

Академія медичних наук України

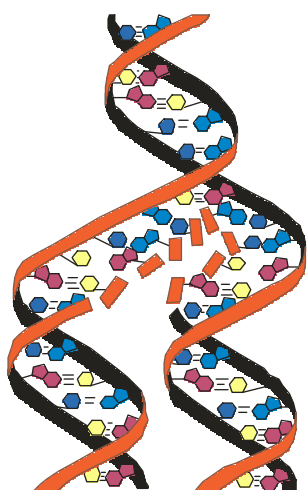
Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця

Українська Академія наук

# МЕДИЧНА ХІМІЯ

**НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ**



*Academy of Medical Sciences of Ukraine  
Ternopil State Medical University by I.Ya. Horbachevsky  
National Medical University by O.O. Bogomolets  
Ukrainian Academy of Sciences*

# MEDICAL CHEMISTRY

**SCIENTIFIC JOURNAL**

**3** TOM 9  
2007

- ❖ *Молекулярні механізми розвитку патології*
- ❖ *Біохімія у діагностиці та лікуванні*
- ❖ *Біохімія серцево-судинних хвороб*
- ❖ *Біохімічна гепатологія та нефрологія*
- ❖ *Біохімія ендокринних хвороб*
- ❖ *Патохімія спадкових хвороб*
- ❖ *Патохімія екстремальних станів*
- ❖ *Біохімія в хірургічній клініці*
- ❖ *Нейрохімія та патохімія головного мозку*
- ❖ *Імунохімія*
- ❖ *Біохімія радіаційних уражень*
- ❖ *Біохімічні аспекти моделювання патологічних процесів*
- ❖ *Ксенобіохімія*
- ❖ *Методи біохімічних досліджень*
- ❖ *Історія біохімії*
- ❖ *Проблеми і досвід викладання біологічної та медичної хімії*
- ❖ *Інформація, хроніка, ювілеї*
  
- ❖ *Molecular Mechanisms of Pathology Development*
- ❖ *Biochemistry in Diagnostics and Treatment*
- ❖ *Biochemistry of Cardiovascular Diseases*
- ❖ *Biochemical Hepatology and Nephrology*
- ❖ *Biochemistry of Endocrinopathy*
- ❖ *Pathochemistry of Hereditary Diseases*
- ❖ *Pathochemistry of Extremal States*
- ❖ *Biochemistry in Surgical Clinics*
- ❖ *Neurochemistry and Pathochemistry of Cerebrum*
- ❖ *Immunochemistry*
- ❖ *Biochemistry of Radiation Injuries*
- ❖ *Biochemical Aspects of Simulation of Pathologic Processes*
- ❖ *Xenobiochemistry*
- ❖ *Methods of Biochemical Investigations*
- ❖ *History of Biochemistry*
- ❖ *Problems and Experience of Biological and Medical Chemistry Teaching*
- ❖ *Information, Chronicle, Jubilees*

## МЕДИЧНА ХІМІЯ

Науковий журнал

## MEDICAL CHEMISTRY

Scientific Journal

ISSN 1681-2557

Виходить з 1999 року  
Published since 1999

Свідоцтво про державну реєстрацію: серія KB № 3647  
Certificate of state registration: series KB № 3647

Передплатний індекс: 22869  
Subscription index: 22869

Відповідно до постанови Президії ВАК України № 1-05/7 від 09.06.1999 р. журнал "Медична хімія" внесений до переліку фахових видань, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата медичних, фармацевтичних і біологічних наук.

Журнал "Медична хімія" акредитований науково-видавничою радою Президії АМН України (лист № 02-17/1341 від 25.10.2001 р.).

### АДРЕСА РЕДАКЦІЇ:

Журнал "Медична хімія"  
Видавництво "Укрмедкнига"  
Майдан Волі, 1  
46001, м. Тернопіль  
УКРАЇНА

### EDITORIAL OFFICE ADDRESS:

Journal "Medical Chemistry"  
Publishing House "Ukrmedknyga"  
Maidan Voli, 1  
46001, Ternopil  
UKRAINE

Tel.: (0352) 52-78-54  
(0352) 52-44-92

Fax: (0352) 52-41-83  
<http://www.tdmu.edu.te.ua>

За зміст рекламних матеріалів відповідальність несе рекламодавець. При передруці або відтворенні повністю чи частково матеріалів журналу "Медична хімія" посилання на журнал обов'язкове.

© Науковий журнал "Медична хімія"  
© Scientific Journal "Medical Chemistry"

## Зміст

### ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

- Тюпка Т.І., Березнякова А.І., Мохорт М.А. (Харків, Київ) ЗМІНИ ЗОВНІШНЬОГО ДИХАННЯ ПРИ ГОСТРОГІПОКСИЧНОМУ НАБРЯКУ ЛЕГЕНЬ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ПРОФІЛАКТИЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ЕНАПУ 5
- Артемченко А.Г., Поліщук П.Г., Борисюк І.Ю., Муратов Є.М., Кузьмін В.Є., Головенко М.Я. (Одеса) ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРІОДУ НАПІВВИВЕДЕННЯ ПРЕПАРАТІВ ПОХІДНИХ 1,4-БЕНЗДІАЗЕПІНУ НА ОСНОВІ КОМБІНАЦІЇ СИМПЛЕКСІВ 10
- Губський Ю.І., Задоріна О.В., Брюзгіна Т.С., Ерстенюк Г.М. (Київ) ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СПЕКТР ЛІПІДІВ МЕМБРАН ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ ЗА УМОВ ОТРУЄННЯ ХЛОРИДОМ КАДМІУ ТА КОРЕКЦІЇ УНІТІОЛОМ 18
- Пашковська Н.В. (Чернівці) ОСОБЛИВОСТІ ПОКАЗНИКІВ ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ ПЛАЗМИ КРОВІ ХВОРИХ НА ДІАБЕТИЧНУ ЕНЦЕФАЛОПАТІЮ ЗАЛЕЖНО ВІД ЇЇ СТАДІЇ 22
- Швед М.І., Горська О.В., Козій Н.І. (Тернопіль) ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В ПРОГРЕСУВАННІ АНКІЛОЗИВНОГО СПОНДИЛОАРТРИТУ 27
- Садляк О.В. (Львів) ЕФЕКТИ NO ТА ЙОГО СТАБІЛЬНИХ МЕТАБОЛІТІВ У ЛІМФОЦИТАХ БІЛИХ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ХРОНІЧНОМУ ГІПЕРІМУНОКОМПЛЕКСНОМУ СИНДРОМІ ЗА УМОВ *IN VIVO* 33
- Колісник М.І., Борецька Н.І., Камінська М.В. (Львів) ВПЛИВ БІОМАСИ КАРОТИНОСИНТЕЗУВАЛЬНИХ ДРІЖДЖІВ *PHAFFIA RHODOZYMA* НА СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ПЕЧІНКИ ПРИ ІНТОКСИКАЦІЇ ЩУРІВ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ 37
- Репетева О.В. (Харків) ВПЛИВ НОВОГО СТРУКТУРНОГО АНАЛОГА МЕЛАТОНІНУ НА ОРГАНИ ТА СИСТЕМИ ЩУРІВ У ХРОНІЧНОМУ ЕКСПЕРИМЕНТІ 41
- Максим'юк Г.В. (Львів) СПІВВІДНОШЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЙ  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Na^+$  І ВИСОКОМОЛЕКУЛЯРНИХ НАСИЧЕНИХ НЕЕТЕРИФІКОВАНИХ ФОРМ ЖИРНИХ КИСЛОТ МІЖ СПЕРМАЛЬНОЮ ПЛАЗМОЮ ТА СПЕРМАТОЗОЇДАМИ 46
- Набока О.І., Березнякова А.І. (Харків) ВПЛИВ КАРБОРЕНУ НА ФІБРИНОЛІТИЧНУ АКТИВНІСТЬ ПЛАЗМИ КРОВІ, СЕЧІ ТА ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ 50
- Годованець О.І. (Чернівці) ОСОБЛИВОСТІ ПРООКСИДАНТНОЇ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ РОТОВОЇ РІДИНИ У ДІТЕЙ, ЯКІ МЕШКАЮТЬ НА НІТРАТНОЗАБРУДНЕНИХ ТЕРИТОРІЯХ 54
- Лихацький П.Г., Фіра Л.С., Мосейчук І.П. (Тернопіль) ЗАСТОСУВАННЯ АНТИОКСИДАНТІВ ТА ЕНТЕРОСОРБЕНТІВ В УМОВАХ ХІМІЧНО-РАДІАЦІЙНОГО УРАЖЕННЯ ТВАРИН 59
- Каплаушенко А.Г. (Запоріжжя) БУДОВА ТА ДІУРЕТИЧНА АКТИВНІСТЬ АМІНО- І ТІОПОХІДНИХ 1,2,4-ТРИАЗОЛУ 65

## Contents

### ORIGINAL INVESTIGATIONS

- Tyupka T.I., Bereznyakova A.I., Mokhort M.A. (Kharkiv, Kyiv) CHANGES OF EXTERNAL RESPIRATION IN RATS WITH ACUTE HYPOXIC PULMONARY EDEMA UNDER CONDITIONS OF PREVENTIVE USE OF ENAP 5
- Artemenko A.H., Polischuk P.H., Borysyuk I.Yu., Muratov Ye.M., Kuzmin V.Ye., Holovenko M.Ya. (Odessa) PREDICTION OF HALF-LIFE PERIOD OF THE DRUGS OF 1,4-BENZDIAZEPINE DERIVATIVES ON BASIS OF SIMPLEX COMBINATION 10
- Hubsky Yu.I., Zadorina O.V., Briuzgina T.S., Erstenyuk H.M. (Kyiv) FATTY-ACID SPECTRUM OF MEMBRANE LIPIDS OF RAT HEPATOCYTES UNDER POISONING BY CADMIUM CHLORIDE AND CORRECTION BY UNITHIOL 18
- Pashkovska N.V. (Chernivtsi) PECULIARITIES OF THE INDICES OF BLOOD PLASMA PRO- AND ANTIOXIDANT SYSTEM OF PATIENTS WITH DIABETIC ENCEPHALOPATHY DEPENDING ON ITS STAGE 22
- Shved M.I., Horska O.V., Koziy N.I. (Ternopil) PATHOGENETIC ROLE OF OXIDATIVE STRESS IN PROGRESSION OF ANKYLOSIVE SPONDYLOARTHRITIS 27
- Sadlyak O.V. (Lviv) EFFECTS OF NO AND ITS STABLE METABOLITES IN LYMPHOCYTES OF WHITE RATS WITHIN EXPERIMENTAL CHRONIC HYPERIMMUNO-COMPLEX SYNDROME *IN VIVO* 33
- Kolisnyk M.I., Boretska N.I., Kaminska M.V. (Lviv) INFLUENCE OF CAROTENE-PRODUCING YEAST *PHAFFIA RHODOZYMA* BIOMASS ON ANTIOXIDANT SYSTEM OF RAT LIVER UNDER TOXICATION BY TETRACHLORMETHANE 37
- Repetyeva O.V. (Kharkiv) INFLUENCE OF NEW STRUCTURAL ANALOGUE OF MELATONIN ON ORGANS AND SYSTEMS OF RATS UNDER CONDITION OF CHRONIC EXPERIMENT 41
- Maksymjuk H.V. (Lviv) CONCENTRATION RATIO OF  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Na^+$  AND HIGH-MOLECULAR SATURATED NONETHERIFIED FATTY ACIDS BETWEEN SPERM PLASMA AND SPERMATOZOA 46
- Naboka O.I., Bereznyakova A.I. (Kharkiv) INFLUENCE OF KARBOREN ON FIBRINOLYTIC ACTIVITY OF BLOOD PLASMA, URINE AND INTERNAL ORGANS 50
- Hodovanets O.I. (Chernivtsi) PECULIARITIES OF PROOXIDANT AND ANTIOXIDANT SYSTEMS OF THE ORAL FLUID IN CHILDREN WHO LIVE ON TERRITORIES CONTAMINATED WITH NITRATES 54
- Lykhaty P.H., Fira L.S., Moseychuk I.P. (Ternopil) APPLICATION OF ANTIOXIDANTS AND ENTEROSORBENTS UNDER CONDITIONS OF CHEMICAL-RADIATION DAMAGE OF ANIMALS 59
- Kaplaushenko A.H. (Zaporizhzhya) THE STRUCTURE AND DIURETIC ACTIVITY OF THE AMINO- AND THIO-1,2,4-TRIAZOL DERIVATIVES 65

Андрейчин С.М., Скірак З.С. (Тернопіль) ЗВ'ЯЗУ- ВАЛЬНА ФУНКЦІЯ СИРОВАТКОВОГО АЛЬБУМІНУ	70	Andreychyn S.M., Skirak Z.S. (Ternopil) BINDING CAPACITY of SERALBUMIN
Бондар В.С., Медведєва Ю.П. (Харків) ОТРИМАННЯ ТА ІДЕНТИФІКАЦІЯ ОСНОВНОГО МЕТАБОЛІТУ ДИЛТІАЗЕМУ	74	Bondar V.S., Medvedyeva Yu.P. (Kharkiv) OBTAINING AND IDENTIFICATION OF MAIN METABOLITE OF DILTIAZEM
Грицик А.Р. (Івано-Франківськ) ДОСЛІДЖЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК ВИДІВ РОДУ ЩАВЕЛЬ	78	Hrytsyk A.R. (Ivano-Frankivsk) INVESTIGATION OF PHENOLIC COMPOUNDS of RUMEX FAMILY SPECIES
Мерецький В.М. (Тернопіль) ПОРУШЕННЯ ЛІПІДНОГО ТА ВУГЛЕВОДНЕВОГО ОБМІНУ І МЕТОДИ ЇХ КОРЕКЦІЇ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ	83	Meretsky V.M. (Ternopil) DISTURBANCES OF LIPID AND CARBOHYDRATE EXCHANGE AND METHODS OF THEIR CORRECTION AT THE EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

#### КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

Гапонова О.Г., Шуть І.В. (Харків) ВПЛИВ ЕКЗОГЕННОГО МЕЛАТОНІНУ НА ЕКСКРЕЦІЮ 6-СУЛЬФАТОКСИ- МЕЛАТОНІНУ ТА РІВНІ ЛЕПТИНУ І ГРЕЛІНУ У ХВОРИХ НА ФУНКЦІОНАЛЬНУ ДИСПЕПСІЮ З НАДЛИШКОВОЮ МАСОЮ ТІЛА	87	Haponova O.H., Shut I.V. (Kharkiv) THE INFLUENCE OF EXOGENOUS MELATONIN ON EXCRETION OF 6-SULFATOXYMELATONIN AND LEVELS OF LEPTIN AND GHRELIN IN PATIENTS WITH FUNCTIONAL DYSPEPSIA AND OVERWEIGHT
Гоцуля А.С., Панасенко О.І., Книш Є.Г. (Запоріжжя) 5-МЕТИЛ-4-(2-МЕТОКСИФЕНІЛ)-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3- ІЛТІО-АЦЕТАТНА КИСЛОТА ТА ЇЇ СОЛІ ЯК БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ СПОЛУКИ	91	Hotsulya A.S., Panasenko O.I., Knysh Ye.H. (Zaporizhzhya) 5-METHYL-4-(2-METOXYPHENYL)-1,2,4-TRYAZOL-3- ILTHIO)-ACETIC ACID AND ITS SALTS AS BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS
Кулагіна М.А., Сербін А.Г., Радько О.В., Сіра Л.М. (Харків) ВИВЧЕННЯ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ КОРИ, ЛИСТЯ ТА СУПЛІДЬ РОСЛИН РОДУ DUSCHEKIA OPIZ	94	Kulahina M.A., Serbin A.H., Radko O.V., Sira L.M. (Kharkiv) STUDY OF FATTY-ACID COMPOSITION OF BARK, LEAVES AND FLOSCULES OF PLANTS OF DUSCHEKIA OPIZ FAMILY
Дьяконова Я.В., Кисличенко В.С., Самородов В.М., Поспєлов С.В. (Харків, Полтава) ВСТАНОВЛЕННЯ АМІНОКИСЛОТНОГО ТА МІНЕРАЛЬНОГО СКЛАДУ ПЛОДІВ ЕХІНАЦЕЇ БЛІДОЇ	97	Dyakonova Ya.V., Kyslychenko V.S., Samorodov V.M., Pospelov S.V. (Kharkiv, Poltava) DEFINITION OF AMINOACID AND MINERAL COMPOSITION OF ECHINACEA PALLIDA FRUCTUS
Малиновський Ю.Ю., Чушенко В.М., Бондар В.С. (Харків) ВИВЧЕННЯ ПОЛІСАХАРИДІВ ТРАВИ БОЛИГОЛОВА ПЛЯМИСТОГО	100	Malynovsky Y.Y., Chushenko V.M., Bondar V.S. (Kharkiv) STUDY OF POLYSACCHARIDES OF HEMLOCK HERB
Гордієнко А.Д., Яковлева Л.В., Кудокотсева О.В. (Харків) ПОРІВНЯЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ АКТИВНОСТІ ФЛАВОНОЇДІВ НА НАТИВНИХ І ЗАМОРОЖЕНИХ ДО -196 °С МІКРОСОМАХ	103	Hordiyenko A.D., Yakovleva L.V., Kudokotseva O.V. (Kharkiv) COMPARATIVE RESEARCH OF FLAVONOID ANTIOXIDANT EFFECT ON NATIVE AND FROZEN TO -196 °C MICROSOMES
Воронцова Л.Л. (Запоріжжя) РЕТРОСПЕКТИВНИЙ АНАЛІЗ ПОКАЗНИКІВ СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ У ХВОРИХ НА РАК ГОРТАНІ З МЕТОЮ ПРОГНОЗУ- ВАННЯ ПОДАЛЬШОГО ПЕРЕБІГУ ЗАХВОРЮВАННЯ	106	Vorontsova L.L. (Zaporizhzhya) RETROSPECTIVE ANALY- SIS OF INDEXES OF NITRIC OXIDE SYSTEM AT PATIENTS WITH LARYNX CANCER WITH THE PURPO- SE OF PROGNOSIS OF FURTHER DISEASE COURSE
Кисличенко В.С., Ярошенко І.В., Кузнєцова В.Ю. (Харків) АМІНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД ЕКСТРАКТУ ХУДІЇ ТА БУЛЬБОКОРЕНІВ ЗОЗУЛИНЦЮ	109	Kyslychenko V.S., Yaroshenko I.V., Kuznetsova V.Yu. (Kharkiv) THE AMINOACID COMPOSITION OF HOODIA GORDONII AND ORCHID MILITARIS EXTRACT

#### ОГЛЯДИ

Антоняк Г.Л., Панас Н.Є., Жилищич Ю.В., Білецька Л.П. (Львів) ЕКОТОКСИКОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ВПЛИВУ КАДМІЮ НА ОРГАНІЗМ ЛЮДИНИ І ТВАРИН	112	Antonyak H.L., Panas N.Ye., Zhylyshchych Yu.V., Biletska L.P. (Lviv) ECOTOXICOLOGICAL ASPECTS OF CADMIUM EFFECT ON HUMAN AND ANIMAL ORGANISM
---	-----	---

#### BRIEF REPORTS

УДК 616.24-002:616.151

**ЗМІНИ ЗОВНІШНЬОГО ДИХАННЯ ПРИ ГОСТРОГІПОКСИЧНОМУ НАБРЯКУ ЛЕГЕНЬ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ПРОФІЛАКТИЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ЕНАПУ****Т.І. Тюпка<sup>1</sup>, А.І. Березнякова<sup>1</sup>, М.А. Мохорт<sup>2</sup>**  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ<sup>1</sup>, ХАРКІВ  
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ І ТОКСИКОЛОГІЇ УКРАЇНИ<sup>2</sup>, КИЇВ

*Експериментально вивчено вплив профілактичного введення інгібітора ангіотензинперетворюючого ферменту – енапу на показники газообміну та паттерн дихання при гострогіпоксичному набряку легень щурів. Встановлено, що превентивне застосування енапу зменшує прояви гострої гіпоксії і потенціює компенсаторні реакції організму на гіпоксію.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** паттерн дихання, газообмін, гіпоксія, набряк легень, енап.

ВСТУП. Найважливішу роль у розвитку набряку легень при гіпоксії відіграє підвищення легенево-капілярного фільтраційного тиску внаслідок легеневої вазоконстрикції [1]. Відомо, що ангіотензин II є головним ефекторним фактором судинного тону, промоуером росту м'язової стінки судин і може брати участь у розвитку гіпоксичної вазоконстрикції. Інгібіція ангіотензинперетворюючого ферменту (АПФ) зменшує рівень ангіотензину II і одночасно підвищує рівень брадикініну [2], який, у свою чергу, також знижує судинний тонус у системі легеневої артерії [3]. Однак існує багато суперечливих результатів досліджень стосовно можливої ролі ангіотензину II у гіпоксичній вазоконстрикції. Деякі дослідження показують, що інгібіція ренін-ангіотензинової системи через дію інгібіторів АПФ [5, 6] або блокаду рецепторів до ангіотензину II зменшує судинний легеневий тонус при нормоксії і гіпоксії [8]. Однак інші дослідження не підтверджують даний легеневий вазодилатаційний ефект як інгібіторів АПФ [7], так і антагоністів рецепторів ангіотензину II [5, 7]. Ці суперечності між одержаними результатами, можливо, пов'язані з різними умовами експерименту, зокрема з різною концентрацією гіпоксичної суміші, що може докорінно змінювати реакцію легеневого кровообігу, а також з різними умовами дослідження (гостра гіпоксія на фоні хронічної гіпоксії, хронічна гіпоксія, гіпоксія *in vitro*,

гіпоксія окремих органів, гіпоксія цілісного організму).

Таким чином, актуальність проведення досліджень у цьому напрямку не підлягає сумніву. У зв'язку з цим, метою досліджень стало встановлення впливу тяжкої гострої гіпоксії на паттерн дихання та швидкість газообміну за умов превентивного приймання препарату "Енап" (KRKA, Slovenia), головною діючою речовиною якого є інгібітор АПФ – еналаприл.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Для вивчення впливу ендogenous ангіотензину II у гіпоксичній вазоконстрикції на перебіг гострої гіпоксії використовували модель гострої гіпоксичної гіпоксії, розроблену у відділі з вивчення гіпоксичних станів Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України [3].

Досліди проводили на 60 білих нелінійних щурах-самцях масою 200-220 г. З ними поводилися відповідно до Міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментів та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986).

Щурів було поділено на три групи: 1-ша – інтактні тварини, 2-га – тварини з гострогіпоксичним набряком легень, 3-тя – тварини, яким за 30 хв до сеансу гострої гіпоксичної гіпоксії внутрішньовенно вводили енап в дозі 18 мкг/100 г маси тіла.

© Т.І. Тюпка, А.І. Березнякова, М.А. Мохорт, 2007.

Проведено дві серії експериментів: першу – на ненаркотизованих тваринах (по 10 щурів із кожної експериментальної групи), другу – на 30 щурах (по 10 із кожної групи), яких піддавали хлоралозо-уретановому наркозу (5 мг/100 г хлоралози і 50 мг/100 г уретану).

На ненаркотизованих щурах вивчали показники зовнішнього дихання, альвеолярної вентиляції, часових інтервалів дихального циклу та газообміну, які вимірювали із застосуванням дослідної установки для вивчення об'ємно-часових параметрів дихання та газообміну в лабораторних тварин [3] та використанням спеціальної дихальної маски, виготовленої за розміром голови тварини, з об'ємом підмаскового простору не більше 0,3 мл. У маску вмонтовували капіляр мас-спектрографа МХ-6202, через який проводили безперервний відбір проб альвеолярного повітря. Альвеолярну вентиляцію розраховували за киснем з використанням рівняння Бора. По-

казники об'ємів приводили до системи VTPS, показники газообміну – до системи STPD [1].

Наркотизованих щурів під'єднували до установки через трахеостомічну канюлю. Далі проводили реєстрацію дихання за допомогою методу breath by breath [8], що дозволяло одержувати запис змін показників паттерну дихання, газообміну та ін. в динаміці дослідження.

Результати обробляли із застосуванням методик варіаційної статистики, розбіжність показників оцінювали за критерієм t-Ст'юдента при  $p < 0,05$  [4].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Вплив тяжкої гіпоксії на організм щурів проявлявся значними змінами зовнішнього дихання, які були викликані перебудовою системи дихання. Під час гіпоксії спостерігали ізовентиляторну перебудову паттерну дихання, при якому вентиляція легень змінювалася незначно, однак мало місце зростання частоти дихан-

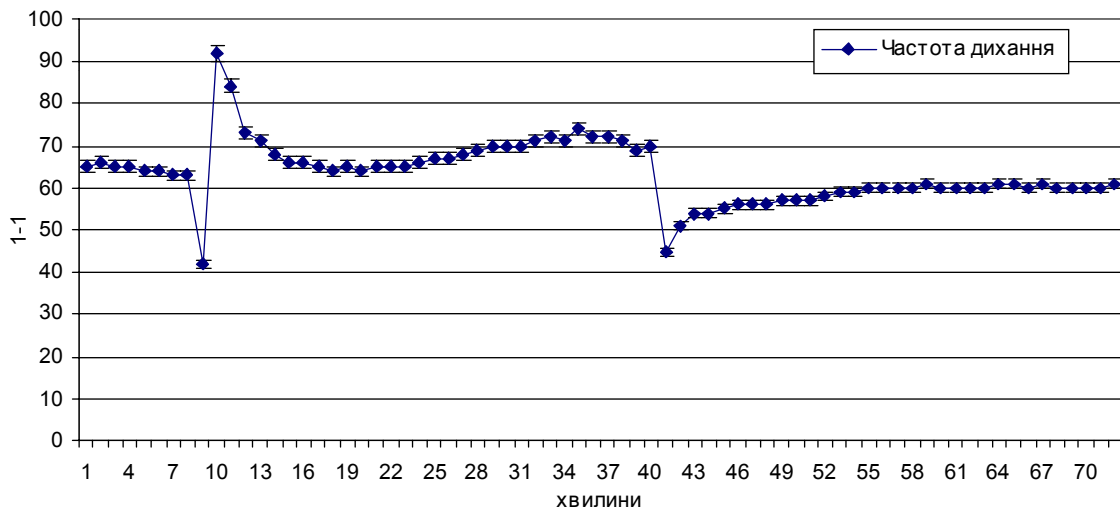


Рис. 1. Вплив тяжкої гіпоксії на частоту дихання у щурів.

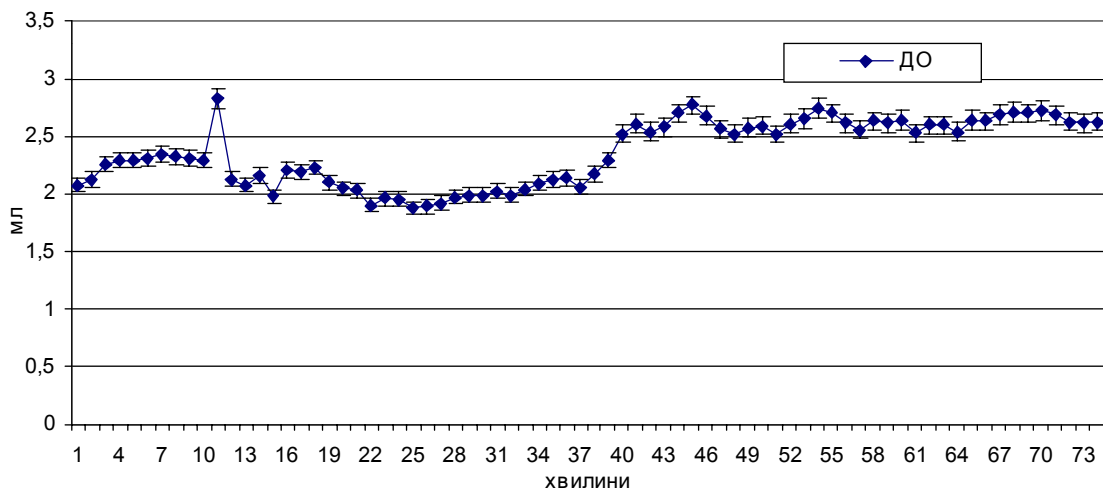


Рис. 2. Вплив тяжкої гіпоксії на дихальний об'єм у щурів.

