захворюванням, що супроводжується сильною запальною реакцією суглобів. По-друге, ця хвороба є хронічною, фактично невиліковною, такою, що надзвичайно складно піддається фармакотерапії. По-третє, РА, як правило, супроводжується супутньою патологією, в основному, – порушеннями функціонування серцево-судинної системи, а саме: артеріальною гіпертензією, серцевою недостатністю, порушенням ритму серцевих скорочень, міокардитом тощо. По-четверте, власне РА може виникати на тлі хвороб серцево-судинної системи. По-п'яте, особливості перебігу ад'ювантної хвороби аналогічні або найбільш подібні до таких, що притаманні РА. Так, за АА також визначається переважне ураження суглобів. Характер та тривалість цих уражень подібні до таких, що спостерігаються за РА: зворотне ексудативне запалення, розвиток мукоїдного та фібриноїдного набухання з лімфогістіоцитарною інфільтрацією [8].

Для АА, як і для РА, характерні гостра та хронічна, а також рецидивуюча форми. Первинна запальна реакція характеризується почервонінням та набряком на місці уведення АФ, вона виникає через кілька годин після ін'єкції. Вторинна запальна реакція розвивається в гострому періоді запалення – (7–14) доби і характеризується системною патологією суглобів, шкіри, внутрішніх органів. Суглоби набрякають, набувають синюшного кольору, болісні на дотик, тварини стають малорухливими. Генералізований АА, починаючи з 14 доби, супроводжується запально-дистрофічними змінами в суглобах, виникнення яких пояснюють імунологічною реакцією на розповсюдження компонентів власне АФ.

Фактично в усіх клініках світу за РА застосовують нестероїдні протизапальні лікарські засоби (НПЗЛЗ), що відносяться до переліку найважливіших симптоматичних засобів, особливо при ревматичних захворюваннях, і вони є препаратами «першої лінії» [5, 6]. Обґрунтуванням для призначення препаратів цієї фармакотерапевтичної гру-пи є їхня ефективність щодо усу-

© Колектив авторів, 2013

нення болю та запалення, зумовлена здатністю пригнічувати активність циклооксигенази: ключового ферменту перетворення арахідонової кислоти на простагландини.

Зважаючи на те, що, як правило, РА супроводжується порушенням у функціонуванні серцево-судинної системи, яке в більшості випадків характеризується розвитком гіпертензії, слід до засобів терапії РА (АА) долучати антигіпертензивні препарати, зокрема, антагоністи кальцію дигідропіридинового ряду [9, 10]. До-речі, це обумовлено ще й тим, що НПЗЛЗ можуть підвищувати артеріальний тиск крові [11]. Ідея даної розробки полягає у визначенні протизапальної ефективності власне антагоністів кальцію дигідропіридинового ряду. Передбачення наявності такої активності в інгібіторів повільного кальцієвого току зумовлене фармакодинамічними властивостями препаратів цієї групи. Зрозуміло, що ступінь протизапальної активності антагоністів кальцію слід визначати за порівняльного аналізу з аналогічною активністю відомих НПЗЛЗ.

Мета дослідження – порівняльна оцінка протизапальної дії Диклофенаку (ДК), Німесуліду (НМ) та Амлодипіну (АМ) за умов їхнього застосування на моделі експериментального РА.

Матеріали та методи. Досліди проведено на статевозрілих нелінійних білих щурах обох статей з вихідною масою (164,3 ± 5,1) г, яких утримували на стандартному раціоні харчування у віварії за умов вільного доступу до їжі та води.

Після акліматизації тварин (14 діб) та рандомізації визначили групи щурів, кожна з яких включала певне число щурів кожної статі.

Досліди з вивчення фармакологічної активності НПЗЛЗ та АМ проведено на 5 групах тварин. До першої групи входили щури (група інтактних тварин), яких утримували в лабораторному приміщенні в клітках на звичайному режимі харчування за умов вільного доступу до їжі та води впродовж того самого терміну, що і тварин інших груп. До другої групи віднесено тварин контрольної групи, в яких викликали РА шляхом уведення АФ. До третьої, четвертої та п'ятої груп входили тварини, яким на тлі розвитку РА вводили ДК, НМ та АМ відповідно. Кількість тварин указана у кожному конкретному випадку на кожний термін спостереження та зазначена у відповідній таблиці.

Тест-зразок: повний Адьювант Фрейнда (АФ).

Патологічний процес – експериментальний РА (або ад'ювантний артрит – АА) викликали субплантарним уведенням в задню (ліву) кінцівку повного АФ в об'ємі 0,1 мл [8].

Досліджувані лікарські засоби: ДК, таблетки по 50 мг (виробник – ВАТ «ХФЗ «Червона зірка»); НМ, таблетки по 100 мг (Ремесулід; виробник – ВАТ «Фармак»); АМ, таблетки по 10 мг (Амлодипін-Фармак, виробник – ПАТ «Фармак»).

Вибір НПЗЛЗ обумовлений тим, що різні за хімічною будовою та селективністю відносно ЦОГ-1 та ЦОГ-2 НПЗЛЗ у різному ступені проявляють протизапальну дію на тлі патологічного процесу. Вибір Амлодипіну продиктовано широким його застосуванням як антиангінального та антигіпертензивного засобу групи дигідропіридинів третього покоління, застосування якого, вочевидь, можливе за умов поєднаної патології: РА та, наприклад, гіпертонічної хвороби.

Зазначені лікарські засоби в терапевтично ефективних дозах, запозичених з літератури (для ДК – 8 мг/кг, для НМ – 15 мг/кг, для АМ – 1,5 мг/кг маси тіла тварини), уводили через спеціальний металевий зонд у шлунок у 1 % крохмальному зависі.

Досліджувані НПЗЛЗ за умов монотерапії вводили через 60 хв після застосування АФ, а далі – щоденно, 1 раз на добу; АМ щоденно застосовували впродовж 7 діб до введення АФ, а також через 60 хв після його уведення (один день моделювання РА) і далі протягом 60 діб – щоденно, 1 раз на добу. Такий термін використання препарату є припустимим, з огляду на те, що антагоністи кальцію дигідропіридинового ряду застосовуються тривало. Крім того, вивчення протинабрякової активності лікарських засобів та прогноз

Таблиця

Протинабрякова дія (у. о.) Диклофенаку, Німесуліду та Амлодипіну за умов експериментального ревматоїдного артриту в щурів

Група тварин	Статистичний показник	Термін спостереження, доба				
		7	14	28	42	60
Інтактні	n	8	8	8	8	8
	M ± m	1,06±0,09	1,16±0,10	1,17±0,11	1,37±0,12	1,28±0,13
Ад'ювантний артрит (контроль)	n	30	30	30	30	30
	M ± m	2,14±0,12	2,25±0,15	2,15±0,15	2,12±0,16	2,0±0,15
	% до інтактних	+102	+94	+84	+55	+56
	P	≤0,05	≤0,05	≤0,05	≤0,05	≤0,05
Ад'ювантний артрит+ Диклофенак	n	27*	25*	23*	22*	22*
	M ± m	1,73±0,12	1,72±0,13	1,75±0,10	1,94±0,13	1,91±0,13
	% до контролю	-19,2	-14,7	-18,6	-8,5	-4,5
	P_1	≤0,05	≤0,05	≤0,05	≥0,05	≥0,05
Ад'ювантний артрит+ Німесулід	n	30	30	30	30	30
	M ± m	1,94±0,18	2,05±0,20	1,90±0,14	1,91±0,17	1,88±0,19
	% до контролю	-9,3	-8,8	-11,6	-9,9	-6,0
	P_1	≥0,05	≥0,05	≥0,05	≥0,05	≥0,05
Ад'ювантний артрит+ Амлодипін	n	27	27	27	27	27
	M ± m	1,97±0,19	1,65±0,18	1,90±0,19	1,84±0,17	1,69±0,17
	% до контролю	-7,9	-13,3	-11,6	-13,2	-15,5
	P_1	≥0,05	≤0,05	≥0,05	≥0,05	≥0,05
	% до Диклофенаку	+13,9	-4,1	+8,6	-5,2	-11,5
	% до Німесуліду	+1,6	-19,5	0	-3,7	-10,1

*Примітка: *Зменшення кількості щурів у групі обумовлено загибеллю тварин [12]; P – порівняно з показником у тварин інтактної групи; P_1 – порівняно з показником у тварин контрольної групи; «+» або «–» – збільшення або зменшення відсотка зміни об'єму стопи; n – кількість щурів у групі.*

їхньої клінічної активності важливіше проводити за умов саме хронічних форм запалення, зокрема, ад'ювантної хвороби, тому що найінформативнішою є вторинна реакція на АФ у вигляді генералізованого поліартриту [8].

Спостереження за тваринами 1-ї та 2-ї груп відбувалося протягом 60 діб після уведення АФ, а за тваринами, яким уводили АМ, починали спостерігати за 7 діб до уведення АФ, тобто від дня застосування АМ, і продовжували спостереження також 60 діб після моделювання патологічного процесу.

Дослідження проводили в динаміці в терміни, що відповідали певним етапам розвитку патологічного процесу. Реєстрація антиексудативної активності відбувалася до застосування АФ – вихідні дані, через 7, 14, 28, 42 та 60 діб після введення АФ. Саме протягом 7–14 доби спостерігається максимум розвитку місцевої реакції на уведення АФ; з 14 до 42 доби відбувається генералізація експериментального РА; період від 42 до 60 доби характеризується як згасання патологічного процесу, що виник за умов одноразового введення даного патогенного агента.

Протинабрякову активність АМ оцінювали за величиною (зміною) об'єму стопи, у яку було уведено АФ, та процентом зміни цього показника під впливом ДК, НМ, АМ. Реєстрацію об'єму лапи щура (в у. о.) здійснювали на плетизмометрі Ugo Basil (Італія).

Статистичну обробку результатів проводили з використанням t-критерію Ст'юдента. Дані представлені як середнє арифметичне значення та похибку середнього арифметичного (M ± m). Різницю між досліджуваними показниками вважали статистично достовірною за значення $P \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. В інтактних тварин зареєстровано фізіологічні зміни об'єму стопи щурів, обумовлені ростом упродовж двомісячного дослідження (таблиця).

Первинну ексудативну реакцію за ад'ювантної хвороби відмічали відразу (з третьої години) після введення АФ.

За умов патологічного процесу реєстрували суттєве збільшення об'єму ушкодженої (лівої) стопи щурів, починаючи з першої доби після введення АФ; уже на 7 добу об'єм стопи, визначений в у. о., збільшився на 102 % відносно цього показника в інтактних тварин, і залишався суттєво більшим упродовж усього терміну спостереження.

Навіть у період згасання патологічного процесу об'єм стопи був на 56 % більшим, ніж у інтактних щурів. Приріст об'єму стопи (Δ) зріс через 7 діб після ураження на 98,2 % і залишався підвищеним на 75,5 % наприкінці терміну спостереження (60 доба).

Значно знижувався приріст об'єму стопи за умов застосування ДК, починаючи з перших діб після введення АФ. Найсуттєвішу протизапальну (протинабрякову) дію ДК проявляв упродовж 28 діб спостереження, про що свідчило зменшення об'єму стопи на (14,7–19,2) % відносно показника у тварин контрольної групи. Ефективність ДК значно знижувалася на 42 та 60 доби спостереження, доказом чого було зменшення об'єму стопи лише на (4,5–8,5) % відносно цього показника в нелікованих тварин.

Зміни об'єму стопи за умов монотерапії НМ суттєво відрізнялися (були меншими) від таких, що відмічалися під впливом ДК у гострий період та в період маніфестації захворювання, і становили (8,8–11,6) %. Це свідчить про те, що протинабрякова активність НМ була стабільно нижчою за активність ДК упродовж 28 діб спостереження, водночас дещо перевищувала таку в період згасання патологічного процесу.

Таким чином, визначено, що ДК проявляє більш виражену протинабрякову активність, ніж НМ в період маніфестації експериментального РА. У період згасання даного патологічного процесу протинабрякова активність НМ зростає й перевищує таку, що властива ДК, відомостей про що не знайдено в доступній літературі.

З нашої точки зору, надзвичайно цікавим є вперше встановлений факт досить високої протинабрякової активності АМ, яка впродовж 28 діб після введення АФ, фактично, не відрізнялася від такої, притаманної НМ. На 14 та 28 доби спостереження АМ зменшував об'єм стопи щурів на 13,3 та на 11,6 % відповідно. Надалі, у період згасання патологічного процесу, АМ також проявляв досить високу протинабрякову активність, зменшуючи об'єм стопи на (13,2–15,5) % у більшому ступені, ніж ДК – на (4,5–8,5) % та НМ – на (6,0–9,9) %.

Дані результати можуть бути підґрунтям для вибору протинабрякового засобу на різних етапах розвитку РА.

Висновки

1. Уперше виявлено протинабрякову дію Амлодипіну за ад'ювантного артриту, що може бути обґрунтуванням для можливого його застосування за терапії ревматоїдного артриту, як протинабрякового засобу, особливо в період згасання патологічного процесу.
2. Найбільшу протинабрякову дію Диклофенак проявляв упродовж 28 діб спостереження. У період маніфестації експериментального ревматоїдного артриту більш виражена протинабрякова активність у Диклофенаку, у період згасання патологічного процесу протинабрякова активність Німесуліду перевищувала таку, що властива Диклофенаку.
3. Німесулід та Амлодипін протягом 28 діб спостереження проявляють рівнозначну протинабрякову активність, у період згасання патологічного процесу протинабрякова дія Амлодипіну вища за таку, що властива Диклофенаку та Німесуліду.

1. *Малий М.* Сучасні підходи до лікування ревматоїдного артриту / Малий М. // Здоровье Украины.– 2010.– № 8 (237).– С. 57 –66.
2. *Шишкова К. В.* Особливості функціонального стану серцево-судинної системи хворих на ревматоїдний артрит, поєднаний з ішемічною хворобою / Шишкова К. В. // Укр. Мед. альманах.– 2009.– Т. 12, № 6.– С. 219–221.
3. Differences in atherosclerotic coronary heart disease between subjects with and without rheumatoid arthritis / Aubry M. C., Maradit-Kremens H., Reinalda M. S. [et al.] // J. Reumatol.– 2007.– V. 34.– P. 937–942.

4. Оценка частоты развития побочных эффектов при длительном использовании нимесулида в реальной клинической практике / Каратеев А. Е., Алексеева Л. И., Братыгина Е. А., Аширова Т. Б. // РМЖ.– 2009.– Т. 17, № 21.– С. 1466–1471.
5. *Каратеев А. Е.* Применение нимесулида в ревматологии / Каратеев А. Е. // Трудный пациент.– 2010.– № 6–7.– С. 24–29.
6. Применение нестероидных противовоспалительных препаратов: Клинические рекомендации / А. Е. Каратеев, Н. Н. Яхно, Л. Б. Лазебник [и др.].– М.: ИМА-ПРЕСС, 2009.– 167 с.
7. *Bendele A. M.* Animal models of rheumatoid arthritis / Bendele A. M. // J. Musculoskel. Neuron Interact.– 2001.– V. 1, № 4.– P. 377–385.
8. *Саратиков А. С.* Адъювантная болезнь (морфология, патогенез, экспериментальная терапия) / Саратиков А. С., Венгеровский А. И., Прищеп Т. П.– Томск, 1983.– 104 с.
9. *Ежов М. В.* Артериальная гипертония и применение нестероидных противовоспалительных препаратов: преимущество амлодипина / Ежов М. В. // Consilium medicum. Артериальная гипертензия.– 2005.– Т. 11, № 4.– С. 8–17.
10. *Liebson P. R.* Блокаторы кальциевых каналов в спектре антигипертензивных средств / Liebson P. R. // Expert. Opin Pharmacother.– 2008.– V. 17, № 7.– P. 2385–2401.
11. Порівняльна характеристика кардіотропної дії диклофенаку та німесуліду за умов ад'ювантного артриту в щурів / Мохорт М. А., Серединська Н. М., Омельяненко З. П. [та ін.] // Фармакол. та лікарська токсикол.– 2012.– № 5 (30).– С. 44–49.
12. Динаміка інтегральних показників життєдіяльності білих щурів з експериментальним ревматоїдним артритом за умов моно- та комплексного застосування нестероїдних протизапальних лікарських засобів і антагоніста кальцію / Мохорт М. А., Серединська Н. М., Киричок Л. М. [та ін.] // Фармакол. та лікарська токсикол.– 2012.– № 4 (29).– С. 32–39.

Н. Н. Серединская, Л. М. Киричок, Н. А. Мохорт, А. В. Павлюк

Сравнительная оценка противовоспалительной активности нимесулида, диклофенака и амлодипина при адъювантном артрите

На модели ревматоидного артрита у крыс, вызванном однократным субплантарным введением полного адъюванта Фрейнда, показано противовоспалительное действие нестероидных противовоспалительных средств Диклофенака и Нимесулида. Впервые установлен факт достаточно высокой противоотечной активности антагониста кальция дигидропиридинового ряда Амлодипина. Проведен сравнительный анализ степени противоотечного эффекта указанных лекарственных средств. Установлено, что в течение 28 суток наблюдения степень противоотечной активности Нимесулида и Амлодипина аналогична, в период угасания патологического процесса противоотечное действие Амлодипина выше, чем таковое, свойственное и Диклофенаку, и Нимесулиду.

Ключевые слова: нимесулид, диклофенак, амлодипин, адъювантный артрит, противовоспалительная активность

N. N. Seredinskaya, L. M. Kirychok, N. A. Mohort, A. V. Pavluk

Comparison of the antiinflammatory activity of Nimesulide, Diclofenac and Amlodipine under condition of adjuvant arthritis

On rats under adjuvant arthritis model induced by a single injection of Freund's complete adjuvant subplantarly has been shown the antiinflammatory action of the NSAIDs Diclofenac and Nimesulide. There has been first established a sufficiently high antiedematous activity of Ca^{2+} antagonist Amlodipine. The comparative analysis of the degree of antiedematous effects of these drugs has been carried out. Within 28 days of observation the degree of the antiedematous activities of Nimesulide and Amlodipine was similar while during the remission period of the pathological process the antiedematous action of the Amlodipine was higher than that of Diclofenac and Nimesulide.

Key words: adjuvant arthritis, Amlodipine, Nimesulide, Diclofenac, antiinflammatory activity

Надійшла: 01.04.2013 р.

Контактна особа: Серединська Н. М., ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Ежена Потьє, м. Київ, 03680. Тел.: +38 0 44 456 42 56.

УДК 615.2-616.006

Н. І. Шарикіна, О. О. Хавич, Т. А. Карацуба, С. І. Пенделюк, Н. О. Мєшкова, В. В. Захаренко

Вплив адренергічних засобів на пухлинний ріст та протипухлинну дію Хлофідену

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

Ключові слова: селективні та неселективні адренергічні препарати, Хлофіден, експериментальний пухлинний ріст

Як відомо, адренорецептори здійснюють впізнавання адреналіну (α_1-, α_2-, β_1-, β_2-адреноміметик), норадреналіну (α_1-, α_2-, β_1-адреноміметик) та інших адренергічних засобів (α_{1A}-, α_{1B}-, α_{1D}-, α_{2A}-,α_{2C}-; β_1-, β_2-, β_3-міметики) з передачею сигналів на різні структури органів та тканин [1–10].

З 70-80-х років минулого століття значна кількість таких робіт стосувалася пухлинного росту [11–22, 24, 26, 27]. Відмічено наявність α- і β-адренорецепторів в асцитній пухлині Ерліха, β_1- і β_2-адренорецепторів у клітинах щурячої гліоми C_6 [19]. Стимуляція останніх катехоламінами призводила до накопичення цАМФ [17, 23]. Кількість β-адренорецепторів була вищою в клітинах доксорубіцинчутливої лімфоїдної лейкемії Р-388 порівняно з лейкемією доксорубіцинстійкою [18].

Вивчення впливу адренергічних засобів на пухлинний ріст виявило здатність до гальмування пухлинного росту (саркома 180) у α_1-адреноблокатора тропафену та симпатолітика резерпіну [15], α-адреноблокатора фентоламіну і центрального α-адреноблокатора галоперидолу [16, 20]. Адреналін пригнічував ріст аденокарциноми прямої кишки, а β-адреноблокатор пропранолол стимулював ріст цієї пухлини [16]. Стимуляцію пухлинного росту відмічено при застосуванні β_1-адреноблокатора атенололу [17]. Ізопротеренол та інші агоністи β_1- і β_2-адренорецепторів, аналогічно адреналіну, призводили до накопичення цАМФ у клітинах гліоми C_6 [10, 23].

© Колектив авторів, 2013

Важливою є здатність адренергічних засобів посилювати протипухлинну дію традиційних цитостатиків. Ця можливість продемонстрована щодо адреналіну, який при сумісному застосуванні з дипіном [12], хлорбутином [13], лейкоефдином [15], циклофосфамідом [7, 11] призводив до посилення протипухлинної дії зазначених протипухлинних засобів в експериментах.

Перша публікація зазначеної спрямованості від ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» з'явилася в 1995 році в конкурсних проектах НДР Державного фонду фундаментальних досліджень [21].

Мета роботи – дослідження неселективних та селективних адренергічних засобів як препаратів супроводу при пухлинній хворобі та цитостатичній фармакотерапії.

Матеріали та методи. Вивчення протипухлинної дії адренергічних засобів проведено відповідно до прийнятих в Україні методичних підходів [25]. Моделями злоякісного росту були саркома 180 мишей, карцинома Герена та лімфосаркома Пліса щурів. Саркома 180 виникла спонтанно в білої миші-самця в 1914 році в Крокерівському інституті США. Вона перевивається підшкірним уведенням пухлинної суспензії нелінійним мишам. Уведення препаратів розпочинали через 24 год або на 4 день після трансплантації пухлин. Параметром ефекту є відсоток гальмування росту пухлин за об'ємом або масою (мінімальний критерій активності – гальмування росту пухлин на 50 %).

Карцинома Герена була отримана в 1934 році перевиванням спонтанної аденокарциноми матки щура. Вона перевивається пухлинною суспензією нелінійним щурам. Лікування розпо-

чинали на 4 добу після трансплантації пухлин. Параметром ефекту є відсоток гальмування росту пухлин за об'ємом або масою (мінімальний критерій активності – гальмування росту пухлин на 70 %).

Лімфосаркома Пліса була отримана в 1958 році в НДІ онкології Г. Б. Плісом у щура, якому вводили 3,3-дихлорбензидин. Вона перевивається пухлинною суспензією нелінійним щурам. Уведення препаратів розпочинали через 24 год після трансплантації пухлин. Параметром ефекту є відсоток гальмування росту пухлин за об'ємом або масою (мінімальний критерій активності – гальмування росту пухлин на 40–50 %). Гальмування росту пухлин (Г) визначається за формулою:

$$Г = \frac{\text{об'єм пухлин у контролі} - \text{об'єм пухлин у досліді}}{\text{об'єм пухлин у контролі}} \cdot 100\ \%\ [25].$$

Препарати використовували в дозах, адекватних таким у людини (одержані шляхом зворотної екстраполяції доз з людини на тварину) [28].

Одержані результати статистично оброблялися з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення. Відповідно до зазначених даних літератури відмічена висока протипухлинна дія адреналіну гідрохлориду в дозі 1,2 мг/кг (87,5 % гальмування росту саркоми 180). При зменшенні разових доз протипухлинна дія значно зменшувалася (табл. 1). Особливо високі показники протипухлинної дії зареєстровані в перші 4 дні після щоденного введення адреналіну (табл. 2) – > 90 % гальмування пухлинного росту. При цьому комбіноване використання адреналіну гідро-

Таблиця 1

Вплив адреналіну гідрохлориду на ріст саркоми 180 (початок введення препаратів через 24 год після трансплантації пухлин)

Група	Середній об'єм пухлин, см^3 (M±m)	Гальмування росту пухлин, %
Адреналіну гідрохлорид, 1,2 мг/кг через 24 год, 10 введень (n = 8)	0,30 ± 0,01 *	87,50 %
Адреналіну гідрохлорид, 1,0 мг/кг через 24 год , 10 введень (n =8)	1,70 ± 0,06 *	29,20 %
Адреналіну гідрохлорид, 0,8 мг/кг через 24 год, 10 введень (n = 8)	2,10 ± 0,07 *	12,50 %
Контроль (n = 20)	2,40 ± 0,08	-

*Примітка. Тут і в табл. 2–7: * P < 0,05 порівняно контрольною групою.*

Таблиця 2

Вплив адреналіну гідрохлориду на ріст саркоми 180 та протипухлинну активність Хлофідену (початок введення препаратів через 24 год після трансплантації пухлин)

Група	Середній об'єм пухлин, см^3 (M ± m) Гальмування росту пухлин, %	
	4 доба після трансплантації пухлин	8 доба після трансплантації пухлин
Хлофіден, 60,0 мг/кг через 48 год, 5 введень (n = 8)	0,010 ± 0,001 * 94,40 %	0,30 ± 0,01 * 83,3 %
Адреналіну гідрохлорид, 1,2 мг/кг через 24 год, 10 введень (n = 8)	0,020 ± 0,001 * 91,30 %	1,07 ± 0,05 * 58,3 %
Адреналіну гідрохлорид, 1,2 мг/кг через 24 год, 10 введень + Хлофіден, 60,0 мг/кг через 48 год, 5 введень (n = 8)	0,020 ± 0,001 * 91,30 %	0,40 ± 0,01 * 87,5 %
Контроль (n = 16)	0,23 ± 0,01	2,40 ± 0,08

хлориду з цитостатиком Хлофіденом підвищувало протипухлинну дію останнього (8 день після трансплантації).

Аналогічні результати були одержані на лімфосаркомі Пліса: зниження протипухлинної дії після 12 введень адреналіну гідрохлориду та здатність адреналіну гідрохлориду підвищувати протипухлинну активність Хлофідену (табл. 3).

Показники протипухлинної дії селективних та неселективних відносно адренорецепторів лікарських засобів наведено в таблиці 4. З отриманих результатів видно, що адреналіну і норадреналіну гідрохлориди проявляють значну активність (61,2 %, 64,9 % гальмування росту пухлин за масою). Аналогічну дію має і β_1-, β_2-адреноміметик астмопент (63,9 %). Більш виражену активність виявлено у β_2-адреноміметика сальбутамолу (70,2 %) та β_1-адреноміметика добутаміну (96,2 %). Протипухлинна активність α_1- та α_2-адреноміметиків низька (мезатон – 8,4 %, клофелін – 11,4 %).

α-Адреноміметики мезатон та клофелін зменшували протипухлинну дію Хлофідену (табл. 5, 6). Дуже важливим спостереженням є здатність α_2-адреноміметика клофеліну стимулювати пухлинний ріст (+9,7 %).