ня на 8 %, а дихальний об'єм скорочувався на 12 % (рис. 1, 2). При цьому відзначали зменшення споживання кисню на 50 % (рис. 3). Зменшення споживання кисню зумовлене перш за все скороченням кровообігу, оскільки спазм судин легеневої артерії призводить до зменшення можливостей серця підтримувати хвилинний об'єм крові на попередньому рівні, й виникає гострий гіпометаболічний стан. При цьому має місце рефлекторне зменшення споживання кисню, що вважається захисною реакцією організму на гіпоксію.

Після дії гіпоксії спостерігали фазу гіпервентиляторної реакції, при якій організм тварини скорочував кисневий борг, який накопичився під час гіпоксії. Знову було відмічено ізовентиляторну перебудову паттерну дихання, при якому вентиляція легень суттєво не змінювалася, однак частота дихання зменшувалася на 10 %, а дихальний об'єм зростає на 11 % щодо початкового рівня. При цьому значно зростало споживання кисню, перевищуючи початковий рівень на 20 %.

Вплив тяжкої гострої гіпоксії після превентивного введення препарату "Енап" мав суттєві відмінності щодо змін зовнішнього дихання і газообміну від дії гіпоксії без введення енапу. На фоні введення препарату вентиляція легень суттєво не змінилась. Так, частота дихання зросла усього на 4 %, вірогідного зменшення дихального об'єму теж спочатку не спостерігали. Лише через 15 хв після дії гіпоксії він зменшився на 12 % і досягнув рівня, який був до введення препарату (рис. 4, 5).

Таким чином, у тварин після превентивного застосування препарату "Енап" ізовентиляторної перебудови паттерну дихання, яку спостерігали при тяжкій гострій гіпоксії без введення енапу, не відбувалося. Не спостерігали також і значного зниження споживання кисню щурами цієї групи, воно було помірним і складало лише 18 % (рис. 6). Однак період відновлення проходив так само як у тварин без попереднього введення препарату "Енап": мала місце ізовентиляторна перебудова паттерну дихання. При цьому вентиляція легень

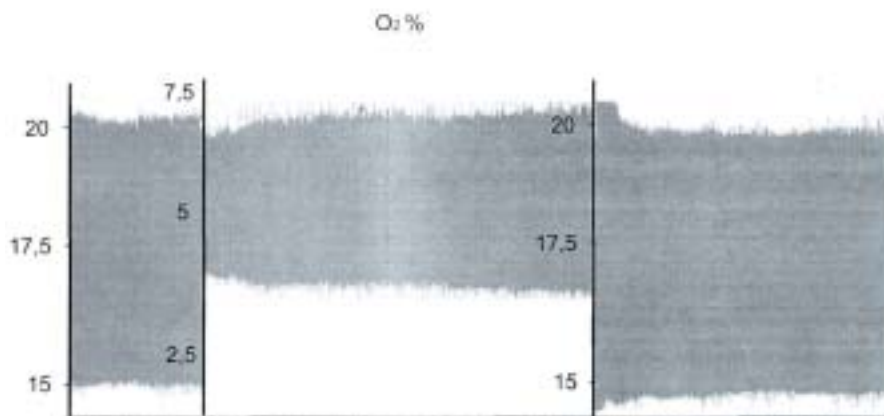


Рис. 3. Споживання кисню щурами під впливом тяжкої гіпоксії.

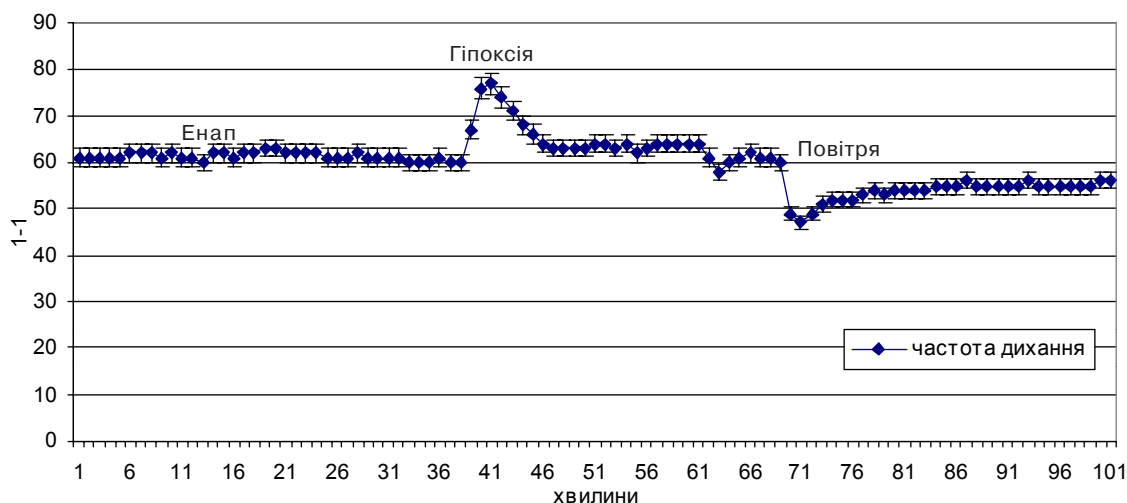


Рис. 4. Зміни частоти дихання у щурів з тяжкою гіпоксією під впливом профілактичного введення енапу.

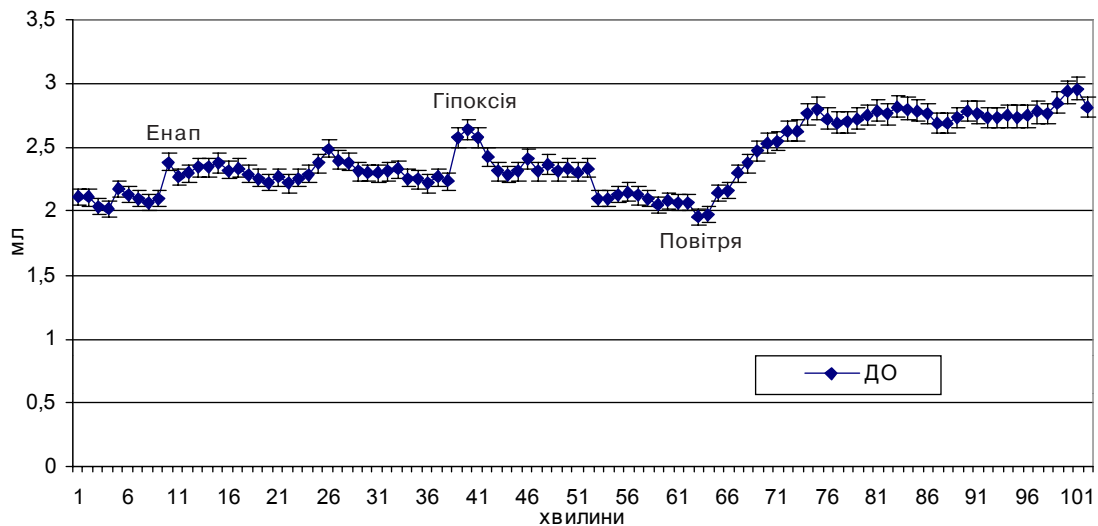


Рис. 5. Зміни дихального об'єму у щурів з тяжкою гіпоксією під впливом профілактичного введення енапу.

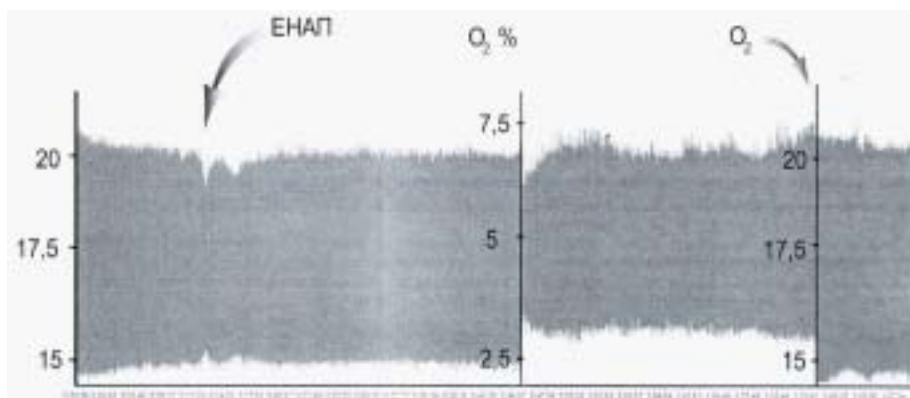


Рис. 6. Споживання кисню щурами з тяжкою гіпоксією при профілактичному застосуванні енапу.

суттєво не змінилася, однак частота дихання зменшилася на 10 %, а дихальний об'єм збільшився на 11 % порівняно з початковим рівнем. Вірогідного зростання споживання кисню не спостерігали.

З огляду на одержані результати, можна припустити, що після введення препарату "Енап", внаслідок його дії як інгібітора АПФ на судини легень, не виникали гіпоксична вазоконстрикція і скорочення кровообігу. За умов відсутності циркуляторного компонента, який має велике значення у розвитку гіпоксії [5], суттєвих гіпоксичних порушень не спостерігали.

Про це непрямо свідчить відсутність наявного кисневого боргу у тварин після дії гіпоксії.

**ВИСНОВОК.** У механізмі розвитку гострогіпоксичного набряку легень одну з найважливіших ролей відіграє ендогенний ангіотензин II, оскільки превентивне введення інгібітора ангіотензинперетворюючого ферменту – енапу – щурам зменшує прояви тяжкої гострої гіпоксії і потенціює розвиток компенсаторних захисних реакцій організму на гіпоксію, зокрема призводить до рефлекторного зменшення споживання кисню при гострогіпоксичному набряку легень.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Гриппи М.А. Патолофізіологія легких. – Изд. 2-е, испр. – М.: Бином, Х.: МТК-книга, 2005. – 304 с.
2. Ларина Т.А. Состояние органов дыхания у больных гипертонической болезнью // Клин. медицина. – 2002. – № 1. – С. 38-40.
3. Пожаров В.П. Автоматизированная установка для измерения объемно-временных параметров внешнего дыхания и газообмена у мелких лабораторных животных // Физиол. журн. – 1989. – **35**, № 4. – С. 119-121.



4. Ребова А.Ю. Статистический анализ медицинских данных. – М.: МедиаСфера, 2002. – 168 с.

5. Яблчанский Н.И. Самый классовый ингибитор ангиотензинпревращающего фермента // Здоров'я України. – 2005. – № 7. – С. 18-19.

6. Dechert R.E. The pathophysiology of acute respiratory distress syndrome // J. Respir. Care Clin. – 2003. – 9 (3). – P. 283-296.

7. Haitzma J.J., Lachmann R.A., Lachmann B. Lung protective ventilation in ARDS: role mediators, PEEP and surfactant // Monaldi Arch. Chest. Dis. – 2003. – 59 (2). – P. 108-118.

8. Zhao L., Al-Tubuly R., Sebki A. Angiotensin II receptor expression and inhibition in the chronically hypoxic rat lung // Br. J. Pharmacol. – 1996. – 119. – P. 1217-1222.

## ИЗМЕНЕНИЯ ВНЕШНЕГО ДЫХАНИЯ ПРИ ОСТРОГИПОКСИЧЕСКОМ ОТЕКЕ ЛЕГКИХ У КРЫС В УСЛОВИЯХ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ЭНАПА

Т.И. Тюпка<sup>1</sup>, А.И. Березнякова<sup>1</sup>, М.А. Мохорт<sup>2</sup>  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ<sup>1</sup>, ХАРЬКОВ  
ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ УКРАИНЫ<sup>2</sup>, КИЕВ

### Резюме

Экспериментально изучено влияние профилактического введения ингибитора ангиотензинпревращающего фермента – энапа на показатели газообмена и паттерн дыхания при острогипоксическом отеке лёгких крыс. Установлено, что превентивное применение энапа уменьшает проявления острой гипоксии и потенцирует компенсаторные реакции организма на гипоксию.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: паттерн дыхания, газообмен, гипоксия, отек легких, энап.

## CHANGES OF EXTERNAL RESPIRATION IN RATS WITH ACUTE HYPOXIC PULMONARY EDEMA UNDER CONDITIONS OF PREVENTIVE USE OF ENAP

T.I. Tyupka<sup>1</sup>, A.I. Berezyakova<sup>2</sup>, M.A. Mokhort<sup>2</sup>  
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY<sup>1</sup>, KHARKIV  
INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF UKRAINE<sup>2</sup>, KYIV

### Summary

Influence of the preventive entering of inhibitor of angiotensin-converting enzyme – enap on parameters of gas metabolism and pattern of respiration at acute pulmonary edema of rats has been studied experimentally. It has been installed that preventive use of enap reduces the manifestations of acute hypoxia and intensifies the reactions of compensation of organism on hypoxia.

KEY WORD: pattern of respiration, gas metabolism, hypoxia, pulmonary edema, enap.

Отримано 16.05.2007 р.

Адреса для листування: А.І. Березнякова, Національний фармацевтичний університет, вул. Мельникова, 12 (кафедра патологічної фізіології), Харків, 61002, Україна.

## ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРІОДУ НАПІВВИВЕДЕННЯ ПРЕПАРАТІВ ПОХІДНИХ 1,4-БЕНЗДІАЗЕПІНУ НА ОСНОВІ КОМБІНАЦІЇ СИМПЛЕКСІВ

А.Г. Артеменко, П.Г. Поліщук, І.Ю. Борисюк,  
Є.М. Муратов, В.Є. Кузьмін, М.Я. Головенко  
ФІЗИКО-ХІМІЧНИЙ ІНСТИТУТ ІМ. О.В. БОГАТСЬКОГО НАН УКРАЇНИ, ОДЕСА

*Досліджували взаємозв'язок між фізико-хімічними властивостями 1,4-бенздіазепінів та їх фармакокінетичним показником – періодом напіввиведення. Було використано метод симплексного представлення молекулярної структури.*

*Показано, що перевагою методу є не тільки можливість аналізу в межах однієї вибірки молекул, які значно відрізняються за структурою, але й вирішення зворотного завдання – виявлення у ряді бенздіазепінів загальних фрагментів структури (комбінацій симплексів).*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** 1,4-бенздіазепіни, період напіввиведення, QSAR/QSPR, симплексний метод.

ВСТУП. Бенздіазепіни відносять до найбільш використовуваних представників транквілізаторів. Вони проявляють заспокійливу (анксиолітичну) дію та, в деяких випадках, снодійний ефект (у нітразепаму він є основним). Достатньою мірою їм притаманна антиепілептична дія, у зв'язку з чим діазепам є засобом першої черги вибору при епілептичному статусі, а клоназепам, клобазам, феназепам та ін. – при деяких видах епілептичних нападів.

На сьогодні нараховується більше ніж 3 тис. сполук, синтезованих в хімічних лабораторіях світу, з них понад 30 є лікарськими засобами [1, 2]. Така велика кількість препаратів похідних бенздіазепіну дає можливість вибрати більш специфічного представника для лікування тієї чи іншої хвороби. Разом із тим, лікарю необхідні відповідні критерії для того щоб віддати препарату певні переваги [3]. Крім того, такі переваги повинні бути закладені у методологію конструювання інноваційних препаратів цього класу. Наявність переваг можна встановити за допомогою визначення фармакодинамічного або фармакокінетичного профілю.

Фармакодинамічним критерієм бенздіазепінів вважають тривалість дії: а) короткого часу – 2-10 год (оксазепам, темазепам, триазолам); б) середнього – 10-15 год (альпрозалам,

бромазепам, лоразепам); в) тривалого – 20-30 год (клобазам, клоназепам, діазепам, нітразепам).

Серед фармакокінетичних показників особливе місце посідає період напіввиведення ( $t_{1/2}$ ) бенздіазепінів, що включає час елімінації половини введеної дози препарату. Відповідає  $t_{1/2}$  часу досягнення 50 % концентрації сполуки в плазмі крові на ділянці моноекспоненціального зменшення її рівня, тобто в  $\beta$ -фазі. Фізіологічно цей показник визначається сумарною екскрецією та метаболізмом препарату, тобто його елімінацією.

Період напіввиведення тісно пов'язаний через кліренс з об'ємом розподілу та біодоступністю.

Залежно від  $t_{1/2}$  препарати бенздіазепінового ряду чітко поділені на три групи, тобто ті, що мають: а) тривалий період – понад 48 год, б) середній – 24-48 год, в) короткий – менше 24 год [11]. Зазначене робить доцільним пошук дескрипторів, що можуть відповідати показникам  $t_{1/2}$ .

Виходячи з вищевказаного, ми поставили собі за мету створення алгоритму та дослідницької версії програми розрахунку  $t_{1/2}$  на основі комбінації симплексів.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Як основний інструмент дослідження кількісного зв'язку структура – властивість був використаний

© А.Г. Артеменко, П.Г. Поліщук, І.Ю. Борисюк, Є.М. Муратов, В.Є. Кузьмін, М.Я. Головенко, 2007.

метод симплексного представлення молекулярної структури [9]. У цьому методі для опису молекулярної структури застосовують симплексні дескриптори, що відображають кількість чотириатомних фрагментів (симплексів) фіксованої структури, симетрії і хіральності. У межах даного представлення можна враховувати не тільки природу атома, але й ряд інших характеристик (наприклад, заряд, ліпофільність, поляризацію і под.), важливих для прояву сполукою її фармакокінетичних властивостей (рис. 1).

Важливими перевагами симплексного методу є можливість аналізу в межах однієї вибірки молекул, які значно відрізняються за структурою, і вирішення зворотного завдання – виявлення у ряді досліджуваних молекул загальних фрагментів структури (комбінацій симплексів), як тих, що сприяють, так і тих, що перешкоджають прояву досліджуваних властивостей [8].

Отже, на початковому етапі роботи для всіх молекул було розраховано симплексні дескриптори (понад 8 тисяч). Диференціацію атомів у симплексі проводили на основі таких характеристик [7], як: тип атома; частковий заряд на атомі; ліпофільність атома; рефракція; можливість атома виступати донором/акцептором водню в утворенні водневого зв'язку.

Побудову статистичних залежностей здійснювали методом класифікаційних дерев [5, 6], який все частіше використовують як альтернативу широко застосовуваному регресійним методам для побудови QSAR моделей.

Класифікаційне дерево, як і звичайне дерево, складається з:

- вузлів (місць розгалуження, або вершин), позначених прямокутниками;
- гілок, позначених відрізками, що сполучають вузли;
- кореня (першої вершини дерева);
- пелюсток (термінальних вершин, якими закінчуються ланцюжки “корінь–гілка–вершина–...–вершина”) (рис. 2).

Побудова класифікаційного дерева відбувається таким чином. На вхід (у корінь) подається деяка навчальна множина, яка містить об'єкти, що характеризуються атрибутами, один з яких визначає належність кожного об'єкта до певного класу. Далі алгоритм породжує загальні критерії для об'єктів одного класу. Для цього в кожній вершині, починаючи з кореня, визначається правило, на підставі якого і відбувається подальше розділення навчальної множини. Під правилом розуміють логічну конструкцію типу “якщо ... то”. Таке зростання дерева відбувається доти, доки у вершині не залишаться об'єкти, що належать до одного класу, тобто в результаті ми отримуємо термінальну вершину. Інакше кажучи, класифікаційні дерева – це спосіб подання правил в ієрархічній, послідовній структурі, де кожному об'єкту відповідає єдина вершина, що дає рішення.

Метод класифікаційних дерев має ряд переваг перед широко застосовуваними регресійними методами QSAR аналізу, такі, як швидкий процес навчання, інтуїтивно зрозуміла кла-

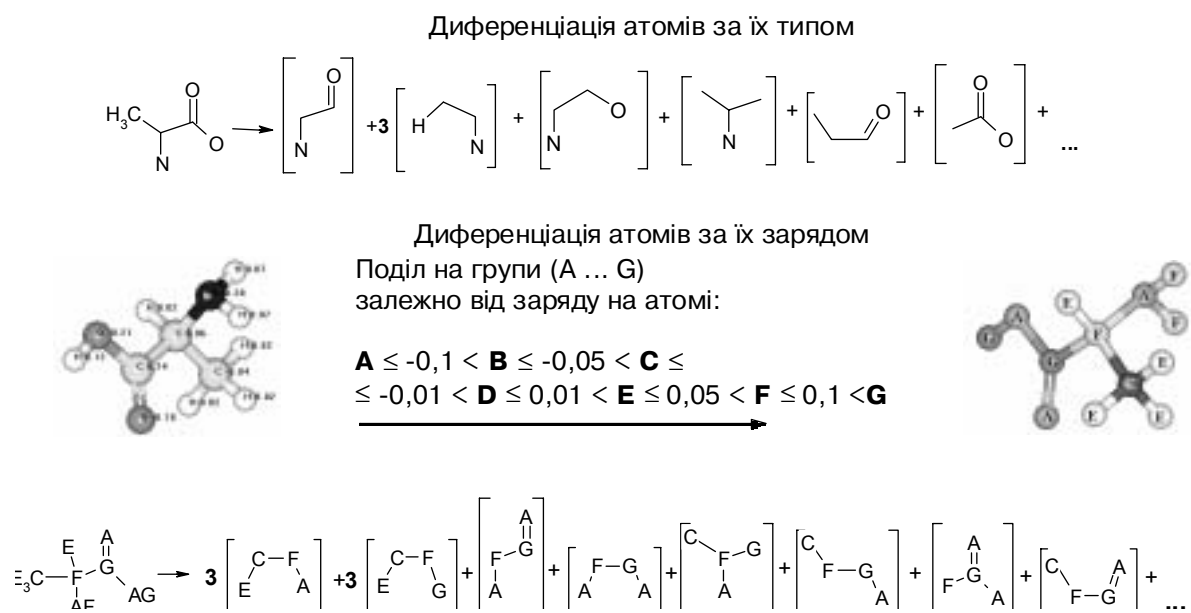


Рис. 1. Симплексне представлення молекулярної структури на прикладі молекули аланіну.

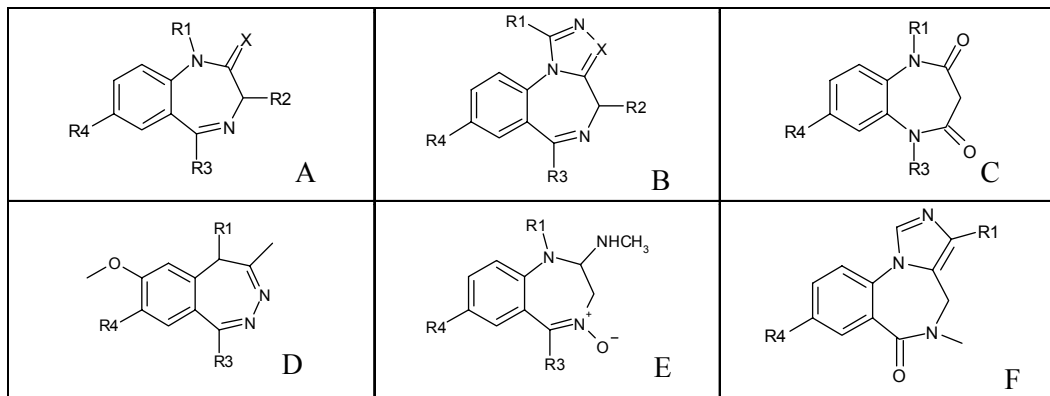
сифікаційна модель природною мовою, нелінійність отримуваних моделей і можливість побудови моделей у тих випадках, коли використовується не числова шкала, а класифікаційна.

Вибірку препаратів похідних 1,4-бенздіазепіну, що була використана в наших дослідженнях, наведено в таблиці 1.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Спостережені значення періоду напіввиведення наведено в таблиці 2. За цим показником всі препарати похідних 1,4-бенздіазепіну можна поділити на три групи значень: 1) тривалі; 2) середні; 3) низькі.

Бенздіазепіни в більшості випадків відносять до високоліпофільних сполук ( $\log P=2-4$ ),

Таблиця 1 – Структура похідних 1,4-бенздіазепіну



Назва препарату	Кістяк	X	R1	R2	R3	R4
Альпразолам	В	N	CH <sub>3</sub>	H	Ph	Cl
Бромазепам	А	O	H	H	2-піридил	Br
Галазепам	А	O	CH <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>	H	Ph	Cl
Гідазепам	А	O	CH <sub>2</sub> -CO-NHNH <sub>2</sub>	H	Ph	Br
Діазепам	А	O	CH <sub>3</sub>	H	Ph	Cl
Естазолам	В	N	H	H	Ph	Cl
Камазепам	А	O	CH <sub>3</sub>	O-CO-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Ph	Cl
Квазепам	А	S	CH <sub>3</sub>	H	o-F-Ph	Cl
Клобазам	С		CH <sub>3</sub>		Ph	Cl
Клоназепам	А	O	H	H	o-Cl-Ph	NO <sub>2</sub>
Клоразепат	А	O	H	COOK	Ph	Cl
Лоразепам	А	O	H	OH	o-Cl-Ph	Cl
Медазепам	А	2H	CH <sub>3</sub>	H	Ph	Cl
Мендон	А	O	H	COOH	Ph	Cl
Мідазолам	В	C	CH <sub>3</sub>	H	o-F-Ph	Cl
Нітразепам	А	O	H	H	Ph	NO <sub>2</sub>
Нордазепам	А	O	H	H	Ph	Cl
Оксазепам	А	O	H	OH	Ph	Cl
Піназепам	А	O	CH <sub>2</sub> CCH	H	Ph	Cl
Празепам	А	O	CH <sub>2</sub> -циклопропіл	H	1-циклогексеніл	Cl
Темазепам	А	O	CH <sub>3</sub>	OH	Ph	Cl
Тофізолам	D		C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>		3,4-диметокси-феніл	OCH <sub>3</sub>
Триазолам	В	N	CH <sub>3</sub>	H	o-Cl-Ph	Cl
Хлордіазепоксид	E		H		Ph	Cl
Феназепам	А	O	H	H	o-Cl-Ph	Br
Флумазеніл	F		CO-OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>			F
Флуразепам	А	O	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> N(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>	H	o-F-Ph	Cl
P02	А	O	H	OH	o-Cl-Ph	Br
P03	А	O	H	OCOCH <sub>3</sub>	o-Cl-Ph	Br
P04	А	O	H	OCO-CH(C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> ) <sub>2</sub>	o-Cl-Ph	Br
P05	А	O	H	OCO-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COOH	o-Cl-Ph	Br
P06	А	O	H	OCO-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> COOH	o-Cl-Ph	Br
P07	А	O	H	OCO-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	o-Cl-Ph	Br
P08	А	O	H	OCO-4-піридил	o-Cl-Ph	Br

Таблиця 2 – Значення періоду напіввиведення похідних 1,4-бенздіазепіну

Назва препарату	T <sub>1/2</sub>	
	Значення	Клас (С) <sup>*</sup>
Альпразолам	10-12	3
Бромазепам	8-20	3
Галазепам		
Гідазепам	86	1
Діазепам	43	2
Естазолам	10-24	3
Камазепам	12-24	3
Квазепам	36-120	1
Клобазам	10-30	3
Клоназепам	20-60	2
Клоразепат	48	2
Лоразепам	10-12	3
Медазепам	48-60	1
Мендон	12-24	3
Мідазолам	1,5-3,5	3
Нітразепам	18-25	2
Нордазепам	24	2
Оксазепам	8-10	3
Піназепам	48-60	1
Празепам	1,3	3
Темазепам	5-15	3
Тофізолам	6-8	3
Триазолам	1,5-5,5	3
Хлордіазепоксид	5-30	3
Феназепам	10-18	3
Флумазеніл	0,9	3
Флуразепам	36-120	1

Примітка. \* Класифікація за періодом напіввиведення: 1 – тривалий період, T<sub>1/2</sub>>48 год; 2 – середній період, T<sub>1/2</sub>=24-48 год; 3 – короткий період, T<sub>1/2</sub><24 год.

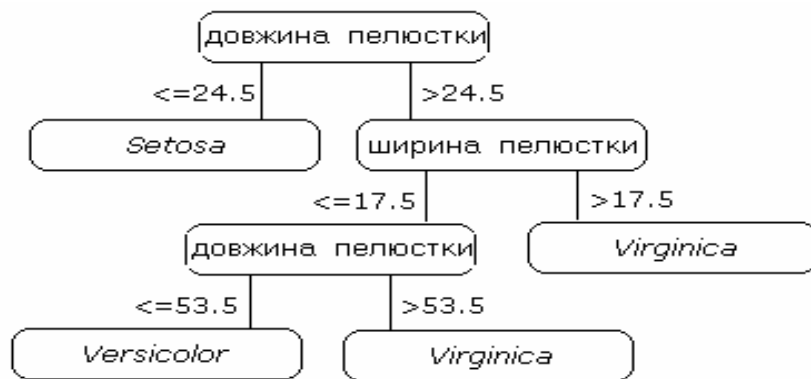


Рис. 2. Схема моделі класифікаційних дерев для ірисів Фішера.