У α- та β-адреноблокаторів (селективних та неселективних) зареєстровано значну протипухлинну дію: α_1-адреноблокатор празозин – 76,6 %, α_2-адреноблокатор йохімбін – 88,6 %, β_1-, β_2-адреноблокатор обзидан – 89,6 %, β_1-адреноблокатор атенолол – 87,0 %. α_1-, α_2-адреноміметик дигідроерготамін

Таблиця 3

Вплив адреналіну гідрохлориду на ріст лімфосаркоми Пліса та протипухлинну активність Хлофідену (початок введення препаратів через 48 год після трансплантації пухлин)

Група	Середня маса пухлин, г (M ± m)		Гальмування росту пухлин, %
	контрольна група (n = 12)	дослідна група (n = 10)	
Хлофіден, 60,0 мг/кг через 48 год, 6 введень	23,9 ± 3,0	10,6 ± 0,8 *	55,60 %
Адреналіну гідрохлорид, 1,0 мг/кг через 24 год, 12 введень	24,7 ± 2,5	20,7 ± 5,2	16,20 %
Адреналіну гідрохлорид, 1,0 мг/кг через 24 год, 12 введень + Хлофіден, 60,0 мг/кг через 48 год, 6 введень	23,9 ± 3,0	0,7 ± 0,8 *	97,10 %

Таблиця 4

Вплив адреноміметиків на пухлинний ріст у мишей-носіїв саркоми 180 (початок введення препаратів на 4 добу після трансплантації пухлин)

Група	Середня маса пухлин, г (M ± m)	Гальмування пухлинного росту, %
Адреналіну гідрохлорид, 1,2 мг/кг через 24 год, 6 введень (n = 6)	1,16 ± 0,05 *	61,20 %
Норадреналіну гідрохлорид, 2,0 мг/кг через 24 год, 6 введень (n = 6)	1,05 ± 0,03 *	64,90 %
Мезатон, 12,0 мг/кг через 24 год, 6 введень (n = 6)	2,74 ± 0,09 *	8,40 %
Клофелін, 0,025 мг/кг через 24 год, 6 введень (n = 6)	2,65 ± 0,09 *	11,40 %
Астмопент, 3,3 мг/кг через 24 год, 6 введень (n = 6)	1,08 ± 0,04 *	63,90 %
Добутамін, 63,0 мг/кг через 24 год, 6 введень (n = 6)	0,11 ± 0,01 *	96,20 %
Сальбутамол, 0,7 мг/кг через 24 год, 6 введень (n = 6)	0,88 ± 0,03 *	70,20 %
Контроль (n = 21)	2,99 ± 0,11	-

Таблиця 5

Вплив α_1-адреноміметика мезатону на пухлинний ріст і протипухлинну активність Хлофідену в мишей-носіїв саркоми 180 (початок уведення препаратів через 24 год після трансплантації)

Група	Середній об'єм пухлин, см^3 (M ± m)	Гальмування пухлинного росту, %
Хлофіден, 60 мг/кг через 48 год, 5 введень (n = 8)	1,70 ± 0,05 *	29,20 %
Мезатон, 12,0 мг/кг через 24 год,10 введень (n = 8)	1,00 ± 0,01 *	58,30 %
Мезатон, 4,0 мг/кг через 24 год, 12 введень + Хлофіден, 60 мг/кг через 48 год, 5 введень (n = 8)	1,40 ± 0,04 *	41,70 %
Контроль (n = 20)	2,40 ± 0,08	-

Таблиця 6

Вплив α_2-адреноміметика клофеліну на пухлинний ріст і протипухлинну дію хлофідену в мишей-носіїв саркоми 180 (початок уведення препаратів через 24 год після трансплантації)

Група	Середній об'єм пухлин, см^3 (M ± m)	Гальмування пухлинного росту, %
Клофелін, 0,04 мг/кг через 24 год, 10 введень (n = 8)	2,13 ± 0,19	+9,70 %
Клофелін, 0,04 мг/кг через 24 год, 10 введень + Хлофіден, 60,0 мг/кг через 48 год, 5 введень (n = 8)	1,87 ± 0,06	3,60 %
Контроль (n = 12)	1,94 ± 0,01	-

Таблиця 7

Вплив адренергічних засобів на пухлинний ріст у мишей-носіїв саркоми 180 (початок уведення препаратів на 4 добу після трансплантації пухлини)

Група	Середня маса пухлин, г (M ± m)	Гальмування пухлинного росту, %
Дигідроерготамін, 0,4 мг/кг через 24 год, 6 введень (n = 6)	1,03 ± 0,03 *	65,60 %
Празозин, 0,08 мг/кг через 24 год, 6 введень (n = 6)	0,70 ± 0,03 *	76,60 %
Йохімбін, 0,8 мг/кг через 24 год, 6 введень (n = 6)	0,34 ± 0,01 *	88,60 %
Обзидан, 7,0 мг/кг через 24 год, 6 введень (n = 6)	0,31 ± 0,01 *	89,60 %
Атенолол, 8,0 мг/кг через 24 год, 6 введень (n = 6)	0,39 ± 0,01 *	87,00 %
Контроль (n = 21)	2,99 ± 0,11	-

також викликав 65,6 % гальмування росту пухлин за масою (табл. 7).

Отримані дані щодо впливу адренергічних засобів на ріст саркоми 180 проаналізовано для виявлення переважних ланок адренергічних впливів.

Висновки

З отриманих результатів видно, що адреналін і норадреналін мали однакову активність. Протипухлинна дія α-адреноміметиків була нижчою (мезатон, клофелін), а β-адреноміметиків перевищувала показники дії адреналіну гідрохлориду. Особливо висока активність була відмічена в β_1-адреноміметика добутаміну, що вказує на чутливість пухлини до β_1-адренергічної стимуляції.

Зазначені матеріали опубліковані в різних виданнях [18, 29] з акцентом на можливість стимуляції пухлинного росту та зниження протипухлинної дії цитостатиків мезатоном та клофеліном в плані застереження щодо їхнього використання в онкологічній практиці.

1. *Wikberg J. E.* Adrenergic receptors: classification, ligand binding and molecular properties / Wikberg J. E. // Acta Med Scand Suppl.– 1982.– № 665.– P. 19–36.
2. *Graham R. M.* Adrenergic receptors: structure and function / Graham R. M. // Cleve Clin J. Med.– 1990.– V. 5, № 57.– P. 481–491.
3. Химия биорегуляторных процессов: под ред. В. П. Кухаря и А. И. Луйка; АН УССР. Ин-т биоорганической химии и нефтехимии.– К.: Наукова думка, 1991.– 368 с.
4. *Сергеев П. В.* Рецепторы физиологически активных веществ: монография / П. В. Сергеев, Н. Я. Шимановский, В. И. Петров.– Волгоград: Семь ветров, 1999.– 640 с.
5. *Wikberg J. E.* The farmacological classification of adrenergic α_1- and α_2-receptors and the mechanisms of action / J. E. Wikberg.– Linkoping, 1979.– 99 p.
6. *Exton J. H*. Molecular mechanism involved in α-adrenergic receptors / Exton J. H. // Molec Cell Endocr.– 1981.– V. 23.– P. 233–264.
7. *Stiles G. L.* β-Adrenergic receptors biochemical mechanisms of physiological regulation / G. L. Stiles, M. G. Caren, B. J. Lelkowith // Physiol Rews.– 1984.– V. 64.– P. 661–743.
8. *Hoffman B. B.* Rachioligand binding studies of adrenergic receptor new insights into molecular and physiological regulation / B. B. Hoffman, R. I. Letkowith // Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.– 1980.– V. 20.– P. 581–608.
9. *Козлов А. Г.* Адренергическая регуляция: молекулярные механизмы / А. Г. Козлов.– К.: Техника, 1993.– 160 с.
10. *Kami H.* Antitumor activity of dopa, dopamine, noradrenalin and reaction with nucleic acid / H. Kami, H. Muracami, M. Shinosuka // Z. creb. Forsch.– 1970.– V. 73, № 3.– P. 195–203.
11. *Преснова Ж. Ф.* Изменение противоопухолевой активности тиофосфамида с помощью адреналина в эксперименте / Ж. Ф. Преснова, В. А. Чернов // Бюлл. экспер. биол. и медицины.– 1964.– № 10.– С. 90–97.
12. *Чернов В. А*. Влияние адреналина на противоопухолевую активность дипина у интактных и тиреоидэктомированных крыс / В. А. Чернов, С. М. Минакова // Вопросы онкологии.– 1971.– Т. 17, № 1.– С. 62–66.
13. *Кравченко А. И.* Влияние ДОКА и адреналина на противоопухолевую активность хлорбутина / Кравченко А. И. // Вопросы онкологии.– 1971.– Т. 17, № 5.– С. 69–73.
14. *Хананаев Л. И.* О влиянии адреналина и циклофосфамида на рост и кровоснабжение экспериментальной карциномы Герена / Л. И. Хананаев, С. А. Фицыч // Бюлл. экспер. биол. и медицины.– 1975.– Т. 29, № 3.– С. 83–84.
15. *Верменичев С. В.* Влияние адреналина на противоопухолевую активность лейкоэфдина / С. В. Верменичев, О. К. Кабиев // Труды Казахского НИИ онкологии и радиологии.– 1977.– Т. 12.– С. 30 –34.
16. *Tutton I. M.* The influence of biogenic amines on cell proliferation in colonic crypt epithelium and colonic adenocarcinoma / J. M. Tutton, D. H. Berkina // J. Anat.– 1977.– V. 124, № 2.– P. 518.
17. *Birnbaumer L.* Dual coupling mechanism in the regulation of cAMP formulation / Birnbaumer L. // The role of receptors in biology and medicine: Symp.– Brussels, 1984.– P. 193–211.
18. β-Adrenergic influences on doxorubicin-sensitive or resistant P388 leukemia cells / C. D'amico, M. Crescimanno, M. Armata [et al.] // Anticancer Research.– 1992.– V. 12, № 6b.– P. 2253–2256.
19. Изучение роли адренорецепторов асцитной карциномы Эрлиха в регуляции пролиферативных процессов в ней адренергическими лигандами / Д. С. Гембицкий, А. И. Антохин, Н. Я. Попова, Ю. А. Романов // Бюлл. экспер. биол. и медицины.– 1995.– Т. 120, № 11.– С. 525–528.
20. Inhibition by haloperidol of adenosine 5^1-triphosphate evoked responses in rat pheochromocytoma cells / S. Koizumi, M. Ikeda, K. Nakazawa [et al.] // Biochem. and biophys. res. commun.– 1995.– V. 210, № 2.– P. 624–630.
21. Вплив стану нейромедіаторних систем на пухлинний ріст і ефективність протипухлинних та протиметастазних засобів / Н. І. Шарикіна, В. М. Овруцький, Л. О. Громов [та ін.] // Конкурсні проекти науково-дослідних робіт 1994–1995 рр. Анотації, Київ, 1995, розділ 5 (5.3/313 «Біологія»).
22. *Адо А. Д.* Возможность взаимодействия β-адренергических и м-холинергических рецепторов на лимфоцитах мышей / А. Д. Адо, М. М. Гольдштейн, С. А. Кравченко // Иммунология.– 1996.– № 5.– С. 71–72.
23. *Zong H.* Inducible expression of β_1- and β_2-adrenergic receptors in rat C6 glioma cells: functional interactions between closely related subtypes / H. Zong, S. W. Guerrero, T. A. Esbensohade [et al.] // Mol. Pharmacology.– 1996.– V. 50, № 1.– P. 175–184.
24. Влияние адреномиметиков на опухолевый рост / Т. А. Карацуба, Н. И. Шарыкина, В. Г. Белявский [и др.] // Сб. матер. VIII Рос. Нац. конгресса «Человек и Лекарство».– Москва, 2-6 апреля 2001.– С. 305.
25. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації; За ред. О. В. Стефанова.– К.: Авіцена, 2001.– 527 с.
26. *Шарыкина Н. И.* Влияние верапамила на опухолевый рост и процессы метастазирования / Н. И. Шарыкина, Т. А. Карацуба // Матер. X Рос. Нац. конгресса «Человек и Лекарство».– Москва, 7–11 апреля 2003.– С. 768.

27. *Шарыкина Н. И.* Влияние прозерина, атропина сульфата на рост и противоопухолевую активность цитостатика хлофидена / Н. И. Шарыкина, А. Н. Пуськов, Г. П. Павловская // Тезисы XI Рос. Нац. конгресса «Человек и Лекарство».– Москва, 19–23 апреля 2004.– С. 850.
28. Застосування методів швидкої екстраполяції у фармакологічних дослідженнях / В. М. Шумейко, Н. І. Шарикіна, О. О. Хавич [та ін.] // Фарм. та лік. токс.– 2009.– № 4.– С. 39–41.
29. *Шарикіна Н. І.* Здатність $Д_2$-дофаміноміметика Бромокриптину (Парлоделу) стимулювати пухлинний ріст / Н. І. Шарикіна, О. О. Хавич // Інформаційний лист про нововведення в систему охорони здоров'я.– № 85.– 2012.– 3 с.

Н. И. Шарыкина, О. А. Хавич, Т. А. Карацуба, С. И. Пенделюк, Н. А. Мешкова, В. В. Захаренко

Влияние адренергических средств на опухолевый рост и противоопухолевое действие Хлофидена

Показано, что адреналина и норадреналина гидрохлориды проявляют в эксперименте (саркома 180) значительную противоопухолевую активность, которая снижена до слабой у α_1- и α_2-адреномиметиков мезатона и клофелина. Последние могут снимать противоопухолевый эффект цитостатика хлофидена и стимулировать опухолевый рост (клофелин). β_1- и β_2-Адреномиметики добутамин и сальбутамол проявляют более высокую противоопухолевую активность, чем адреналина и норадреналина гидрохлориды. Считается, что наибольшее воздействие на противоопухолевую активность имеет взаимодействие лигандов с β_1-адренорецепторами.