і їх елімінація здійснюється за допомогою екскреції і метаболізму. Речовини з високим значенням t<sub>1/2</sub> в процесі метаболізму піддаються N<sup>1</sup>-деалкілуванню (CYP3A4), C3-гідроксилюванню (CYP2C19). Для цієї групи речовин відмічено ефект першого проходження [10], зумовлений кишковим і печінковим CYP450. З огляду на фармакометаболический профіль [4], всі метаболіти даної групи речовин проявляють аналогічний спектр психотропної дії, що є важливим у клінічній практиці.

Препарати другої групи відновлюють нітрогрупи в процесі метаболізму до амінопохідних (каталізують NAT1), що не характеризуються психотропною активністю.

Частина препаратів третьої групи (3-оксипохідні) в організмі людей утворюють відповідні неактивні глюкуроніди (каталізують UGT-1). Інша частина – триазолобенздіазепіни й імідазолобенздіазепіни – окиснюється в організмі людини до 3-оксипохідних (CYP3A4).

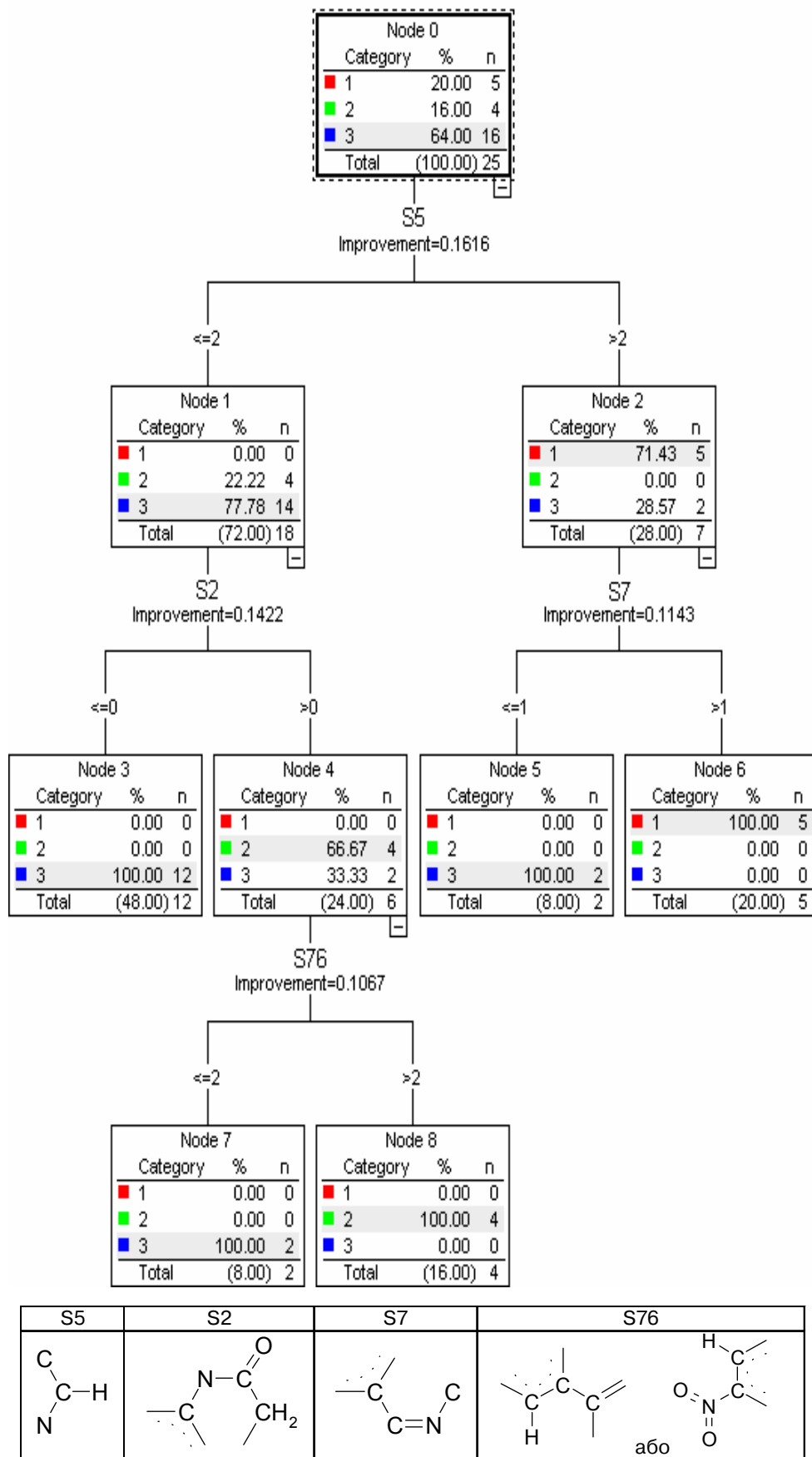
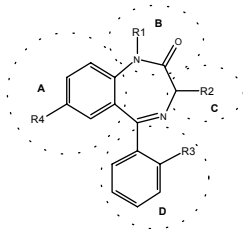


Рис. 3. Класифікаційне дерево за періодом напіввиведення похідних 1,4-бенздіазепіну.

Таблиця 3 – Відносний вплив структурних фрагментів похідних 1,4-бенздіазепіну на зміну їх періоду напіввиведення



Фрагмент	Ім'я	$\Delta$	Фрагмент	Ім'я	$\Delta$
	B14	-0,57		A01	0,02
	B11	-0,15		B08	0,03
	B13	-0,14		B05	0,03
	B12	-0,14		D04	0,04
	B10	-0,11		D03	0,05
	B07	-0,11		B02	0,06
	B04	-0,11		A02	0,06
	E01	-0,03		C04	0,06
	A03	-0,02		B09	0,06
	D01	-0,02		B06	0,06
	D05	0		B01	0,06
	C02	0		D02	0,08
				C03	0,16

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Запропоновану систему класифікації ми спробували інтерпретувати на основі структурних параметрів (молекулярних симплексів). Було побудовано класифікаційне дерево (рис. 3), за допомогою якого, використовуючи тільки чотири структурні параметри (S2, S5, S7, S76), вдалося безпомилково провести класифікацію всієї вибірки бенздіазепінів. У ході перевірки моделі із застосуванням процедури ковзного контролю виявлено до 32 % помилок, що є цілком прийнятним результатом.

Як свідчать отримані результати, до третього класу відносять бенздіазепіни, що в більшості випадків містять два або менше фрагменти S5 і не мають фрагментів S2. Сполуки другого класу також містять два або менше фрагменти S5, фрагменти S2 і мають більше ніж два фрагменти S76. До першого класу належать бенздіазепіни, що містять понад два фрагменти S5 і більше одного фрагмента S7.

Таким чином, побудоване класифікаційне дерево, на нашу думку, цілком придатне для якісних експрес-оцінок періоду напіввиведення препаратів бенздіазепінового ряду.

На основі отриманої моделі можна визначити роль різних фрагментів структури 1,4-бенздіазепінів (табл. 3), що мають найбільший вплив на зміну періоду напіввиведення пре-

парату. Як видно з таблиці 3, наявність ароматичних фрагментів у молекулах в основному сприяє швидкій елімінації з організму.

Усі отримані моделі були використані для прогнозу значень періоду напіввиведення деяких сполук бенздіазепінового ряду (див. табл. 1, сполуки P02-P08). Цікаво відзначити, що для всіх сполук прогнозується приналежність до третього класу (короткий період напіввиведення), оскільки вони містять два або менше фрагменти S5 і не мають фрагментів S2 (див. рис. 3, Node 3). Це і не дивно, оскільки сполука P02 за своїми структурними властивостями подібна до клоназепаму, який має  $t_{1/2}$ , що межує між другим і третім класами. Відповідно, 3-заміщені бенздіазепіни (P03-P08) в процесі гідролітичного розщеплення [4] формують в організмі основний метаболіт P02, що і проявляє їх фармакологічні властивості.

**ВИСНОВКИ.** 1. Доведена можливість аналізу сполук в межах однієї вибірки молекул та виявлення у ряді бенздіазепінів загальних фрагментів структури.

2. Використано систему класифікації, за допомогою якої було побудоване класифікаційне дерево, що дало змогу безпомилково класифікувати всю вибірку бенздіазепінів..

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Богатский А.В., Андронати С.А., Головенко Н.Я. Транквилизаторы (1,4-бенздиазепины и родственные структуры). – К.: Наук. думка, 1980. – 281 с.
2. Воронина Т.А., Середенин С.Б. Перспективы поиска анксиолитиков // Эксперим. и клин. фармакол. – 2002. – **65**, № 5. – С. 4-17.
3. Головенко М.Я., Борисюк І.Ю., Преподобна К.В. Біофармацевтичні підходи до раціонального використання препаратів бенздіазепінового ряду // Одес. мед. журнал. – 2006. – **12**, № 3. – С. 25-28.
4. Головенко Н.Я., Кравченко І.А. Биохимическая фармакология пролекарств. – Одесса: Экология, 2007. – 358 с.
5. Breiman L., Friedman J.H., Olshen R.A. et al. Classification and Regression Trees. – California, 1984.
6. Carhart R.E., Smith D.H., Venkataraghavan R. Atom pairs as molecular features in structure-activity studies. Definition and application // J. Chem. Inf. Comput. Sci. – 1985. – **25**. – P. 64-73.
7. Jolly W.L., Perry W.B. Estimation of atomic charges by an electronegativity equalization procedure calibration with core binding energies // J. Am. Chem. Soc. – 1973. – **95**. – P. 5442-5450.
8. Kuz'min V.E., Artemenko A.G., Lozitska R.N. et al. Investigation of anticancer activity by means of 4D QSAR based on simplex representation of molecular structure // SAR and QSAR in Env. Res. – 2005. – **16**. – P. 219-230.
9. Kuz'min V.E., Artemenko A.G., Polischuk P.G. et al. Hierarchic system of QSAR models (1D - 4D) on the base of simplex representation of molecular structure // J. Mol. Mod. – 2005. – **11**. – P. 457-467.
10. Perloff M., Von Moltke L., Court M. et al. Midazolam and triazolam biotransformation in mouse and human liver microsomes; relative contribution of CYP3A and CYP2C isoforms // Pharmacol. Exper. Therap. – 2000. – **292**, № 2. – P. 618-628.
11. Ray W., Griffin M., Downey W. Benzodiazepines of long and short elimination half-life and risk hip fracture // JAMA. – 1989. – **262**, № 23. – P. 3303-3307.



# ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ПЕРИОДА ПОЛУВЫВЕДЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-БЕНЗДИАЗЕПИНА НА ОСНОВЕ КОМБИНАЦИИ СИМПЛЕКСОВ

А.Г. Артеменко, П.Г. Полищук, И.Ю. Борисюк,  
Е.Н. Муратов, В.Е. Кузьмин, Н.Я. Головенко  
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ ИМ. А.В. БОГАТСКОГО НАН УКРАИНЫ, ОДЕССА

## Резюме

Исследовали взаимосвязь между физико-химическими свойствами 1,4-бенздиазепинов и их фармакокинетическим показателем – периодом полуэлиминации. Был использован метод симплексного представления молекулярной структуры.

Показано, что преимуществом метода является не только возможность анализа в границах одной выборки молекул, которые значительно отличаются по структуре, но и решение обратной задачи – выявление в ряду бенздиазепинов общих фрагментов структуры (комбинаций симплексов).

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: 1,4-бенздиазепины, период полувыведения, QSAR/QSPR, симплексный метод.

# PREDICTION OF HALF-LIFE PERIOD OF THE DRUGS OF 1,4-BENZDIAZEPINE DERIVATIVES ON BASIS OF SIMPLEX COMBINATION

A.H. Artemenko, P.H. Polischuk, I.Yu. Borysyuk,  
Ye.M. Muratov, V.Ye. Kuzmin, M.Ya. Holovenko  
PHYSICO-CHEMICAL INSTITUTE OF O.V. BOHATSKY OF THE NATIONAL ACADEMY  
OF SCIENCES OF UKRAINE, ODESSA

## Summary

Correlation between physico-chemical properties of 1,4-benzodiazepines and their pharmacokinetic parameter – half-life period have been investigated. Method of simplex conception of molecular structure has been used.

Advantage of the method is not only the possibility of analysis in limits of one sample of molecules which greatly differ by structure but also the solving of inverse problem – definition of common structural fragment (combinations of simplexes) are shown among 1,4-benzodiazepines.

KEY WORDS: 1,4-benzodiazepines, half-life period, QSAR/QSPR, simplex method.

Отримано 10.04.2007 р.

Адреса для листування: А.Г. Артеменко, Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України, Люстдорфська дорога, 86, Одеса, 65080, Україна.

## ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СПЕКТР ЛІПІДІВ МЕМБРАН ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ ЗА УМОВ ОТРУСННЯ ХЛОРИДОМ КАДМІЮ ТА КОРЕКЦІЇ УНІТІОЛОМ

Ю.І. Губський, О.В. Задоріна, Т.С. Брюзгіна, Г.М. Ерстенюк  
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

*Проведено газохроматографічний аналіз жирнокислотного спектра ліпідів мітохондрій та мікосомальної фракції клітин печінки щурів за умов інтоксикації хлоридом кадмію та корекції унітіолом. Показано, що введення твариною хлориду кадмію призводить до змін жирнокислотного спектра ліпідів мітохондріальної та мікосомальної фракцій клітин печінки, причому найбільш суттєво зменшується вміст арахідонової поліненасиченої жирної кислоти, вміст олеїнової жирної кислоти вірогідно підвищується. Введення унітіолу паралельно із введенням хлориду кадмію приводить до нормалізації вмісту олеїнової та арахідонової жирних кислот в досліджуваних субклітинних фракціях печінки.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** кадмієва інтоксикація, жирні кислоти, мітохондрії, мікосомальна фракція, гепатоцити, унітіол.