Ключевые слова: селективные и неселективные адренергические препараты, Хлофиден, экспериментальный опухолевый рост

N. I. Sharykina, O. O. Khavych, T. A. Karazuba, S. I. Pendelyuk, N. O. Meshkova, V. V. Zakharenko

The influence of adrenergic drugs on tumor growth and antitumor activity of Chlofiden

It was shown that adrenalini hidrochloridum and noradrenalini hidrochloridum have high antitumor activity on sarcoma 180, such activity of α_1- and α_2-adrenomimetics dobutaminum and salbutamolum is even higher and β_1- and β_2-adrenomimetics mesatonum and clophelinum reduce antitumor activity of cytostatic chlofiden.

Key words: selective and non-selective adrenergic preparations, chlofiden, experimental tumor growth

Надійшла: 27.11.2012 р.

Контактна особа: Шарикіна Н. І., доктор медичних наук, професор, відділ онкофармакології, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Ежена Потьє, м. Київ, 03680. Тел.: +38 0 44 456 42 56.

УДК 612.176 + 577.115.3

А. М. Шиш, С. Б. Французова, В. С. Нагибін, О. О. Мойбенко

Механізми кардіопротекторного ефекту омега-3 поліненасичених жирних кислот при гострому ушкодженні міокарда за умов іммобілізаційного стресу

Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України, м. Київ

Ключові слова: серце, омега-3 поліненасичені жирні кислоти, стрес

Останніми роками все більше уваги приділяється дослідженню ролі ендогенних механізмів захисту міокарда при патології серця. До таких мембранозв`язаних ендогенних факторів слід віднести омега-3 поліненасичені жирні кислоти (ω-3 ПНЖК), що мають добре виражені кардіпротективні властивості [24, 28]. Дані літератури свідчать, що ω-3 ПНЖК уповільнюють розвиток атеросклерозу, зменшують імовірність розвитку інфаркту міокарда за рахунок гіполіпідемічних, антиоксидантних, антиагрегантних, протизапальних властивостей [19, 25, 29]. Крім того, ω-3 ПНЖК мають гіпотензивну та антиаритмічну дію, знижуючи чутливість до агоністів адренорецепторів [13, 14, 19, 23]. Останнє має суттєве значення в терапії хворих похилого й старечого віку, виходячи з існуючих сьогодні уявлень про підвищення чутливості серцево-судинної системи осіб цієї вікової групи до катехоламінів (КА) (норадреналіну, адреналіну), що за умов використання навіть менших доз призводить до значних зсувів судинного тонусу, артеріального тиску, показників гемодинаміки [2].

Відомо, що стресорні впливи є важливими факторами розвитку серцево-судинної патології, тому вивчення дії препаратів, що містять ω-3 ПНЖК та можуть застосовуватися з профілактичною метою за умов гострого стресорного пошкодження серця, становить особливий інтерес. Ішемія та інфаркт міокарда викликають стрес та активують симпатичну нервову систему, підвищуючи продукцію катехоламінів [5, 8, 16]. У результаті виникає гіпертензія, енергетичний дефіцит міокарда, схильність до виникнення аритмій серця, активація процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), що призводить до тяжких порушень стану серцево-судинної системи та життєво важливих функцій [8, 12]. Рівень активних форм кисню, що перевищує захисні можливості клітини, викликає суттєві клітинні порушення – зниження енергетичного потенціалу та як результат руйнування клітини. Залежно від інтенсивності стресу клітини можуть загинути як шляхом апоптозу, коли внутрішній вміст клітини деградує до нетоксичних продуктів, так і в результаті некрозу, коли сила оксидативного стресу занадто велика. При некрозі клітинна мембрана руйнується та вміст клітини вивільнюється в оточуюче середовище, що в результаті може пошкодити оточуючі клітини й тканини.

Відомо, що вільні радикали окиснюють фосфоліпіди та білки клітинних мембран, порушуючи їхню цілісність, інактивують клітинні та мембранні ферменти [4, 7, 21], що є одним із найважливіших патогенетичних механізмів, пов`язаних з процесами вільнорадикального окиснення.

Питання про патогенез суто стресорних ушкоджень міокарда дотепер залишається відкритим. Ряд дослідників вважають, що одним із факторів ушкодження органів та тканин у подібних ситуаціях поряд із значним енергетичним дефіцитом є дисбаланс синтезу та розпаду білків з перевагою катаболічних процесів [9]. Як фактори, що призводять до цього, розглядають гіперактивацію симпато-адреналової систе-

© Колектив авторів, 2013

ми та порушення балансу «анаболічних» і «катаболічних» гормонів. Тому зменшення реактивності серця до адренергічної стимуляції є механізмом кардіопротекції, зокрема, досвід клініцистів свідчить про позитивний ефект β-адреноблокаторів при гострій коронарній патології та інфаркті міокарда [2, 8, 26].

Відомо, що адренореактивні системи здатні динамічно змінюватися під впливом таких факторів, як гіпоксія, коливання температури, метаболічної активності, гормонального статусу, при вікових змінах, впливі канцерогенів і ін. [8, 9, 26]. Помічено також, що вплив кожного з цих факторів опосередкований порушенням фосфоліпідного складу мембран. Здається важливою можливість впливу на вегетативну регуляцію судин, коли корекція судинного тонусу відбувається за рахунок зміни чутливості рецепторного апарату, а не завдяки короткочасному ефекту екзогенних катехоламінів. Нині необхідним вважається пошук лікарських засобів, що взаємодіють не з лігандзв`язуючими ділянками адренореактивних систем, а з іншими структурами (наприклад, фосфоліпідним компонентом мембран), що впливають на їхнє функціонування.

Не дивлячись на широке застосування ω-3 ПНЖК, механізми кардіопротекції, зумовленої модифікацією жирнокислотного складу фосфоліпідних мембран, недостатньо з'ясовані та залишаються предметом інтенсивного вивчення натепер. У літературі відсутні дані щодо питання, яким чином впливає модифікація жирнокислотного складу клітинних мембран при застосуванні ω-3 ПНЖК за умов дії стресорних факторів на реакції серця. Отже, з`ясування цього питання має особливий інтерес.

Мета дослідження – виявлення впливу модифікації жирнокислотного складу клітинних мембран за допомогою Епадолу (ω-3 ПНЖК) на характер гострого стресорного пошкодження міокарда.

Матеріали та методи. Для експериментів використовували самців щурів лінії Вістар масою 280–300 г. Тварин було розподілено на 3 групи по 10 тварин у кожній: 1 група (контроль) – інтактні тварини, що утримувалися на стандартному раціоні віварію; 2 група – тварини, що піддавалися впливу гострого іммобілізаційного стресу; 3 група – тварини з гострим іммобілізаційним стресом, що попередньо отримували Епадол (ω-3 ПНЖК). У роботі застосовували препарат «Епадол» (виробництва Київського вітамінного заводу), що містить 45 % ω-3 ПНЖК (суміш ейкозапентаєнової та докозагексаєнової кислоти), який перорально вводили тваринам з розрахунку 0,1 мг на 100 г маси тіла тварини протягом 4 тижнів. На останньому етапі тварин анестезували уретаном (1,9 г/кг), відкривали грудну порожнину на рівні з'єднання ребер і грудини, видаляли серце та одразу поміщали його в льодяний розчин Кребса-Хензелейта. Серце підвішували на металеву канюлю, діаметр якої відповідав діаметрові аорти та перфузували ретроградно за класичним методом Лангендорфа буферним бікарбонатним розчином Кребса-Хензелейта [12]. Реєстрували частоту серцевих скорочень, тиск у лівому шлуночку серця (за змінами тиску в латексному балончику, що вводився в лівий шлуночок), коронарний перфузійний тиск та його першу похідну – dP/dt. Реєстрацію здійснювали за допомогою приладу Mingograf 34 фірми Elema (Швеція). Гострий іммобілізаційний стрес моделювали шляхом однократної фіксації тварин протягом 6 год на спині в стані нерухомості. Як критерій наявності стресу у тварин використовували підрахунок виразок на слизовій оболонці шлунка, збільшення ваги наднирників та інволюцію тимуса.

Біохімічними методами в гомогенаті тканини серця визначали вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів – малонового діальдегіду (МДА) [10], та активність антиоксидантних ферментів – супероксиддисмутази (СОД) [11] та каталази (КТ) [3].

Визначення вмісту ω-3 ПНЖК (α-ліноленової (α-ЛК), докозагексаєнової (ДГК) кислот) та ω-6 ПНЖК (арахідонової (АК) та лінолевої кислот) в

тканині міокарда проводили за методом високоефективної рідинної зворотньої хроматографії з використанням рефрактометричного детектора [1]. Уміст ω-3 та ω-6 ПНЖК виражали у відсотковому співвідношенні до загального вмісту жирних кислот, який приймали за 100 %.

Тварини були задіяні в експериментах з дотриманням вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, 1986 р.). Отримані дані обробляли статистично з використанням програм Origin 7.0 та Excel 2000. При цьому вірогідність відмінностей визначали за t-критерієм Стьюдента. Значення $P < 0,05$ вважали вірогідним.

Результати та їх обговорення. За результатами хроматографічного аналізу було встановлено, що гострий іммобілізаційний стрес призводить до зміни жирнокислотного складу клітинних мембран.

Так, внаслідок гострого стресорного пошкодження в тканині міокарда зменшується вміст насичених жирних кислот, зокрема, пальмітинової (на 19,58 %) та стеаринової (на 15,19 %) порівняно з контролем. Відмічено зменшення вмісту ПНЖК з сімейства ω-6 (арахідонової на 19,45 % та лінолевої на 11,15 %), хоча вміст ДГК збільшується на 70,43 % порівняно з контролем (табл. 1). Слід зазначити, що за тих самих умов уміст ω-ЛК (ПНЖК з сімейства ω-3) збільшується в 3,4 разу порівняно з контролем.

Попереднє застосування Епадолу (протягом 4 тиж.) за умов гострого іммобілізаційного стресу призводить до зміни жирнокислотного складу клітинних мембран, про що свідчить зменшення вмісту насичених ЖК та ω-6 ПНЖК та збільшення вмісту ω-3 ПНЖК. Зокрема, відмічено зниження вмісту АК на 15,33 % та лінолевої на 16 %, тоді як вміст ДГК збільшувався на 38 % порівняно з групою зі стресом без застосування ω-3 ПНЖК (табл. 1). Як свідчать дані літератури, α-ЛК може переходити в ейкозапентаєнову кислоту (із сімейства ω-3 ПНЖК) та потім у ДГК [17]. Раніше нами було показано, що ω-3 ПНЖК суттєво впливають на жирнокислотний склад фосфоліпідів клітинних мембран, саме зменшуючи співвідношення суми ω-6/ω-3 у тканині серця щурів, що піддавалися впливу ішемії-реперфузії [12]. Встановлено, що модифікація жирнокислотного складу клітинних мембран виявляє позитивний вплив на процеси ішемії-реперфузії, попереджаючи підвищення перфузійного тиску в коронарних судинах, що може сприяти покращанню кровопостачання міокарда [6, 12, 14, 25]. Особливо слід наголосити, що дієта, збагачена на ω-3 ПНЖК, значно зменшує і навіть усуває тяжкі аритмії за гострої ішемії міокарда, а також зменшує частоту виникнення й тривалість фібриляції серця та величину артеріального тиску при реперфузії [19, 24, 28, 29].

Уважають, що в процесі розвитку стрес-реакції виникають функціональні порушення та структурні пошкодження клітин, тканин, органів. Розвиток постстресорних ускладнень при тривалому стресорному впливі є наслідком

Таблиця 1

Уміст ненасичених та поліненасичених жирних кислот (ω-3 та ω-6) у гомогенатах тканини міокарда щурів за умов гострого іммобілізаційного стресу та застосування Епадолу, % (M ± m)

Жирна кислота	I група	II група	III група
Пальмітинова	16,85 ± 1,19	13,55 ± 0,26*	11,56 ± 0,34**
Стеаринова	15,86 ± 1,17	13,45 ± 0,06	11,48 ± 0,34**
Олеїнова	13,16 ± 0,86	13,85 ± 0,71	11,98 ± 0,48
Лінолева ω-6	17,30 ± 0,63	15,37 ± 0,44	12,91 ± 0,40**
Арахідонова ω-6	18,86 ± 1,22	15,19 ± 0,62*	12,86 ± 0,66**
α-Ліноленова ω-3	0,23 ± 0,08	0,80 ± 0,32*	0,58 ± 0,18
Докозагексаєнова ω-3	7,61 ± 0,46	12,97 ± 0,75*	17,90 ± 0,53**

*Примітка. I група – контроль; II група – стрес; III група - Епадол (ω-3 ПНЖК) + стрес; *вірогідні зміни порівняно з контролем; **вірогідні зміни порівняно зі стресом, $P < 0,05$. Загальний вміст кислот прийнято за 100 % складу клітин міокарда.*

виснаження компенсаторних механізмів, що можуть призвести до незворотних змін та виникнення захворювань. Після гострого іммобілізаційного стресу нами відмічено порушення скоротливої функції міокарда, зміни тиску в лівому шлуночку (ТЛШ) ізольованого серця, зміни частоти серцевих скорочень (ЧСС) та коронарного перфузійного тиску (КПТ). Нами показано, що ТЛШ у тварин після стресу був на 31,41 % меншим, ніж у інтактних тварин. ТЛШ у тварин, які піддавалися стресу та ω-3 ПНЖК модифікації був на 24,35 % ($p < 0,05$) більшим порівняно зі стресованим серцем. Коронарний перфузійний тиск сердець, які піддавалися стресу, був на 31,7 % меншим, ніж у інтактних тварин (табл. 2). При ω-3 ПНЖК модифікації КПТ наближався до контрольних значень та був на 22,24 % більшим порівняно зі стресованим серцем. Це свідчить про те, що застосування Епадолу сприяє зменшенню негативного впливу стресу на скоротливу функцію серця, тоді як після дії стресу спостерігається пригнічення скоротливої активності міокарда порівняно з ізольованим серцем інтактних тварин, які не піддавалися дії стресу. Про розвиток постстресорних ускладнень свідчить уповільнення частоти серцевих скорочень, що на 34 уд/хв менше, ніж у контролі. За умов попереднього застосування ω-3 ПНЖК ЧСС була наближеною до контролю та на 14 уд/хв більше, ніж у групі зі стресом. Слід зазначити, що за умов гострого іммобілізаційного стресу спостерігали порушення ритму серця. У середньому кількість екстрасистол при стресі досягала 7 (за 1 хв), тоді як у III групі 2–3. Отже, застосування ω-3 ПНЖК призводило до попередження порушення ритму діяльності серця (попередження електричної нестабільності серця, тобто зменшення кількості екстрасистол). Таким чином, як свідчать наші дані, попереднє застосування ω-3 ПНЖК запобігає виникненню негативних змін у функціонуванні ізольованого серця щура при відтворенні та розвитку в організмі стрес-реакції.

Відомо, що катехоламіни підвищують частоту і силу скорочень серцевого м`яза, тим самим збільшують споживання міокардом кисню при одночасному неадекватному зростанні коронарного кровотоку. Гіпоксія, що розвивається за цих умов, посилюється негативним впливом катехоламінів на тканинне дихання та продукцію АТФ та посилює пошкодження, що виникають при інфаркті міокарда чи стресі [21]. Саме такі зсуви значно обмежують діапазон функціональних можливостей серцево-судинної системи і тим самим створюють передумови для більш швидкого розвитку патології. Структурні зміни в клітинах серця призводять до депресії скорочувальної функції міокарда, зменшення функціональних резервів серця.

У результаті модифікації мембран за допомогою ω-3 ПНЖК відбуваються значні зміни фосфоліпідного обміну, що в свою чергу запобігають розвитку в організмі надмірної стрес-реакції, яка призводить до виснаження захисних сил організму. В цілому аналіз отриманого матеріалу підтверджує, що ω-3 ПНЖК підвищують стійкість клітинних мембран до пошкоджуючої дії стресорних факторів. Основою цього, на нашу думку, також є і збереження цілісності клітинних мембран та значною мірою зменшення руйнування мітохондрій у кардіоміоцитах [13]. Отримані результати дозволяють вва-

Таблиця 2

Показники кардіогемодинаміки ізольованого серця щура після гострого іммобілізаційного стресу та застосування Епадолу (M ± m, n = 6)

Показник	Контроль	Стрес	Стрес на фоні Епадолу
Перфузійний тиск у коронарних судинах, мм рт.ст.	82,08 ± 6,70	56,06 ± 5,70*	68,53 ± 6,60
Тиск у лівому шлуночку, мм рт.ст.	79,80 ± 4,70	54,73 ± 3,70*	68,06 ± 2,90**
Частота серцевих скорочень, уд/хв	221,50 ± 4,00	187,00 ± 8,30*	201,60 ± 6,50

*Примітка.*Вірогідні зміни порівняно з контролем; **вірогідні зміни порівняно зі стресом, P < 0,05.*

жати, що ω-3 ПНЖК впливають на регуляцію серцевої відповіді до адренергічних впливів, зменшуючи реакцію серця як на екзогенні, так і, вірогідно, на ендогенні катехоламіни, внаслідок модифікації жирнокислотної композиції мембран клітин серця [13]. Як свідчать дані літератури, препарат ω-3 ПНЖК відновлює функціональну активність ендотелію, попереджує зниження енергетичного метаболізму клітин і має мембранопротекторну дію [6, 13, 23]. Крім цього, клінічні дослідження свідчать, що ω-3 ПНЖК пригнічують активність симпато-адреналової системи, що викликається психогенним стресом, знижують рівень катехоламінів у плазмі та зменшують частоту серцевих скорочень при нервовому напруженні [8, 20]. Виявлене нами зменшення реакції серця на стресорні впливи можна розглядати як один із можливих факторів кардіопротекції, викликаної модифікацією фосфоліпідних мембран за допомогою Епадолу.

Відомо, що одним з факторів, які визначають развиток ушкоджень при стресі, є активація вільнорадикальних процесів у органах та тканинах, а також у організмі загалом. Проведені нами біохімічні дослідження свідчать про посилення процесів перекисного окиснення ліпідів у серці при гострому стресорному пошкодженні. У результаті цих досліджень було показано, що концентрація малонового діальдегіду в гомогенатах стресованих сердець була на 87,41 % більшою, ніж у контролі (табл. 3). Попереднє застосування ω-3 ПНЖК призводить до певного зниження (на 10 %) концентрації МДА відносно аналогічних показників групи тварин без модифікації мембран. Тривалий іммобілізаційний стрес негативно впливає на антиоксидантно-прооксидантну рівновагу в організмі тварин. Реакція антиоксидантної системи організму у відповідь на посилення ПОЛ проявляється в зниженні активності її ключового ферменту – СОД. Так, активність СОД у II групі знижувалась на 48,82 % порівняно з контролем (табл. 3). Після застосування ω-3 ПНЖК за умов стресу активність СОД відновлюється не лише до рівня контролю, але й дещо зростає. Відомо, що при окисному стресі відбувається стимулювання захисних компенсаторних реакцій та збільшення активності ферменту каталази, яка забезпечує руйнацію перекису водню. Підвищення активності цього ферменту може бути спричинено його фосфорилюванням тирозиновими протеїнкіназами, активованими за умов оксидативного стресу [18]. Так, активність КТ підвищилася в 2,2 разу відносно контрольної групи. При стресі, незалежно від віку тварин, спочатку відбувається збільшення активності КТ у серці, що безумовно, набуває адаптаційного значення. Виявлене нами збільшення активності КТ може, на наш погляд, бути елементом компенсаторної реакції у відповідь на підвищення рівня активних форм кисню в клітині. Подальше обмеження ступеня активації каталази може бути однією з причин зниження стійкості серця до пошкоджуючої дії тривалого стресу. Слід зазначити суттєве посилення активності КТ у групі з ω-3 ПНЖК – у 2,46 разу порівняно з II групою (табл. 3). Ураховуючи, що стрес супроводжується стимуляцією утворення активних форм кисню, отримані нами дані свідчать про гальмівний вплив ω-3 ПНЖК на інтенсивність вільнорадикальних реакцій при стресі. Це, на нашу думку, може бути пов'язано також зі зменшенням вмісту АК, як одного з головних субстратів окиснення. Нормалізація процесів ПОЛ може відбуватися внаслідок зміни структури ліпідного бішару мембрани за рахунок зміни жирнокислотного складу фосфоліпідів та посилення стійкості мембрани, або взаємодії ω-токоферолу чи інших мембранотропних сполук з фосфоліпідами мембран [22, 30].

Оцінюючи причини стресової активації каталази, можливо передбачити важливу роль у цьому активних форм кисню, які інтенсивно генеруються в процесі перекисного окиснення ліпідів [21]. Такі активні метаболіти можуть виявляти прямий вплив на фермент, взаємодіючи з амінокислотними радикалами поліпептидного ланцюга, і тим самим змінювати конформацію білкової молекули. Відомо, що майже всі молекулярні механізми ушкодження

Таблиця 3

Показники ПОЛ та активність ферментів антиоксидантної системи у гомогенаті міокарда щурів після гострого іммобілізаційного стресу та застосування Епадолу (ω-3 ПНЖК) (M ± m; n = 10)

Показник	Контроль	Стрес	Стрес на фоні Епадолу
Малоновий діальдегід, (мкмоль · $хв^{-1}$ · мг білка)	4,61 ± 0,50	8,64 ± 0,64*	7,78 ± 0,54**
Активність супероксиддисмутази, (ум.од/мг · білка)	2,30 ± 0,10	1,20 ± 0,15*	2,54 ± 0,50**
Активність каталази, (мкмоль · $хв^{-1}$· мг · білка)	37,10 ± 2,20	81,70 ± 9,20*	201,04 ± 21,70**

*Примітка. *Вірогідні зміни порівняно з контролем; **вірогідні зміни порівняно зі стресом, $P < 0,05$.*

базуються на порушенні проникності та цілісності клітинних мембран [4, 21].

Вільнорадикальне перекисне окиснення ліпідів вважається універсальним процесом, що супроводжує практично будь-яке захворювання або патологічний стан та значною мірою визначає ступінь пошкодження клітин. Відомо, що процеси ПОЛ суттєво активуються при стресорних впливах. Це призводить до накопичення первинних та вторинних продуктів ПОЛ у тканинах та підвищення їхньої концентрації в біологічних рідинах організму. Загострення патологічного процесу веде до активації процесів перекисного окиснення ліпідів, порушує рівновагу між прооксидантною та антиоксидантною системами, що призводить до деградації фосфоліпідів мембран, вивільнення арахідонової кислоти та активації шляхів її перетворення, виникнення дефіциту ω-3 жирних кислот у мембранах клітин, що в свою чергу викликає низку патологічних реакцій (тромбоутворення, спазм судин, запалення), які можуть стати ініціаторами прогресування атеросклерозу та ішемічної хвороби серця [4, 7, 15].

На противагу нашим результатам, деякі дослідники вважають, що застосування ω-3 ПНЖК призводить до посилення вільнорадикальних процесів, тому що ненасичені жирні кислоти є головним субстратом окиснення при ініціації вільнорадикальних реакцій [27]. Нами отримані чіткі дані щодо суперечливого питання [15, 27, 30] про вплив ω-3 ПНЖК на вільнорадикальні процеси в організмі. Так, у наших дослідах вміст продуктів ПОЛ у тварин з модифікованими клітинними мембранами при розвитку патологічних процесів постійно був зменшеним, а активність антиоксидантних ферментів була збільшеною порівняно з результатами контрольних дослідів (без модифікації мембран), що може бути одним із важливих механізмів захисту серця в патологічних умовах.

Висновки

1. Модифікація жирнокислотного складу клітинних мембран за рахунок застосування препарату ω-3 ПНЖК запобігає виникненню функціональних порушень та структурних пошкоджень клітин за умов гострого іммобілізаційного стресу.
2. Зміна жирнокислотного складу клітинних мембран внаслідок застосування препарату ω-3 ПНЖК позитивно впливає на їхню стійкість до перекисних процесів при стресорному пошкодженні за рахунок пригнічення вільнорадикальних процесів та посилення активності ферментної ланки антиоксидантного захисту.

1. *Кейтс М.* Техника липидологии. Выделение, анализ и идентификация липидов / М. Кейтс.– М.: «Мир», 1975.– 322 с.
2. *Коркушко О. В.* Возрастные изменения сердечно-сосудистой системы при старении / Коркушко О. В. // Український кардіологічний журнал. Матеріали X Національного конгресу кардіологів України, Київ, 23–25 вересня.– 2009.– Додаток 1.– С. 233–237.
3. Метод определения активности каталазы / Королюк М. А., Иванова А. И., Майорова И. Т., Токарев В. Е. // Лабораторное Дело.– 1988. – № 1.– С. 16–19.
4. *Ланкин В. З.* Свободнорадикальные процессы в норме и при патологических состояниях / В. З. Ланкин, А. К. Тихазе, Ю. Н. Беленков.– М. : Наука, 2001.– 78 с.