**ВСТУП.** На сьогодні різко зросла захворюваність населення. Однією з причин цього є хімічне забруднення навколишнього середовища, особливо іонами важких металів [2]. Важкі метали характеризуються високою токсичністю і біохімічною активністю, що дозволяє відносити їх до еко- та біоцидних ксенобіотиків [11, 12]. Одним з найтоксичніших металів є кадмій, потрапляння якого в навколишнє середовище може призвести до тяжких для населення наслідків [2, 11]. Кадмій належить до металів з високою біологічною активністю, здатністю до кумуляції та довгим періодом виведення з організму. Потрапляння його в організм призводить до накопичення цього ксенобіотика в печінці, нирках, підшлунковій та щитоподібній залозах [2]. Іони кадмію ефективно зв'язуються з функціональними групами білків, нуклеїнових кислот, низьмолекулярних метаболітів в організмі людини [2, 11].

У зв'язку з цим, вивчення молекулярних механізмів токсичного ураження мембранних структур клітин печінки за умов інтоксикації іонами кадмію та їх фармакологічної корекції є актуальним питанням. Метою нашого дослідження було вивчення жирнокислотного спектра ліпідів мітохондрій та мікосомальної фракції гепатоцитів за умов інтоксикації хлоридом кадмію та введення унітіолу.

© Ю.І. Губський, О.В. Задоріна, Т.С. Брюзгіна, Г.М. Ерстенюк, 2007.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Досліди проводили на щурах-самцях лінії Вістар масою 150-200 г. Кадмієву інтоксикацію спричиняли, внутрішньом'язово вводючи хлорид кадмію з розрахунку 1200 мкг/кг маси тіла тварини протягом 10 днів. Щурів було поділено на три групи: 1-ша – контроль, 2-га – тварини, яким вводили хлорид кадмію, 3-тя – хлорид кадмію+унітіол. Матеріал для досліджень забирали під легким ефірним наркозом на 14-ту добу після завершення введення хлориду кадмію. Виділення мітохондрій клітин печінки проводили методом диференційного центрифугування [6], мікосомальної фракції – методом ультрацентрифугування [9]. Газохроматографічний аналіз спектра жирних кислот ліпідів здійснювали на газовому хроматографі "Цвет-500" в ізотермічному режимі з полум'яно-іонізаційним детектором за методикою, описаною раніше [5]. Піки жирних кислот (ЖК) ідентифікували шляхом зрівняння часу утримування стандартів ЖК. Кількісно оцінювали спектр ЖК у складі ліпідів за нормування площин і визначали частку кислот у відсотках. У жирнокислотному складі мітохондріальної та мікосомальної фракцій клітин печінки було ідентифіковано 7 найбільш інформативних ЖК, таких, як: C<sub>16:0</sub> – пальмітинова, C<sub>18:0</sub> – стеаринова, C<sub>18:1</sub> – олеїнова, C<sub>18:2</sub> – лінолева, C<sub>18:3</sub> – ліноленова, C<sub>20:4</sub> – арахідонова, C<sub>20:3</sub> – ейкозотрієнова. Результати досліджень обробляли

варіаційно-статистичним методом з використанням критерію t-Стюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Проведені дослідження дозволили встановити, що за умов токсичного ураження біологічних мембран клітин печінки CdCl<sub>2</sub> відбуваються зміни в жирнокислотному складі ліпідів мітохондріальної та мікосомальної фракцій (табл. 1-2).

За умов хімічного отруєння CdCl<sub>2</sub> вірогідно зменшувався рівень арахідонової поліненасиченої жирної кислоти (ПНЖК) у мітохондріальній та мікосомальній фракціях клітин печінки. У мітохондріальній фракції клітин печінки також знижувався вміст ліноленової ЖК (див. табл. 1). Зменшення рівня арахідонової та ліноленової ПНЖК в мітохондріях та арахідонової в мікосомальній фракції клітин печінки зумовлене більшою мірою підвищеним використанням саме цих ПНЖК за умов активації процесів перекисного окиснення ліпідів, яка має місце при введенні хлориду кадмію. Активацію вільнорадикального окиснення ліпідів мікосомальної та мітохондріальної фракцій клітин печінки за хімічного отруєння було показано нами раніше [4, 7]. У мітохондріальній фракції клітин печінки за умов введення хлориду

кадмію відбулося зниження рівня ліноленової та арахідонової ПНЖК – на 43 % та 32,5 % відповідно порівняно з контролем. При цьому рівень мононенасиченої олеїнової ЖК вірогідно підвищувався на 15 %. Відбулося вірогідне збільшення рівня ейкозотрієнової ЖК на 48,6 %, що може свідчити про компенсаторний механізм на нестачу в організмі есенціальних жирних кислот. З даних, наведених у таблиці 1, видно, що рівень лінолевої кислоти в мітохондріальній фракції клітин печінки достовірно підвищувався на 16 %. Відомо, що саме ліолева кислота є попередником арахідонової. Стабільний рівень ПНЖК, можливо, підтримується підвищенням синтезу ейкозотрієнової кислоти з олеїнової. У мікосомальній фракції клітин печінки за умов введення хлориду кадмію відбулися достовірне зменшення рівня арахідонової ПНЖК – на 21,3 % та збільшення рівня мононенасиченої олеїнової ЖК – на 14 %. Зниження рівня арахідонової ПНЖК та підвищення рівня мононенасиченої олеїнової ЖК в плазмі крові щурів за умов отруєння хлоридом кадмію показано нами раніше [3].

Відомо, що при отруєнні солями важких металів використовують лікарські засоби, що

Таблиця 1 – Жирнокислотний спектр ліпідів мембран мітохондріальної фракції гепатоцитів за умов отруєння щурів хлоридом кадмію та введення унітіолу, % (M±m)

Жирні кислоти	Контрольна група, n=16	+CdCl <sub>2</sub> , n=10	CdCl <sub>2</sub> +унітіол, n=10
Пальмітинова – C <sub>16:0</sub>	43,8±1,8	39,9±1,8	36,7±2,1*
Стеаринова – C <sub>18:0</sub>	13,1±1,0	13,7±1,1	14,3±0,6
Олеїнова – C <sub>18:1</sub>	15,8±0,06	18,2±0,6*	17,0±0,3***
Ліолева – C <sub>18:2</sub>	14,0±0,4	16,3±0,8*	16,9±0,9*
Ліноленова – C <sub>18:3</sub>	1,4±0,05	0,8±0,1*	0,5±0,1*
Ейкозотрієнова – C <sub>20:3</sub>	3,5±0,8	5,2±0,8*	5,8±1,4*
Арахідонова – C <sub>20:4</sub>	8,3±0,9	5,6±0,7*	8,6±1,0**
Сума насичених ЖК	56,9±1,7	53,7±1,8	51,0±2,1*
Сума ненасичених ЖК	43,0±1,7	46,3±1,8	48,9±2,1*
Сума ПНЖК	27,2±1,7	27,9±2,5	31,8±1,0**

Примітка. Тут і в наступній таблиці: \* – вірогідна різниця (p<0,05) порівняно з контролем; \*\* – вірогідна різниця (p<0,05) порівняно з групою отруєних CdCl<sub>2</sub> щурів.

Таблиця 2 – Жирнокислотний спектр ліпідів мембран мікосомальної фракції гепатоцитів за умов отруєння щурів хлоридом кадмію та введення унітіолу, % (M±m)

Жирні кислоти	Контрольна група, n=16	+CdCl <sub>2</sub> , n=10	CdCl <sub>2</sub> +унітіол, n=10
Пальмітинова – C <sub>16:0</sub>	41,9±0,8	40,3±3,7	37,9±1,8*
Стеаринова – C <sub>18:0</sub>	13,0±0,6	14,7±0,6	14,8±0,9
Олеїнова – C <sub>18:1</sub>	16,2±0,4	18,5±0,5*	16,9±0,7**
Ліолева – C <sub>18:2</sub>	16,4±0,3	16,6±1,8	18,2±1,2*
Ліноленова – C <sub>18:3</sub>	0,9±0,3	1,3±0,7	0,7±0,3
Ейкозотрієнова – C <sub>20:3</sub>	4,0±0,6	3,6±1,0	3,8±1,3
Арахідонова – C <sub>20:4</sub>	7,5±0,1	5,9±0,3*	7,4±1,3**
Сума насичених ЖК	55,0±1,4	55,0±3,1	52,8±2,2*
Сума ненасичених ЖК	45,0±1,4	45,0±3,1	47,1±2,2
Сума ПНЖК	28,8±1,0	27,4±2,4	30,1±2,8

знижують концентрацію токсичних сполук в організмі. За умов отруєння солями важких металів застосовують унітіол, який проявляє непрямі антиоксидантні властивості та зв'язує токсичні агенти у неактивні сульфокон'югати [1, 8, 10, 13]. Введення отруєним щурам унітіолу приводить до нормалізації рівня арахідонової ПНЖК в мітохондріальній та мікросомальній фракціях клітин печінки (див. табл. 1-2). Вміст мононенасиченої олеїнової ЖК достовірно знижувався в мітохондріальній фракції клітин печінки порівняно з отруєними тваринами, але залишався на вищому рівні порівняно з контролем. У мітохондріальній фракції клітин печінки рівень олеїнової ЖК достовірно зменшувався порівняно з отруєними щурами і не відрізнявся від контролю. За умов введення унітіолу рівень лінолевої ПНЖК в мікросомальній фракції клітин печінки вірогідно зростає порівняно як з отруєними щурами, так і з контрольною групою.

Таким чином, проведений аналіз жирнокислотного спектра ліпідів мітохондріальної та мікросомальної фракцій клітин печінки за умов введення хлориду кадмію щурам свідчить про

порушення їх жирнокислотного складу, найбільш суттєво змінювався вміст олеїнової та арахідонової жирних кислот.

Результати вивчення впливу унітіолу на жирнокислотний склад ліпідів мембран мітохондріальної та мікросомальної фракцій клітин печінки свідчать про нормалізацію вмісту олеїнової та арахідонової ЖК, що сприяє стабілізації структури фосfolіпідів і збереженню їх функціональної здатності.

**ВИСНОВКИ.** 1. Встановлено, що за умов хімічного отруєння  $CdCl_2$  відбувається вірогідне зменшення рівня арахідонової та лінолевої ПНЖК у мітохондріальній та мікросомальній фракціях клітин печінки щурів.

2. У мітохондріальній фракції клітин печінки знижується рівень лінолевої ЖК, а також підвищується рівень олеїнової, лінолевої та ейкозотрієнової ЖК, що, можливо, є компенсаторним механізмом на нестачу в організмі основних есенціальних ЖК.

3. Введення унітіолу паралельно із введенням хлориду кадмію приводить до нормалізації вмісту олеїнової та арахідонової ЖК в досліджуваних субклітинних фракціях печінки.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Гонський Я.І., Кубант Р.М., Корда М.М., Шуліга О.В. Корекція унітіолом порушень вільнорадикальних та енергозабезпечувальних процесів у щурів з токсичним ураженням печінки // Мед. хімія. – 2002. – **4**, № 1. – С. 46-49.
2. Губський Ю.І., Долго-Сабуров В.Б., Храпак В.В. Химические катастрофы и экология. – К.: Здоров'я, 1993. – 220 с.
3. Губський Ю.І., Ерстенюк Г.М., Брюзгіна Т.С., Задоріна О.В. Жирнокислотний склад ліпідів еритроцитів і плазми крові за умов кадмієвої інтоксикації та в разі корекції унітіолом // Укр. біохім. журн. – 2003. – **75**, № 5. – С. 103-105.
4. Губський Ю.І., Левицький Є.Л., Задоріна О.В. Біохімічні та молекулярно-біологічні механізми хімічної загибелі клітин за ураження високотоксичними ксенобіотиками // Буковин. мед. вісник. – 2005. – **9**, № 2. – С. 76-77.
5. Гычка С.Г., Брюзгіна Т.С., Веретик Г.М., Рева С.Н. Газохроматографический метод определения липидных показателей крови при ишемической болезни сердца // Укр. кардиолог. журн. – 1998. – № 7-8. – С. 50-52.
6. Ещенко Н.Д. Выделение митохондриальной и цитоплазматической фракций тканей для анализа активности ферментов: Учеб. пособие // Методы биохимических исследований (липидный и энерге-

тический обмен) / Под ред. М.И. Прохоровой. – М.: Изд-во ЛГУ, 1982. – 272 с.

7. Задоріна О.В., Брюзгіна Т.С., Гладчук А.Б. та ін. Зміни оксигеназних реакцій та жирнокислотного складу ліпідів у печінці щурів за умов хімічного ураження // Мед. хімія. – 2004. – **6**, № 3. – С. 171.

8. Карп В.К., Данова І.В. Унітіол – антидот токсичних металів // Ліки. – 1997. – № 6. – С. 60-64.

9. Карузина И.И., Арчаков А.И. Выделение микросомной фракции печени и характеристика ее окислительных систем // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 49-62.

10. Максимов Ю.Н., Краснюк Е.П., Овруцкий В.М. и др. Антидотная эффективность резистезированного унитиола // Совр. пробл. токсикол. – 2000. – № 1. – С. 34-37.

11. Нейко Є.М., Губський Ю.І., Ерстенюк Г.М. Інтоксикація кадмієм: токсико-кінетика і механізм біоцидних ефектів // Журн. АМН України. – 2003. – **9**, № 2. – С. 250-261.

12. Трахтенберг И.М., Тычинин В.А., Талакин Ю.И. и др. К проблеме носительства тяжелых металлов // Журн. АМН Украины. – 1999. – **5**, № 1. – С. 87-95.

13. Nielsen J.B., Andersen O. Effect of thiol-containing chelators on disposition of orally administered mercuric chloride // Hum. Exp. Toxicol. – 1991. – **10**, № 6. – P. 23-30.

# ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СПЕКТР ЛИПИДОВ МЕМБРАН ГЕПАТОЦИТОВ КРЫС В УСЛОВИЯХ ОТРАВЛЕНИЯ ХЛОРИДОМ КАДМИЯ И КОРРЕКЦИИ УНИТИОЛОМ

Ю.И. Губский, О.В. Задорина, Т.С. Брюзгина, А.М. Эрстенюк  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. А.А. БОГОМОЛЬЦА

## Резюме

Проведен газохроматографический анализ жирнокислотного спектра липидов митохондрий и микросомальной фракции клеток печени крыс в условиях интоксикации хлоридом кадмия и коррекции унитиолом. Показано, что введение животным хлорида кадмия приводит к изменениям жирнокислотного спектра липидов митохондриальной и микросомальной фракций клеток печени, причем наиболее существенно уменьшается содержание арахидоновой полиненасыщенной жирной кислоты, содержание олеиновой жирной кислоты достоверно повышается. Введение унитиола параллельно с введением хлорида кадмия приводит к нормализации содержания олеиновой и арахидоновой жирных кислот в исследуемых субклеточных фракциях печени.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кадмиевая интоксикация, жирные кислоты, митохондрии, микросомальная фракция, гепатоциты, унитиол.