5. *Марков Х. М.* Оксидантный стресс и дисфункция эндотелия / Марков Х. М. // Пат. физиология и экспериментальная терапия.– 2005.– № 4.– С. 5–9.
6. Коррекция нарушений сократительной функции и электрической стабильности сердца при постинфарктном кардиосклерозе у крыс с помощью диеты, обогащенной полиненасыщенными жирными кислотами / Меерсон Ф. З., Сянь Цюнь Фу, Белкина Л. М. // Кардиология.– 1994.– № 4.– С. 105–110.
7. Характеристика вільнорадикального окислення білків та ліпідів в умовах ішемічної хвороби серця за різних типів порушення ліпідного обміну / Мхітарян Л. С., Орлова Н. М., Євстратова І. Н. [та ін.] // Укр. кард. журнал.– 2002.– № 6.– С. 41–44.
8. *Пшенникова М. Г.* Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии / Пшенникова М. Г. // Патол. физиология и эксперим. терапия.– 2000.– № 4.– С. 21–31.
9. *Середенин С. Б.* Эмоцинальный стресс и психофармакология / Середенин С. Б. // Фармакотер. Невр. Психиат.– М., 2002.– С. 35–54.
10. *Стальная И. Д.* Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. // Совр. методы в биохимии: под ред. В. Н. Ореховича.– М. : Медицина, 1977.– С. 66–67.
11. *Чевари С.* Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / Чевари С., Чаба И., Секей Й. // Лаб. дело – 1985.– № 11.– С. 678 –681.
12. Вплив препарату «Епадол» на серцево-судинну систему при гострій ішемії-реперфузії міокарда / Шиш А. М., Кукоба Т. В., Кириленко О. Є., Мойбенко О. О. // Вісник Вінницького Національного медичного університету.– 2007.– Т. 11, № 2/1.– С. 496–499.
13. Модифікація жирнокислотного складу мембран як фактор захисту міокарда при стресорному пошкодженні серця / Шиш А. М., Кукоба Т. В., Тумановська Л. В., Мойбенко О. О. // Фізіол. журн.– 2005.– Т. 51, № 2.– С. 17–23.
14. *Abdukeyum G. G.* Dietary (n-3) Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids Inhibit Ischemia and Reperfusion Arrhythmias and Infarction in Rat Heart Not Enhanced by Ischemic Preconditioning / Abdukeyum G. G., Owen A. J., McLennan P. L. // J Nutr.– 2008.– V. 138.– P. 1902–1909.
15. Effect of n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on lipid peroxidation of rat organs / Ando K., Nagata K., Yoshida R. [et al.] // Lipids.– 2000.– V. 35, № 4.– P. 401–407.
16. Pathogenesis and protection of ischemia and reperfusion injury in myocardium / Asano G., Takashi E., Ishiwata T. [et al.] // J. Nippon Med Sch.– 2003.– V. 70.– P. 384–392.
17. *Burdge G. C.* Conversion of a-linolenic acid to eicosapentaenoic, docosapentaenoic and docosahexaenoic acids in young women / Burdge G. C., Wootton S. A. // Br. J. Nutr.– 2002.– V. 88.– P. 411–420.
18. *Cao C.* Catalase is regulated by ubiquitination and proteosomal degradation. Role of the c-Abl and Arg tyrosine kinases / Cao C., Leng Y. // Biochemistry.– 2003.– V. 42.– P. 10348–10353.
19. De Caterina R. n–3 Fatty Acids in Cardiovascular Disease // N Engl J. Med.– 2011.– V. 364, № 24.– P. 39–50.
20. Fish oil prevents the adrenal activation elicited by mental stress in healthy men / Delarue J., Matzinger O., Binnert C. [et al.] // Diab. Metab.– 2003.– V. 29.– P. 289–95.
21. *Ford D. A.* Alterations in myocardial lipid metabolism during myocardial ischemia and reperfusion / Ford D. A. // Prog. Lipid Res.– 2002.– V. 41.– P. 6–26.
22. A polyunsaturated fatty acid diet lowers blood pressure and improves antioxidant status in spontaneously hypertensive rats / Frenoux J. M., Prost E. D., Belleville J. L., Prost J. L. // J. Nutr. – 2001.– V. 131, № 1.– P. 39–45.
23. Effect of docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid in the phospholipids of rat heart muscle cells on adrenoreceptor responsiveness and mechanism / Grynberg A., Fournier A., Sergiel J. P., Athias P. // J. Mol. Cell. Cardiology.– 1995.– V. 27.– P. 2507–2520.
24. Cardiovascular protective effects of n-3 polyunsaturated fatty acids with special emphasis on docosahexaenoic acid / Hirafuji M., Machida T., Hamaue N., Minami M. // J. Pharmacol Sci.– 2003.– V. 92, № 4.– P. 308–316.
25. *Mozaffarian D.* Fish, n-3 fatty acids, and cardiovascular haemodynamics / Mozaffarian D. // J. Cardiovasc Med (Hagerstown).– 2007.– V. 8, Suppl 1.– P. S23–S26.
26. *Petrofski Jason A.* The β-adrenergic receptor kinase in heart failure / Petrofski Jason A., Koch Walter J. // Journal of Molecular and Cellular Cardiology.– 2003. V. 35.– P. 1167–1174.
27. *Song J. Y.* Polyunsaturated (n-3) fatty acids susceptible to peroxidation are increased in plasma and tissue lipids of rats fed docosahexaenoic acid–containing oils / Song J. Y., Fujimoto K., Miyazawa T. // J. Nutr.– 2000.– V. 130.– P. 3028–3033.
28. n-3 Fatty acids from fish or fish-oil supplements, but not alpha-linolenic acid, benefit cardiovascular disease outcomes in primary- and secondary-prevention studies: a systematic review / Wang C., Harris W. S., Chung M. [et al.] // Am J Clin Nutr.– 2006.– V. 84 (1).– P. 5–17.
29. Effect of alpha linolenic acid on cardiovascular risk markers: a systematic review / Wendland E., Farmer A., Glasziou P., Neil A. // Heart.– 2006.– V. 92.– P. 166–169.
30. *Yuan Y. V.* Dietary (n-3) fat and cholesterol alter tissue antioxidant enzymes and susceptibility to oxidation in SHR and WKY Rats / Yuan Y. V., Kitts D. D. // J. Nutr.– 2003.– V. 133.– P. 679–688.

А. М. Шиш, С. Б. Французова, В. С. Нагибин, А. А. Мойбенко

Механизмы кардиопротекторного эффекта омега-3 полиненасыщенных жирных кислот при остром повреждении миокарда в условиях иммобилизационного стресса

В работе представлены результаты исследований, проведенных на крысах по выявлению влияния курсового введения ω-3 ПНЖК на функцию сердечно-сосудистой системы в условиях острого иммобилизационного стресса у крыс. Показано, что ω-3 ПНЖК предупреждают нарушение сократительной функции миокарда, уменьшают окислительный стресс, повышают активность ферментов антиоксидантной защиты при стрессе.

Ключевые слова: сердце, омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты, иммобилизационный стресс

A. M. Shysh, S. B. Frantsuzova, V. S. Nagibin, A. A. Moibenko

Mechanisms of cardioprotective effect of omega-3 polyunsaturated fatty acids in acute damage of myocardium under immobilization stress

To results of studies conducted in rats identify the influence of a course administration of ω-3 PUFA on the function of the cardiovascular system under acute immobilization stress in rats are presented. It is shown that ω-3 PUFA prevent violations of myocardial contractility; they reduce oxidative stress and increase the activity of antioxidant enzymes under stress.

Key words: heart, ω-3 polyunsaturated fatty acids, immobilization stress

Надійшла: 01.04.2013 р.

Контактна особа: Шиш Анжела Михайлівна, кандидат біологічних наук, відділ загальної та молекулярної патофізіології, Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України, вул. Богомольця, буд. 4, м. Київ, 01601. Тел.: +38 0 44 256 20 74. Електронна пошта: angela@biph.kiev.ua

УДК 616-009-12:615.225.2

С. М. Дроговоз, О. В. Матвєєва

Переваги хронофармакологічного підходу до лікування гіпертонічної хвороби

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: гіпертонічна хвороба, гіпотонічні препарати, хронофармакологія

Незважаючи на появу нових ефективних ліків, фармакотерапія гіпертонічної хвороби (ГХ) залишається складною проблемою через відсутність індивідуального вибору оптимального алгоритму режиму лікування, призначення препаратів без урахування фази біоритму хворого на ГХ і хроночутливості до ліків [1]. Сьогодні накопичений тридцятирічний досвід застосування хронотерапії ГХ, який враховує добові та сезонні біоритми артеріального тиску (АТ) хворого [2].

За традиційного призначення гіпотензивних засобів, незважаючи на поліпшення самопочуття хворого, не вдається відновити порушений циркадний (добовий) ритм АТ. Цього можна досягти за раціонального розподілу добової дози гіпотензивних засобів з урахуванням індивідуальних особливостей біоритмів АТ хворого [3].

Після курсу хронотерапії у хворих на ГХ відновлюються властиві здоровим людям добові ритми параметрів гемодинаміки. Хронотерапевтичний підхід особливо ефективний за умов довгострокової терапії хворих на основі врахування індивідуальних циркадних ритмів АТ і фармакокінетичних властивостей ліків [4].

Дослідження останніх 30 років переконливо довели, що хронотерапія ГХ антагоністами кальцію, інгібіторами АПФ, β-адреноблокаторами, діуретиками та гіпотензивними препаратами центральної дії дозволяє раніше досягти стабільного клінічного ефекту із застосуванням менших доз препаратів і кращої переносимості, ніж за їхнього традиційного призначення без урахування циркадного ритму АТ хворого [5].

За хронотерапії стійкий гіпотензивний ефект досягається в 2,5 разу швидше з використанням менших доз препаратів (зниження добової дози препаратів приблизно на 25 %) і 4–6-кратним зниженням частоти ускладнень і явищ передозування. Побічні ефекти у вигляді сухого кашлю при хронотерапії інгібіторами АПФ зустрічаються в 3 рази рідше і становлять 4,5 % проти 15 % [6, 7].

Оптимізація даного методу засновується на стимуляції резервних природних можливостей організму завдяки досягненню синхронізації ритмічності лікувальної дії з ритмами самого хворого.

Одним з важливих факторів при застосуванні гіпотензивного препарату є його ціна. Прийом капотену, наприклад, за хроносхемою дозволяє заощадити 105,8 російських рублів на один місяць, а протягом курсу лікування ця економія складає 1269,8 російських рублів на один рік. Хронорежим клофеліну о 17 год, а фуросеміду о 10 год дає більш стійкий ефект: на 2–3 дні, скорочує час перебування хворих у стаціонарі і знижує вартість лікування в 6 разів [8, 9].

Хронотерапевтичний підхід у лікуванні ГХ набуває особливої важливості при застосуванні пролонгованих ліків, що призначаються один раз на добу. Однак сьогодні не можна зробити однозначний висновок, які препарати більш ефективні і безпечні при призначенні в режимі хронотерапії: пролонговані з порівняно великим періодом напіввиведення чи препарати з меншим періодом [10, 11].

У хворих з підвищеним рівнем АТ не тільки вдень, але й вночі, через частоту побічних ефектів пролонговані препарати мають переваги. У тих хворих, у яких не бажано зниження відносно низького або нормального нічного АТ (через небезпеку погіршення коронарного, церебрального чи ниркового кровотоку і розвитку пов'язаних з цим ускладнень), перевагу слід надавати

© Колектив авторів, 2013

короткодіючим препаратам, призначаючи їх у першій половині дня й уникаючи прийому на ніч. Час і кратність прийому антигіпертензивних препаратів (короткодіючих або пролонгованих) обираються так, щоб у періоди доби, коли нормальний або мінімально підвищений АТ, препарат не мав вираженої гіпотензивної дії або вона була мінімальна. Думка багатьох фахівців з хронотерапії – не приймати препарати пролонгованої дії хворим на ГХ з надлишковою циркадною амплітудою АТ [1].

Антагоністи кальцію короткої дії (ніфедипін, дилтіазем) виявляють несприятливий вплив на циркадний ритм АТ. Пролонговані антагоністи кальцію (амлодипін і верапаміл) мають гіпотензивну активність, близьку до препаратів короткої дії, але нормалізують порушений циркадний ритм АТ і зменшують ступінь хронодезадаптації [7].

Для визначення оптимальної хроносхеми гіпотензивного препарату встановлюється час максимального підвищення АТ (акрофаза) і потім, за 1,5–2 год до настання цього часу, один раз на добу в дозі, що становить 50–70 % добової, призначається гіпотензивний препарат з урахуванням хронотипу кровообігу. Така схема прийому препаратів дає ефективне зниження АТ уже на четверту добу, і лише в 5-10 % випадків проявляються побічні ефекти. За традиційного прийому аналогічних препаратів ефект настає тільки на десяту добу з кількістю побічних ефектів до 60 % [12].

Для більшості антигіпертензивних ліків найраціональніше одноразове їхнє призначення в дозі зменшеній у 3–4 рази о 15–17 год, тобто до початку чергового циркадного підйому АТ у вечірні години (о 18–20 год).

Тактику превентивної хронотерапії, тобто прийом гіпотензивного засобу за 1,5–2 год до настання акрофази ритму АТ, можна з успіхом застосовувати за амбулаторних умов дітям з первинною артеріальною гіпертензією, коли найбільший АТ відзначається в період з 12 до 18 год. Гіпотензивні препарати короткої дії призначаються за 1,5–2 год, пролонгованої – за 4–8 год до піків АТ (акрофази).

Хронотерапія антигіпертензивними препаратами дозволяє цілеспрямовано впливати на підйом АТ у ранкові години і значно зменшує швидкість росту АТ у цей час доби.

Зі швидким і значним зростанням АТ у ранкові години пов'язують збільшення частоти інсультів, інфарктів, ангінальних нападів та випадків раптової смерті. Хронотерапія антигіпертензивними препаратами дозволяє у ранкові години купірувати серцево-судинні та вегетативно-соматичні розлади, викликані стресом, впливом магнітної бурі, і нормалізувати показники ЕКГ [13]. Призначення бета-адреноблокаторів в інтервалі між 6 год і 12 год дня значно знижує ймовірність виникнення міокардіальної ішемії та інфаркту міокарда через зниження впливу симпатичної нервової системи на ЧСС та тонус коронарних судин. Такий режим дозування даних ліків зручний для більшості пацієнтів, але особливо для тих, хто відносяться до категорії «сов».

Хронотерапія пропранололом і гідралазином хворих на ГХ з урахуванням їхніх індивідуальних особливостей циркадних ритмів гемодинаміки порівняно з «традиційним» режимом дозування сприяє зниженню добової дози препарату на 25 %, при цьому зберігається достатній гіпотензивний ефект. Різний уміст пропранололу в крові людей зі здоровою печінкою й у хворих на цироз печінки за його введення о 14 год порівняно з таким при застосуванні його вранці та ввечері, обумовлено посиленим метаболізмом пропранололу вдень через найвищу активність мікросомальних систем печінки. У цей час тривалість ефекту пропранололу більше залежить від циркадної мінливості симпатичного тонусу і реактивності серцево-судинної системи, ніж від хронокінетики препарату [5, 14].

Хронотерапія верапамілом є добре вивченою: оптимальні концентрації препарату в крові мають бути створені в період між 4–12 год, коли спостерігається максимальне підвищення АТ і ЧСС, що пов'язано з пробудженням. Тому верапаміл для хронотерапії есенціальної артеріальної гіпертензії та ішемічної хвороби серця рекомендують застосовувати один раз на день перед сном, що забезпечує високі концентрації його

вранці, зменшення нічної гіпотензії й швидкого підвищення АТ вранці. Крім того, цей препарат ефективно зменшує явища ІХС, особливо вранці, коли ризик ішемії міокарда найвищий [15, 16].

У хворих на есенціальну АГ, у яких у нічний період АТ знижується («overdipper» частка яких збільшується з віком), застосування коринфару (ніфедипіну) у таблетках по 10 мг у режимі хронотерапії запобігає надмірному зниженню АТ у нічні години, але взимку у вечірній час ніфедипін не тільки не знижує, але, навіть, викликає підвищення АТ. Біодоступність короткодіючого ніфедипіну у вечірні години на 35 % вища, ніж при призначенні його вранці.

При лікуванні ГХ бажано використовувати дані про час досягнення піка АТ і фармакокінетику ліків, таким чином, щоб очікуваний максимальний гіпотензивний ефект припадав на періоди доби з найбільшими показниками АТ. Наприклад, хворому з піком АТ з 13 до 18 год для досягнення в цей час максимального гіпотензивного ефекту амлодипін (максимальний ефект – через 6–11 год після прийому) доцільно призначити о 7 год ранку.

Пацієнтам з високою швидкістю ранкового підйому АТ (з гіперсимпатикотонічним типом ГХ) рекомендується амлодипін, а при порушенні толерантності до глюкози – лозартан, при зниженій варіабельності добового ритму АТ – еналаприл у дозі 5–20 мг у 2 прийоми, при високій варіабельності – амлодипін у дозі 5–10 мг [9].

Прийом багатьох ліків уранці супроводжується більш швидким і повним всмоктуванням у ШКТ порівняно з вечірнім та нічним уведенням. Це, у першу чергу, характерно для таких ліпофільних ліків, як пропранолол, нітросорбіт та ін. Крім того, метаболізм пропранололу має добовий ритм, обумовлений швидкістю печінкового кровотоку з максимальним значенням з 16 до 19 год при ГХ [13].

Різна біодоступність ліків протягом доби залежить від різної швидкості всмоктування препаратів (ліпофільні речовини краще всмоктуються в ранкові години) і відмінностей у розподілі препаратів (пік зв'язування з білками для бета-адреноблокаторів припадає на період з 12 до 24 год).

Виражений гіпотензивний ефект клонідину за традиційного (3-разового) застосування розвивається тільки на 9–10 добу, а з урахуванням хронорежиму – на 4 добу. Якщо частота ускладнень у осіб, які страждають на ГХ, за традиційного призначення клонідину досягає 60 %, то хронотерапія знижує ймовірність появи побічної дії до 10 % [15].

У хворих на ГХ II стадії оптимальний хронорежим для клофеліну, анаприліну та допегіту о 15–17 год у дозі 50–70 % від традиційної добової дози, який обирається відповідно до акрофази добового ритму АТ (18–20 год або індивідуально). Дана хронотактика сприяє підвищенню ефективності їх при ГХ, зниженню дози, побічної дії на 30–50 %, і відновленню добового ритму гемодинаміки [1, 17].

При вечірньому прийомі алтіазему в середньому на 2–3 дні швидше, ніж при ранковому і денному, нормалізуються ритми АТ. На фоні прийому у вечірні години алтіазему 77,2 % хворих відзначають зникнення або зменшення головного болю, підвищення працездатності, поліпшення настрою, що підтверджує його хронотерапевтичний ефект [14].

Клінічні спостереження свідчать про те, що антагоністи кальцію активніше діють у першу половину дня, а інгібітори АПФ – у другу [9]. Відносно мало вивченою є хронофармакологія інгібіторів АПФ. Професором Р. М. Заславською була вивчена хроночутливість до каптоприлу (капотен) у різний час доби, і був визначений пік зниження АТ (у 77 % хворих), який припадає на 7 год 30 хв [3]. Превентивна хронотерапія капотеном у дозі від 12,5 до 50 мг один раз на добу більш успішно нормалізує АТ і покращує систолічну та діастолічну функцію лівого шлуночка та мозковий кровотік, ніж загальноприйняте триразове застосування препарату в дозі 75–100 мг на добу [3, 8].

З метою підвищення ефективності та безпеки терапії ГХ було проведено вивчення еналаприлу, раміприлу та атенололу у хворих з добовим профілем АТ «night-peakers» із використанням методу нав'язування ритму. Курсова хронотерапія еналаприлом (у середній добовій дозі

12,25 мг протягом 8 тижнів) при використанні методу «нав'язування ритму» забезпечує ефективну корекцію АТ протягом доби, зменшуючи стрибки АТ.

Курсове лікування раміприлом у режимі хронотерапії (добова доза 6,25 мг, протягом 8 тижнів) сприяє зниженню маси міокарда лівого шлуночка (на 8 %) унаслідок нормалізації показників добового профілю та варіабельності АТ. Сезонних відмінностей в ефективності раміприлу як еналаприлу, не виявлено.

Установлено переваги хронотерапії у хворих на ГХ з недостатнім зниженням АТ у нічні години та високою величиною й швидкістю підйому АТ у ранкові години, яким призначали квінаприл о 22 год, і доксазозин – о 20 год. У ранкові години досягалася повна нормалізація показників АТ. Максимальна хроночутливість до віскалдіксу, клофеліну, капотену й адельфану відзначається о 7 год 30 хв, квінаприлу – о 8 год [12].

Хроноефект виявлений за призначення хворим на ГХ нітратів, які в нічний час знижують ударний і хвилинний об'єм крові та тонус артерій [18].

Таким чином, для багатьох гіпотензивних препаратів встановлені хронопортрети раціонального режиму їхнього введення. Хронотактика останнього: використання антигіпертензивних препаратів за 1–2 год до встановленої акрофази систолічного АТ дозволяє знизити АТ швидше (у 2 рази) при застосуванні менших доз препаратів, ніж за традиційного лікування.

Досвід застосування хронофармакологічної корекції (превентивний, імітаційний і метод «нав'язування» ритму) свідчить про переваги особливо превентивного методу гіпотензивної терапії порівняно з традиційним режимом лікування. Превентивний метод заснований на адаптації термінів уведення препаратів до часу досягнення акрофази АТ. Превентивні схеми хронотерапії ГХ особливо ефективні, коли гіпотензивний препарат призначається до настання акрофази АТ. Для цього у хворого протягом 3 днів кожні 3 год визначають АТ, після чого встановлють час його максимального підвищення (акрофаза), і потім за 1,5–2 год до настання цього часу 1 раз на 1 добу в дозі, що становить 50–70 % добової, призначають гіпотензивний засіб з урахуванням біоритму кровообігу [19].

Метод «нав'язування» ритму використовують значно рідше, при цьому препарати призначають у певний час доби для нав'язування організму хворого ритмів, максимально наближених до ритмів АТ здорових людей [11].

При третьому режимі введення гіпотензивних препаратів визначають хроночутливість до антигіпертензивного препарату, призначаючи його в різні години доби протягом декількох днів для з'ясування оптимального часу прийому препарату. Для порівняння дії препаратів у нічний і денний час доби використовують коефіцієнт нічної/денної дії (N / D). Для періодів неспання та сну розраховують показники зниження артеріального тиску (D і N відповідно) і визначають відношення N/D, яке характеризує вираженість дії ліків уночі порівняно з денним часом [11, 19].

Висновки

Антигіпертензивна хронофармакотерапія на основі даних добового моніторування АТ дозволяє: гармонізувати стан біоритмів гемодинаміки хворого успішніше, ніж при загальноприйнятій терапії; привести акрофази циркадних ритмів АТ у відповідність до хронотипу пацієнтів; зменшити швидкість і величину підйому АТ у ранкові години, зменшити кількість або ризик виникнення побічних реакцій.

1. *Хромцова О. М.* Индивидуализированная хронотерапия гипертонической болезни и степень соблюдения схемы лечения / Хромцова О. М. // Терапевтический архив.– 2008.– Т. 80, № 9.– С. 29–33.– ISSN 0040-3660.
2. *Колесник Т. В.* Хронобиологиечский поход в оценке тяжести артериальной гипертензии / Т. В. Колесник // Український терапевтичний журнал.– 2008.– № 2.– С. 48–53.
3. Хронотерапия капозидом-50 больных ГХ / Заславская Р. М. Биясилов Н. С. [и др.] // Российский медицинский журнал – 2001 – № 6.– С. 42–43.
4. *Хильдебрандт Г.* Хронобиология и хрономедицина / Хильдебрандт Г., Мозер М., Лехофер М.; пер. с нем.– М.: «Арнебия», 2006.– 144 с.

5. *Манукян А. В.* Влияние пролонгированых антагонистов кальция на циркадианный и ультрадианный ритмы артериального давления у больных с артериальной гипертонией высокого риска / А. В. Манукян, Н. Б. Сидоренкова, А. В. Лаврентьев // Фармакология.– 2006.– Т. 7.
6. *Кицышин В. П.* Суточная динамика аритмий у больных с заболеваниями сердечно-сосудистой системы / Кицышин В. П., Шустов С. Б., Яковлев В. А. // Вестн. РАМН.– 2000.– № 8.– С. 25–9.
7. *Ольбинская Л. И.* Хронотерапевтические аспекты применения различных лекарственных форм нифедипина у больных гипертонической болезнью / Л. И. Ольбинская, Б. А. Хапаев // Кардиология.– № 6.– 2000.
8. *Васькова Л. Б.* Фармакотерапия гипертонической болезни: оценка затрат и результатов традиционной и хронотерапии / Васькова Л. Б., Овчинникова О. А., Янкина Н. Д. // Российский медицинский журнал.– 2008.– № 2.– С. 32–34.
9. Пути оптимизации фармакотерапии гипертонической болезни в современных условиях // Медицинский вестник Башкортостана.– 2010.– Т. 5, № 4.– С. 64–70.– ISSN 1999-6209.
10. *Полищук Н. А.* К вопросу о сущности явления времени и эффективной хронотерапии хронических заболеваний / Н. А. Полищук // Лікарська справа. Врачебное дело.– 2008.– № 1/2.– С. 113–118.
11. *Чибисов С. М.* Принципы хронофармакологии заболеваний сердечно-сосудистой системы / Чибисов С. М., Илларионова Т. С., Столярова О. В // Новая аптека.– 2001.– № 5.– С. 44–49.
12. *Хетагурова Л. Г.* Хронопатология: экспериментальные и клинические аспекты.– М.: Наука-М, 2004.– 355 с.
13. Chronopharmacology of antihypertensives / M. Pizzuto, J. Portelli, A. Serracino-Inglott [et al.] // Journal of Applied Therapeutic Research.– 2010.– № 7 (4).– P. 133–140.
14. *Lemmer B.* Cardiovascular clinical chronopharmacology. The ticking of the biological clock / B. Lemmer // Annual Meeting Safety Pharmacology Society.– Innsbruck, Austria, 2011.
15. *Lemmer B.* Chronopharmacology has an impact on the treatment of hypertension / B. Lemmer // 2nd International Congress of Applied Chronobiology and Chronomedicine. Tunis, Tunesia 23–28 March 2007.– P. 7.
16. *Вилковыский Ф. А.* Клиническая хронофармакология в кардиологии / Вилковыский Ф. А., Удалов С. Г. // Клиническая фармакология и терапия.– 2003.– Т. 12, № 1.– С. 94 –96.– ISSN 0869 5490
17. Shigehiro Ohdo Chrono-Drug-Delivery Focused on Biological Clock: Intra- and Inter-Individual Variability of Molecular Clock // Advanced Drug Delivery Reviews.– 2010.– № 62 (9).– P. 946–955.
18. *White W. B.* Blood pressure monitoring in cardiovascular medicine and therapeutics / W. B. White // Totowa, N J: Humana.– 2001.
19. *Хапав Б. А.* Суточное мониторирование параметров функционирования сердечно-сосудистой системы у лиц с повышенным артериальным давлением: автореф. дис. … д-ра мед. наук.– М., 2001.– 24 с.

С. М. Дроговоз, Е. В. Матвеева

Преимущества хронофармакологического подхода к лечению гипертонической болезни

Фармакотерапия гипертонической болезни остается сложной проблемой, несмотря на появление новых эффективных лекарств. Это часто связано с тем, что при традиционном назначении гипотензивных средств, несмотря на улучшение самочувствия больного, не удается восстановить нарушенный циркадный (суточный) ритм АД, однако этого можно достичь при рациональном подходе с учетом индивидуальных особенностей биоритмов АД. Хронотерапевтичний подход особенно эффективен при долгосрочной терапии пациентов с гипертонической болезнью.

Ключевые слова: гипертоническая болезнь, гипотонические препараты, хронофармакология

S. M. Drogovoz, E. V. Matveeva

The benefits of chronopharmacology approach to arterial hypertension treatment

Despite the emergence of new effective drugs pharmacotherapy of arterial hypertension is not completely solved problem. This is often due to the fact that the traditional administration of antihypertensive drugs, despite improvements in treatment effects, it can not restore the broken circadian (daily) rhythm of blood pressure, but this can be achieved with a rational approach to suit the individual patient's blood pressure biorhythms. Chronotherapeutic approach is particularly effective in the long-term treatment of patients with essential hypertension.

Key words: arterial hypertension, antihypertensive medicines, chronopharmacology

Надійшла: 14.11.2012 р.