## FATTY-ACID SPECTRUM OF MEMBRANE LIPIDS OF RATS HEPATOCYTES UNDER POISONING BY CADMIUM CHLORIDE AND CORRECTION BY UNITHIOL

Yu.I. Hubsy, O.V. Zadorina, T.S. Briuzgina, A.M. Erstenyuk  
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLETS

## Summary

Gas-chromatographic analysis of fatty-acid spectrum of mitochondrial lipids and microsomal fraction of rat liver cells under intoxication by cadmium chloride and correction by unithiol has been carried out. It has been shown that cadmium chloride introduction changes fatty-acid spectrum of mitochondrial and microsomic fractions of liver cells, the level of arachidonic polyunsaturated fatty acid significantly decreases and the level of oleic fatty acid significantly increases. Introduction of unithiol with cadmium chloride promotes the normalization of the contents of oleic and arachidonic fatty acids in the investigated subcellular fractions of liver.

KEY WORDS: cadmium intoxication, fatty acids, mitochondria, microsomic fraction, hepatocytes, unithiol.

Отримано 29.05.2007 р.

Адреса для листування: О.В. Задоріна, просп. Правди, 6а, кв. 136, Київ-108, Україна.

Для отримання оперативної інформації звертайтеся  
до нашої сторінки в Інтернеті:  
[www.tdmu.edu.te.ua](http://www.tdmu.edu.te.ua)

## ОСОБЛИВОСТІ ПОКАЗНИКІВ ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ ПЛАЗМИ КРОВІ ХВОРИХ НА ДІАБЕТИЧНУ ЕНЦЕФАЛОПАТІЮ ЗАЛЕЖНО ВІД ЇЇ СТАДІЇ

Н.В. Пашковська

БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

*У хворих на діабетичну енцефалопатію встановлено інтенсифікацію процесів перекисидзації на тлі розбалансування антиоксидантної системи, про що свідчили зростання в плазмі крові пацієнтів рівня малонового діальдегіду, ступеня окисної модифікації білків, активності церулоплазміну, зменшення кількості HS-груп, а також порушення каталазної активності. Виявлені зміни прогресували зі стадією енцефалопатії.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** діабетична енцефалопатія, цукровий діабет, про- та антиоксидантна системи.

**ВСТУП.** Збільшення тривалості життя хворих на цукровий діабет (ЦД) у зв'язку з оптимізацією методів контролю і корекції глікемії призвело до зростання числа його пізніх ускладнень [3]. Ураження центральної нервової системи за цього патологічного стану проявляється діабетичною енцефалопатією (ДЕ). ДЕ – це порушення функції головного мозку метаболічного та судинного характеру [8]. Серед причин її виникнення можна виділити макро-, мікроангіопатії, кетоацидотичні, гіпоглікемічні стани та безпосереднє ураження нервових клітин внаслідок накопичення в останніх сорбітолу та фруктози в результаті активації поліолового шляху обміну глюкози. Загальновідомо, що вирішальну роль в патогенезі ішемічних пошкоджень мозку відіграє активація вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та білків [1].

Результати багатьох досліджень показали, що в інсулінонезалежних тканинах на фоні активації поліолового шляху окиснення глюкози знижується співвідношення НАДФ Н/НАДФ<sup>+</sup> і зростає співвідношення НАД Н/НАД<sup>+</sup>, що супроводжується посиленням утворення реактивних форм кисню. За таких умов та дії катализаторів (перехідні метали) продукуються вільні кисневі радикали, які посилюють утворення кінцевих продуктів глікозилювання [13].

У літературі на сьогодні накопичено багато відомостей щодо функціонування системи про-

та антиоксидантного захисту за різних хронічних ускладнень ЦД [10]. Водночас особливості показників цієї системи у хворих на ДЕ залежно від стадії процесу залишаються поза увагою дослідників.

Метою роботи було вивчення особливостей системи про- та антиоксидантного захисту в плазмі хворих на діабетичну енцефалопатію залежно від її стадії.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Обстежено 81 особу (65 хворих на ДЕ, які перебували на лікуванні в стаціонарному відділенні Чернівецького обласного клінічного ендокринологічного диспансеру, та 16 практично здорових донорів, які склали контрольну групу).

ДЕ I стадії було діагностовано у 23, II – у 25, III – у 17 пацієнтів.

Діагноз ДЕ встановлювали на підставі скарг, анамнестичних даних, об'єктивного ендокринологічного, неврологічного та психічного статусу, даних доплерографії магістральних артерій голови, комп'ютерної рентгенівської та магніторезонансної томографії, загальноприйнятих лабораторних методик.

Стан про- та антиоксидантної систем плазми крові вивчали за вмістом малонового діальдегіду (МДА) [2], HS-груп [7], ступенем окисної модифікації білків (ОМБ) [6], активністю церулоплазміну [КФ 1.16.3.1] [4] та каталази [5]. Отримані результати оброблено за допомогою статистичної програми "Biostat" із використанням t-критерію Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У ході дослідження було виявлено активацію процесів ПОЛ та білків за ДЕ. Так, у хворих на ДЕ було встановлено вірогідне зростання рівня МДА на 23,3 % порівняно з контрольним показником (табл. 1).

Оскільки МДА є одним з кінцевих продуктів перекисного окиснення, який інгібує простациклін, сприяючи тромбоутворенню [1], зростання цього показника за ДЕ може свідчити про вагому патогенетичну роль даної субстанції у розвитку церебральних порушень за ЦД.

Загальновідомо, що глюкоза у присутності металів зі змінною валентністю здатна утворювати кетоальдегіди, вільнорадикальні форми кисню, що змінюють структуру білка з утворенням перехресних сполук між білковими молекулами і втратою їх функції. Окисна деградація білків є одним з провідних механізмів розвитку уражень нервової системи, оскільки призводить до зниження активності  $\text{Na}^+$ -,  $\text{K}^+$ -АТФ-ази, глутамінсинтетази, ферментів, що забезпечують підтримку іонного градієнта і зниження концентрації збуджувальних медіаторів [12, 13]. Проведене нами дослідження виявило вірогідне зростання рівня ОМБ на 53,3 %, яке, очевидно, відбувалося за рахунок активації утворення активних форм кисню, про що свідчить високий вміст МДА.

Отримані результати, на нашу думку, є критерієм пошкодження тканин активними формами кисню за ДЕ і вказують на більшу чутливість білків плазматичних мембран до дії активних кисневих метаболітів, ніж ліпідів.

В організмі людини функціонує злагоджена та багатокомпонентна антиоксидантна система ферментних і неферментних механізмів контролю за вмістом активних форм кисню [9]. Церулоплазмін, як і інші біоантиоксиданти (глутатіон, каталаза), є елементом фізіологічної антиоксидантної системи, фактором підтримки окиснювального гомеостазу в організмі. За фізіологічних умов церулоплазмін крові інгібує ПОЛ на 50 % і є основним антиоксидантом крові. Особливістю цього ферменту є висока стабільність до токсичної дії активних форм кисню, що дозволяє йому зберігати високу активність за умов інтенсивної генерації активних форм останнього [4].

В обстежених нами хворих активність церулоплазміну виявилась вірогідно більшою (на 41,1 %) за контрольний показник, що можна розцінити як компенсаторну реакцію системи антиоксидантного захисту у відповідь на посилення процесів пероксидації.

Активність каталази в обстежених пацієнтів не зазнавала вірогідних змін щодо контролю. На нашу думку, це пов'язано з тим, що даний

Таблиця 1 – Показники про- та антиоксидантної систем у хворих на діабетичну енцефалопатію залежно від її стадії

Показники	Контроль ( $M \pm m$ ) n=16	ДЕ ( $M \pm m$ ) n=65	ДЕ I стадії ( $M \pm m$ ) n=23	ДЕ II стадії ( $M \pm m$ ) n=25	ДЕ III стадії ( $M \pm m$ ) n=17
МДА, мкмоль/л	14,6±0,56	18,0±0,30 $p_1 < 0,001$	16,8±0,31 $p_1 < 0,001$	17,9±0,48 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$	19,6±0,64 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,05$
ОМБ, од.опт.густ./мл	1,5±0,1472	2,3±0,06 $p_1 < 0,001$	2,3±0,10 $p_1 < 0,001$	2,1±0,09 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$	2,4±0,13 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 > 0,05$
Церулоплазмін, мг/л	281,5±24,56	397,1±13,07 $p_1 < 0,001$	327,3±15,23 $p_1 > 0,05$	416,5±14,85 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	470,3±28,1 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 > 0,05$
Каталаза, мкмоль/хв-л	30,7±1,05	30,58±1,3 $p_1 > 0,05$	28,5±2,68 $p_1 > 0,05$	30,2±1,58 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	33,8±2,49 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$ $p_3 > 0,05$
НС-групи, мкмоль/мл	1,51±0,147	0,64±0,028 $p_1 < 0,001$	0,58±0,038 $p_1 < 0,001$	0,66±0,040 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$	0,65±0,070 $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$ $p_3 > 0,05$

Примітка.  $p_1$  – вірогідність змін щодо контролю ( $p \leq 0,05$ );  
 $p_2$  – вірогідність змін щодо групи хворих на ДЕ I стадії ( $p \leq 0,05$ );  
 $p_3$  – вірогідність змін щодо групи хворих на ДЕ II стадії ( $p \leq 0,05$ ).

фермент найдовше зберігає свою високу активність, майже не потребує енергії активації, а швидкість її реакції лімітує тільки швидкість дифузії субстрату до активного центру [5]. Водночас у 18 хворих на ДЕ, в яких ЦД ускладнився ще й діабетичною гепатопатією, цей показник вірогідно зменшувався в 1,6 раза щодо контролю і складав  $(19,4 \pm 1,67)$  мкмоль/хв·л ( $p < 0,001$ ). Такі зміни, очевидно, пов'язані з дифузним ураженням печінки у цих пацієнтів.

Кількісний показник HS-груп плазми крові обстежених хворих був вірогідно меншим (у 2,4 раза) за контрольний. Загальновідомо, що HS-групи входять до складу багатьох біологічних сполук: білків, пептидів, відновленого глутатіону, цистеїну, ліпоевої кислоти, гомоцистеїну тощо, а їх кількість є найбільш чутливим показником рівня оксидантного стресу, оскільки їм властиві як прооксидантний, так і антиоксидантний ефекти [11].

Наступним етапом нашого дослідження було вивчення показників про- та антиоксидантної систем плазми крові за ДЕ залежно від її стадії.

Вірогідне збільшення рівня МДА в плазмі крові хворих було встановлено вже на I стадії ДЕ (на 15,1 %). Також відмічалось достовірне зростання на 60 % ступеня ОМБ, що вказує на вагомий роль процесів окиснювальної деградації білка у розвитку церебральних змін на ранніх стадіях ДЕ.

Активність каталази та церулоплазміну в плазмі крові хворих на ДЕ I стадії не зазнавала вірогідних змін щодо контролю.

Водночас рівень HS-груп різко знижувався (у 2,6 раза), що може непрямо свідчити про виснаження антиоксидантної системи за ДЕ.

Таким чином, розбалансування системи ПОЛ відбувається вже на початку розвитку ДЕ.

У хворих на ДЕ II стадії відмічались більш суттєві зміни показників про- та антиоксидантного статусу. Так, вміст МДА в плазмі крові вірогідно зростав та перевищував контрольний показник на 22,6 %. Ступінь ОМБ також зазнавав суттєвих змін із достовірним збільшенням щодо контролю на 40 %.

Як і за попередньої стадії, активність каталази практично не змінювалася, тоді як активність церулоплазміну вірогідно зростала не тільки щодо контролю (на 48,0 %), а й щодо групи хворих на ДЕ I стадії (на 27,3 %). Показник кількості HS-груп плазми крові достовірно зменшувався, порівняно з контролем, у 2,3 раза.

У хворих на ДЕ III стадії встановлено найбільш суттєві зміни в системі про- та антиоксидантного захисту плазми крові.

Рівень МДА зростав на 34,2 %. Слід зауважити, що у хворих досліджуваної групи це зростання було вірогідно більш суттєвим, ніж у пацієнтів з ДЕ I ( $p < 0,001$ ) та II ( $p < 0,05$ ) стадій. Таким чином, підвищення рівня МДА відбувалося пропорційно стадійності ДЕ. Показник ОМБ вірогідно зростав на 60 % і був достовірно вищим за відповідний у хворих на ДЕ I стадії.

Активність каталази вірогідно збільшувалася, що, на нашу думку, є компенсаторною реакцією на інтенсифікацію процесів пероксидації. Водночас поглиблений аналіз показав, що у хворих на ДЕ III стадії за наявності гепатопатії активність цього ферменту достовірно зменшувалася щодо контролю і складала  $(24,7 \pm 0,98)$  мкмоль/хв·л ( $n=6$ ,  $p < 0,01$ ). Активність церулоплазміну також вірогідно зростала на 67,1 % і перевищувала відповідний показник в групі пацієнтів з ДЕ I стадії, тоді як кількісний показник рівня HS-груп плазми крові хворих був достовірно нижчим за контрольний у 2,3 раза.

Таким чином, проведене дослідження показало, що в генезі розвитку ДЕ суттєву роль відіграє оксидантний стрес. Він супроводжується інтенсифікацією процесів ПОЛ та розбалансуванням антиоксидантної системи. Виявлені в системі про- та антиоксидантного захисту зміни прогресують зі стадією розвитку ДЕ.

Механізм ПОЛ в клітинах центральної нервової системи є аналогічним щодо відповідних механізмів в інших тканинах, проте інтенсивність процесів тут є значно вищою. Багато в чому це визначається високим вмістом в мозку поліненасичених жирних кислот – субстратів ПОЛ. Так, вміст фосфоліпідів у мозку в 1,5 раза більший, ніж у печінці, та у 3-4 рази вищий, ніж у серці. Ось чому порушення функціонування системи про- та антиоксидантного захисту є особливо небезпечним для мозкової тканини [1].