Контакта особа: Дроговоз Світлана Мефодіївна, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології, Національний фармацевтичний університет, вул. Мельникова, 12, м. Харків, 61002. Тел /факс: +38 0 57 706 30 69. Електронна пошта: DrogovozSM@mail.ru

УДК: 547.792.1:547.728.2:577.352

А. І. Юрченко

Скринінг аналгетичної дії похідних 4-оксо(аміно-)хіназоліну

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова

Ключові слова: аналгетична дія, похідні 4-оксо(аміно-)хіназоліну, диклофенак натрію, кетанов

Оскільки проблема знеболювання займає одне з центральних місць у сучасній медицині, сьогодні ненаркотичні аналгетики та нестероїдні протизапальні препарати набули широкого використання їх у клініці для фармакокорекції больових синдромів різного генезу [1]. Однак, враховуючи частоту виникнення на тлі вказаних лікарських засобів таких побічних ефектів, як ульцерогенна дія, нефро-, гемо- та гепатотоксичність, застосування їх у практичній медицині обмежене, а подекуди і протипоказане [2]. Тому залишається актуальним пошук хімічних речовин, перспективних для створення більш ефективних та безпечних знеболюючих препаратів.

Аналізуючи дані наукової літератури, увагу привернули нові похідні 4-оксо(аміно-)хіназоліну з церебро- та стреспротекторною дією [3] та доведеною низькою токсичністю [4]. Також відомо, що їхні структурні аналоги – похідні (3-R-2 оксо-2H-[1,2,4]тріазино-[2,3-c]хіназолін-6-іл) карбонових кислот, є носіями аналгетичної активності [5]. Широкий фармакологічний потенціал сполук цього класу дає підставу сподіватись на наявність у них знеболюючої дії, що й стало підставою для проведення даного дослідження.

Для дослідження взято 18 оригінальних похідних 4-оксо(аміно-)хіназоліну (їхні лабораторні шифри наведено в таблиці), синтезованих на кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету під керівництвом професора С. І. Коваленка.

Мета дослідження – встановити наявність та охарактеризувати ступінь аналгетичного ефекту похідних 4-оксо(аміно-)хіназоліну, виявити сполуки-лідери, придатні для поглибленого вивчення їхніх фармакологічних властивостей.

Матеріали та методи. Експерименти проведено на нелінійних щурах-самицях, масою 160–250 г, яких утримували у віварії Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова на стандартному водно-харчовому раціоні при вільному доступі до води та їжі. Кожну речовину досліджували на групі тварин з 7 особин у дозі 10 мг/кг (взято емпірично), при внутрішньочеревинному (в/ч) уведенні. Як референс-препарат використовували ампульні розчини 2,5 % диклофенаку натрію («Hemofarm» AD, Сербія) та 0,3 % кетанову («Ranbaxy Laboratories Limited», Індія) у такій самій дозі.

Аналгезуючу дію досліджували на моделі больового синдрому, викликаного термічним подразненням у тесті занурювання хвоста щурів у гарячу воду 50 °C [6]. Знеболюючу дію кожної речовини оцінювали за показником максимального збільшенням тривалості латентного періоду ноцицептивного ефекту на 30-й або 60-й хв після введення досліджуваних сполук у % відносно початкового показника, прийнятого за 100 %.

Цифрові дані обробляли методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Ст'юдента. Вірогідними вважали зміни показників при $P \leq 0,05$ [7].

Результати та їх обговорення. Із даних, наведених у таблиці, видно, що при одноразовому введенні щурам досліджуваних сполук у дозі 10 мг/кг в/ч подібно до референс-препаратів спостерігається збільшення тривалості латентного періоду больової реакції тварин відносно фонового показника, що може бути ознакою наявності аналгетичного ефекту.

© А. І. Юрченко, 2013

Таблиця

Аналгетична активність похідних 4-оксо(аміно-)хіназоліну (M ± m, n = 7)

Шифр сполук	Доза мг/кг, в/о	Латентний період больової реакції, % відносно початкового показника
ПК-66	10,0	+169,6 ± 18,9*#
ПК-176	10,0	+128,0 ± 18,6*#
ПК-195	10,0	+126,4 ± 12,2*#
ПК-199	10,0	+96,0 ± 25,4*
Х-1	10,0	+88,2 ± 19,4*
ПК-51	10,0	+74,4 ± 20,8*
ПК-53	10,0	+73,0 ± 25,2
ПК-157	10,0	+73,0 ± 23,5*
ПК-193	10,0	+71,4 ± 21,2*
ПК-166	10,0	+66,5 ± 22,5
ПК-210	10,0	+50,9 ± 6,0*
ПК-32	10,0	+47,4 ± 19,3
ПК-41	10,0	+46,0 ± 11,9*
ПК-103	10,0	+44,20 ± 4,68*
ПК-205	10,0	+37,0 ± 7,5*
ПК-42	10,0	+30,0 ± 5,9*
Кетанов	10,0	+144,0 ± 2,4*
Диклофенак	10,0	+80,40 ± 1,95*

*Примітка. *P ≤ 0,05 відносно початкового (фонового) показника; #P ≤ 0,05 відносно диклофенаку.*

Найефективнішими виявилися похідні з лабораторними шифрами ПК-66, ПК-176 та ПК-195, які за величиною знеболюючого ефекту практично зіставлялись з кетановом, перевищуючи дію диклофенаку натрію. На тлі вказаних похідних 4-оксо(аміно-)хіназоліну спостерігали збільшення тривалості латентного періоду больової реакції відносно початкового показника відповідно на 169,6 %; 128,0 % та 126,4 % проти 144 % під впливом кетанову та 80,4 % на тлі диклофенаку натрію. Дещо менший за величиною знеболюючий ефект спостерігався під впливом сполук з лабораторними шифрами ПК-199, ПК-51, ПК-53, ПК-157, ПК-193, ПК-166 та Х-1, які за ефективністю в даному експерименті співставлялись з диклофенаком (табл.).

Знеболююча дія решти досліджуваних речовин була значно меншою. При цьому вони поступались як кетанову, так і диклофенаку натрію.

Оцінюючи результати проведеного дослідження, можна зазначити, що сполуками-лідерами за ступенем аналгетичного ефекту в даному експерименті є речовини з лабораторними шифрами ПК-66, ПК-176 та ПК-195, які в дозах 10 мг/кг в/о вірогідно перевершували дію диклофенаку натрію (10 мг/кг в/ч) відповідно у 2,1; 1,6 та 1,6 разу та були близькі до ефекту кетанову (10 мг/кг в/ч).

Саме ці сполуки обрано для подальшого, більш глибокого вивчення їхніх аналгетичних властивостей та механізмів дії.

Висновки

1. На моделі болю, викликаного термічним подразненням в щурів встановлено, що похідним 4-оксо(аміно-)хіназоліну притаманна знеболююча дія, що в найбільшому ступені проявилася в сполук з лабораторними шифрами ПК-66, ПК-176 та ПК-195.
2. За ступенем аналгетичного ефекту сполуки ПК-66, ПК-176 та ПК-195 у дозі 10 мг/кг в/ч близькі до кетанову (10 мг/кг в/о), вірогідно перевищуючи диклофенак: тривалість латентного періоду больової реакції на їхньому тлі зросла відповідно на 169,6 %, 128,0 %, 126,4 % проти 144 % (кетанов) та 80,4 % диклофенак) відносно початкового показника.

1. *Вікторов О. П.* Проблеми застосування аналгетиків-антипіретиків відповідно до критеріїв їх безпеки / О. П. Вікторов, В. Г. Кучер, О. В. Кашуба // Український ревматологічний журнал.– 2006.– № 2 (24).– С. 4–9.
2. Нестероїдні протизапальні препарати: ефективність, доступність, прийнятність для пацієнта / Чекман І. С., Вікторов О. П., Горчакова Н. О. [та ін.] // Фармаконагляд за безпекою застосування.– К.: Поліграф плюс, 2011.– 117 с.
3 *Ходаківський О. А.* Нейропротекторна дія похідних 4-оксо(аміно-)хіназоліну при експериментальній ішемії головного мозку: автореф. дис… канд. мед. наук: 14.03.05 / О. А. Ходаківський; Одес. держ. мед. ун-т.– О., 2009.– 21 с.– укр.
4. *Павлов С. В.* Церебропротективна активність похідних (4-оксо-4-Н-хіназолін-3-іл)-алкіл (арил) карбонових кислот в умовах іммобілізаційного стресу : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.05. «Фармакологія» / С. В. Павлов.– К., 2007.– 17 с.
5. Скринінг аналгетичної активності в ряду похідних (3-R-2-оксо-2Н-[1,2,4]триазино-[2,3-с] хіназолін-6-іл) карбонових кислот / Г. І. Степанюк, Н. Г. Чорноіван, С. І. Коваленко [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія.– 2011.– № 1 (20).– С. 52–54.
6. Лекарственные средства. Биоскрининг: под ред. А. В. Стефанова.– К.: Авиценна, 1998.– С. 56–58.
7. *Лапач С. Н.* Статистика в науке и бизнесе: практическое руководство / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич.– К.: Морион, 2002.– 640 с.

А. И. Юрченко

Скрининг анальгетической активности в ряду производных 4-оксо(амино-) хиназолина

В опытах на лабораторных крысах на модели боли (термическое раздражение – тест погружения хвоста) установлено, что для исследуемых веществ характерно анальгетическое действие. На это указывало (аналогично влиянию диклофенак натрия и кетанова) увеличение продолжительности латентного периода болевой реакции относительно фонового показателя после однократного внутрибрюшинного введения исследуемых соединений в организм животных в дозе 10 мг/кг. Наиболее эффективными оказались вещества с лабораторными шифрами ПК-66, ПК-176, ПК-195, которые по величине анальгетического действия статистически значимо превосходили диклофенак натрия и были сопоставимы с кетановом. Данные производные представляют интерес для дальнейшего, более глубокого изучения их фармакологических свойств.

Ключевые слова: анальгетическое действие, производные 4-оксо (амино-) хиназолина, диклофенак натрия, кетанов

A. I. Yurchenko

Screening of analgesic action of 4-oxo (amino) quinasoline derivatives

On the model of pain in rats (the thermal irritation of tail) found that analgesic effect is inherent in the derivatives. This was indicated by the prolongation of the latent period after a single injection of the substances to the animals. The greatest analgesic activity was detected in compounds with laboratory code PC-66, 176, 195 prevails to the efficiency of sodium diclofenac and close of ketanov. Marked derivatives are of interest for in-depth study of their pharmacological properties.

Key words: analgetic activity, derivatives 4-oxo (amino-) quinasoline, sodium diclofenac, ketanov

Надійшла: 01.12.2012 р.

Контактна особа: Юрченко Ганна Іванівна, асистент, кафедра фармації, ВНМУ імені М. І. Пирогова, вул. Пирогова 56, м. Вінниця, 21018.
Тел.: +38 0 63 140 81 03. Електронна пошта: annachivanna@gmail.com

CONTENT

REVIEWS

Britsun V. N., Vrynchanu N. A. Structure features and antibacterial activity of 1,2- disubstituted benzimidazoles 3

Kononevich Yu. M., Bobkova L. S., Demchenko A. M. The investigation of the quantitative relationship between the structures of the cyclopenta[*d*]pyrimidine-2,4(3*H*,5*H*)-diones and their spasmolytic activity 13

Checkman I. S., Moshchych O. P., Antonchenko V. Ya., Maksimyuk L. M., Zagorodnyy M. I. Homeopathy and nanomedicine: general and particular 21

CONTEMPORARY ASPECTS OF NEUROPHARMACOLOGY

Marynych L. I., Stepaniuk H. I., Pashyns'ka O. S., Kovalenko S. I., Voskoboynik O. Y. The effect of 6-substituted 3R-2H-[1,2,4] triazino [2,3-c] quinazolin-2-ons (compound MT-279 and MT-282) on the central and cerebral hemodynamics of intact animals and under the acute ischemic stroke modeling 26

Sidorova J., Obraztsova O., Talalaenko A. Development of rational approaches to therapy of anxiety and depressive syndromes in experimental chronic inflammation 31

IN SCIENTIFIC LABORATORIES

Voronina A. K., Borshchevskiy G. I. Hepatoprotective efficiency L'esfal in rats with experimental hepatitis 37

Yeromenko R. F., Maloshtan L. M., Yatsenko O. Yu. The study of the pharmacological activity of extract Medicago sativa sowing grass under conditions of subchronic hepatitis on rats 42

Kirichek L. T., Perepelitsa A. V., Kalchuk R. O. Antioxidant and stressprotective effects of piracetam under modeling of surgical trauma and inflammation of oral mucosa 47

Kononenko A. V., Drogovoz S. M., Krivoruchko O. V. Sorbus aucuparia leaves is a perspective raw material for obtaining the drugs with anti-arthritic action 51

Romanenko E. G., Mamchur V. I., Lievykh A. E. Importance of nitric oxide in ensuring of trophic function of lamina propria of the gum in experimental gastroduodenitis 56

Semenchenko O. M., Tsurkan A. A., Korableva O. A. Determination of the organic acids in the herb of salvia verticillata, salvia patens and salvia officinalis by high effective instrumental methods of analysis 61

Seredinskaya N. N., Kirychok L. M., Mohort N. A., Pavluk A. V. Comparison of the antiinflammatory activity of Nimesulide, Diclofenac and Amlodipine under condition of adjuvant arthritis 65

Sharykina N. I., Khavych O. O., Karazuba T. A., Pendelyuk S. I., Meshkova N. O., Zakharenko V. V. The influence of adrenergic drugs on tumor growth and antitumor activity of Chlofiden 70

Shysh A. M., Frantsuzova S. B., Nagibin V. S., Moibenko A. A. Mechanisms of cardioprotective effect of omega-3 polyunsaturated fatty acids in acute damage of myocardium under immobilization stress 76

CLINICAL PHARMACOLOGY

Drogovoz S. M., Matveeva E. V. The benefits of chronopharmacology approach to arterial hypertension treatment 84

RESEARCHES OF YOUNG SCIENTISTS

Yurchenko A. I. Screening of analgesic action of 4-oxo (amino) quinasoline derivatives 89