За хронічної гіперглікемії реактивні похідні кисню окиснюють жирні кислоти, сприяють утворенню пероксидів ліпідів. Останні мають властивості вільних радикалів, здатних змінювати структуру ДНК і проявляти цитотоксичну дію, внаслідок чого порушуються регенеративно-проліферативні процеси в ендотеліальних клітинах. Крім того, ПОЛ змінює функціональні й антигенні властивості клітинних мембран, викликає експресію рецепторів [9, 13]. Таким чином, підвищене утворення реактивних кисневих радикалів або порушення антиоксидантної активності за ДЕ змінюють баланс в окисно-відновних процесах головного мозку і призводять до пошкодження клітин зі зміною їх функціональної здатності.



**ВИСНОВКИ.** 1. За діабетичної енцефалопатії в організмі виникає оксидантний стрес, який супроводжується інтенсифікацією процесів пероксидації на тлі розбалансування антиоксидантної системи, про що свідчать зростання в плазмі крові хворих рівня малонового діальдегіду, ступеня окисної модифікації білків, активності церулоплазміну, зменшення кількості HS-груп, а також зміна каталазної активності.

2. Порушення функціонування системи про- та антиоксидантного захисту у хворих на

діабетичну енцефалопатію виявляють вже на ранніх її стадіях, їх частота зростає із прогресуванням цього захворювання.

Перспективи подальших досліджень полягають у створенні комплексного диференційованого підходу до діагностики та лікування порушень функціонування системи про- та антиоксидантного захисту у хворих на діабетичну енцефалопатію залежно від стадії основного захворювання.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Астарков С.В. Коррекция окислительного стресса – стратегия защиты мозга в неотложной неврологии // Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости. – 2004. – № 2. – С. 93-96.

2. Васильева Н.В., Мещишен І.Ф. Показники оксидантної та глутатіонової систем крові у хворих на дисциркуляторну енцефалопатію // Бук. мед. вісник. – 1998. – **2**, № 3-4. – С. 3-6.

3. Ефимов А., Зуева Н., Скробонская Н. Диабетическая невропатия // Ліки України. – 2005. – № 3. – С. 21-25.

4. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск: Беларусь, 1982. – 290 с.

5. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1998. – № 1. – С. 16-19.

6. Мещишен І.Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові // Бук. мед. вісник. – 1998. – **2**, № 1. – С. 156-158.

7. Мещишен І.Ф., Григор'єва Н.П. Метод кількісного визначення HS-груп у крові // Бук. мед. вісник. – 2002. – **6**, № 2. – С. 190-192.

8. Мищенко Т.С., Перцева Т.Г., Мищенко В.Н. Сахарный диабет и цереброваскулярные заболевания // Міжнар. неврол. журн. – 2005. – № 4. – С. 29-34.

9. Науменко В.Г. Патогенетична терапія ускладнень цукрового діабету // Міжнар. ендокринолог. журн. – 2006. – № 1. – С. 55-60.

10. Сергієнко О.О., Єфімов А.С. Лікування діабетичної нейропатії (огляд літератури та власних досліджень) // Журн. академії мед. наук України. – 2003. – **9**, № 2. – С. 278-298.

11. Шпаков А.О. Роль сульфгидрильных групп в функционировании аденилатциклазной сигнальной системы / Журн. эвол. биохим. и физиол. – 2002. – **38**, № 1. – С. 97-107.

12. Obrosova I.G. Increased Sorbitol Pathway Activity Generates Oxidative Stress in Tissue Sites for Diabetic Complications // Antioxidants & Redox Signaling. – 2005. – **7**, № 11-12. – P. 1543-1552.

13. Vlassenko A.G., Rundle M.M., Raichle M.E. Regulation of blood flow in activated human brain by cytosolic NADH/NAD<sup>+</sup> ratio // PNAS. – 2006. – **103**, № 6. – P. 1964-1969.

## ОСОБЕННОСТИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМ ПЛАЗМЫ КРОВИ БОЛЬНЫХ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЕЕ СТАДИИ

**Н.В. Пашковская**

*БУКОВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ*

#### Резюме

*У больных диабетической энцефалопатией установлено интенсификацию процессов пероксидации на фоне разбалансирования антиоксидантной системы, о чем свидетельствовали возрастание в плазме крови пациентов*

уровня малонового диальдегида, степени окислительной модификации белков, активности церулоплазмина, уменьшение количества HS-групп, а также нарушение каталазной активности. Обнаруженные изменения прогрессировали со стадией энцефалопатии.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** диабетическая энцефалопатия, сахарный диабет, про- и антиоксидантная системы.

## **PECULIARITIES OF THE INDICES OF BLOOD PLASMA PRO- AND ANTIOXIDANT SYSTEM OF PATIENTS WITH DIABETIC ENCEPHALOPATHY DEPENDING ON ITS STAGE**

**N.V. Pashkovska**  
BUCOVYNIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

### **Summary**

*The intensification of peroxidation processes has been established against a background of antioxidant system disbalance. It has been proved by increase of malonic dialdehyde level, the degree of oxidant protein modification, decrease of the number of HS-groups, increase of ceruloplasmin activity as well as disturbance of catalase activity in the patients' blood plasma. The revealed changes aggravated depending on the stage of encephalopathy.*

**KEY WORDS:** diabetic encephalopathy, diabetes mellitus, pro- and antioxidant systems.

Отримано 20.08.2007 р.

**Адреса для листування:** Н.В. Пашковська, вул.Шевченка, 3, кв. 8, Чернівці, 58001, Україна.

**Для отримання оперативної інформації звертайтеся  
до нашої сторінки в Інтернеті:  
[www.tdmu.edu.te.ua](http://www.tdmu.edu.te.ua)**

## ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В ПРОГРЕСУВАННІ АНКІЛОЗИВНОГО СПОНДИЛОАРТРИТУ

М.І. Швед, О.В. Горська, Н.І. Козій

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

З метою визначення ролі оксидативного стресу в патогенезі клініко-лабораторних проявів анкілозивного спондилоартриту АС обстежено 42 хворих на АС та 15 практично здорових осіб контрольної групи. Оцінювали інтенсивність вільнорадикального окиснення ліпідів за змінами параметрів перекисоутворень, малонового діальдегіду, дієнових кон'югат, глутатіону окисненого та функціональної здатності вітамінної, глутатіонової та СОД-залежної антиоксидантних захисних систем організму в пацієнтів з різними ступенями активності захворювання. Встановлено, що у хворих на АС запально-деструктивний процес супроводжується розвитком оксидативного стресу (синдрому пероксидації), вираження якого прямо пропорційно залежить від ступеня активності запального процесу, тому показники вільнорадикального окиснення ліпідів можна рекомендувати використовувати як діагностичні критерії активності патологічного процесу. Крім того, застосування стандартної терапії у хворих на АС сприяє зменшенню клініко-лабораторних проявів хвороби, але не нормалізує параметрів перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи захисту організму, тобто у цих пацієнтів навіть на фоні такого лікування залишаються субстрат та умови для прогресування захворювання.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** анкілозивний спондилоартрит, вільнорадикальне окиснення ліпідів, патогенез, лікування.

ВСТУП. Етіологія та патогенез анкілозивного спондилоартриту (АС) на сьогодні недостатньо з'ясовані та мають переважно гіпотетичний характер. Найвищий рівень доказовості патогенезу АС характерний імунній теорії, згідно з якою пусковим механізмом захворювання є взаємодія Т-лімфоцитів (CD28) з HLA-B27, що призводить до підвищеного продукування прозапальних цитокінів лімфоцитами, насамперед фактора некрозу пухлин (ФНП- $\alpha$ ), гамма-інтерферону, трансформуючого фактора росту-В та інтерлейкінів (ІЛ-1, -2, -4, -6, -10), надмірне продукування яких викликає активацію лімфоцитів і нейтрофілів, синтез хемокінів і металопротеїназ, які опосередковують деструкцію кістки та хряща при ревматичних захворюваннях [11, 12, 14].

Разом із тим, клінічна практика свідчить про те, що активна імуносупресивна та імуномодельова терапія, в тому числі застосування антагоністів до рецепторів інтерлейкінів у хворих на АС, дає недостатній терапевтичний ефект [13]. Тому останнім часом активно досліджують інші можливі механізми розвитку і прогресування АС, у тому числі роль вільнора-

дикального окиснення ліпідів (ВРОЛ), оскільки було доведено вільнорадикальні механізми тканинного пошкодження при багатьох захворюваннях внутрішніх органів [4, 6]. Останнім часом особливого значення надають питанням патогенетичної ролі активних форм кисню та ініційованих ними процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у розвитку і прогресуванні запально-деструктивних процесів у хворих на ревматичні захворювання [2, 3, 7, 8, 9]. Відомо, що вільні кисневі радикали, які генеруються моноцитами, поліморфноядерними нейтрофільними гранулоцитами, синовіальними макрофагами, а також утворені ними високотоксичні продукти ПОЛ за умов недостатності антиоксидантної системи (АОС) викликають деполімеризацію матриксу сполучної тканини як шляхом безпосередньої дії, так і через активацію протеолітичних ферментів, матриксних металопротеїназ, порушення синтетичних процесів у фібробластах і хондроцитах, що сприяє розвитку апоптозу і некрозу не лише кісткової та хрящової тканин, а й клітин серця, легень, нирок, шлунково-кишкового тракту, ендотелію судин тощо. Вказані зміни, у свою чергу, можуть зумовлювати подаль-

© М.І. Швед, О.В. Горська, Н.І. Козій, 2007.

ше поглиблення імунних порушень та інтенсифікацію запально-деструктивного процесу при АС [3, 5, 10], тобто мають взаємозалежний характер.

У роботах, присвячених цій проблемі, як правило, оцінюється загальний рівень накопичення в біологічних середовищах організму продуктів ліпопероксидації незалежно від клініко-лабораторних особливостей перебігу захворювання, тому метою даного дослідження було вивчити патогенетичне значення порушень вільнорадикальних реакцій як показника запально-деструктивних процесів у хворих на анкілозивний спондилоартрит різної стадії та ступеня активності хвороби.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Для реалізації поставленої мети обстежено 42 пацієнти з верифікованим анкілозивним спондилоартритом за Нью-Йоркськими критеріями (1984). Середній вік хворих склав ( $38,6 \pm 8,7$ ) років. У 17 обстежених, за клініко-лабораторними даними, активність процесу відповідала I ступеню, у 13 – II ступеню і в 12 – III ступеню. У більшій частині хворих (88,9 %) діагностовано II-IV клініко-рентгенологічні стадії АС за J. Braun et al. (1998), системні прояви хвороби (атрофія м'язів, остеопороз, лімфаденопатія тощо) відзначено у 18 осіб (42,9 %). У дослідження не включали хворих з вісцеральною патологією та тяжкими супровідними захворюваннями, які могли викликати додаткові метаболічні порушення і, таким чином, вплинути на досліджувані показники. Контрольну групу склали 15 здорових осіб, зіставних з дослідними групами за віком і статтю.

Вміст первинних та вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів – малонового діальдегіду (МДА), дієнових кон'югат (ДК) – визначали за методикою L. Placer в модифікації І.Д. Стальної (1984). Принцип методу ґрунтується на здатності малонового діальдегіду утворювати в кислому середовищі при кип'ятінні з 2-тіобарбітуровою кислотою забарвленій триметиновий комплекс з максимумом поглинання при довжині хвилі 532 нм. Слід підкреслити, що, крім МДА, ряд низькомолекулярних сполук (сіалова кислота, деякі амінокислоти, прості вуглеводи) може також утворювати забарвлені комплекси з тіобарбітуровою кислотою. Тому в кінцевому результаті реакції визначають суму ТБК-активних продуктів, але ця величина невелика і помилка стандартна, тому зазвичай не враховується.

Визначення дієнових кон'югат ненасичених вищих жирних кислот за цією методикою базується на їх здатності поглинати ультрафіо-

летове світло в ділянці 232-243 нм. Ліпіди екстрагували сумішшю гептан-ізопропанол (1:1). Після розшарування відбирали верхній шар, в якому вимірювали оптичну густину при довжині хвилі 233 нм на спектрофотометрі СФ-26. Вміст ДК розраховували за величиною молекулярного коефіцієнта екстинції для дієнів поліненасичених жирних кислот, який дорівнює  $2,2 \cdot 10^5 \text{ см}^{-1} \cdot \text{м}^{-1}$  на 1 г ліпідів в 1 мл гептанової фази. Здатність тканин до перекисоутворення (ПУ) оцінювали за методикою Stocse et Dormandy (1971), які запропонували перед інкубацією з перекисом водню інактивувати еритроцитарну каталазу азидом натрію і добитися при цьому підвищення в 50 разів окиснювального потенціалу перекису водню та доброго відтворення результатів. Методика визначення перекисоутворення дає можливість оцінити антиоксидантний захист організму за здатністю крові інактивувати доданий у середовище перекис водню. Крім цього, рівень ПУ буде залежати від кількості в крові морфологічного субстрату для вільнорадикального окиснення ліпідів.

Стан активності антиоксидантного захисту організму вивчали на основі визначення концентрації глутатіону відновленого (ГВ) і окисненого (ГО), вітамінів А, Е, активності супероксиддисмутази (СОД).

Принцип методу визначення вмісту глутатіону відновленого, який становить основну частину небілкових тіолів, полягає в тому, що при взаємодії 5,5-дитіобіс-(2-нітробензойної) кислоти (реактив Елмана) з вільними SH-групами ферменту утворюється тіонітрофенільний аніон. Кількість останнього прямо пропорційна вмісту SH-груп. Кількість глутатіону окисненого визначали тим же методом, але після попереднього відновлення SH-груп у кислому середовищі.

Концентрацію вітамінів А й Е визначали за методикою Р.С. Черняускене, З.З. Вашкявичене, П.С. Грибаускас (1984). При відповідності хвилі збудження хвилі флуоресценції наявність цих вітамінів у крові зумовлює визначену інтенсивність флуоресценції.

Активність СОД визначали за методикою С. Чевари, І. Чаба, Й. Секей у модифікації Е.Е. Дубініної (1983). Принцип методу ґрунтується на здатності СОД конкурувати з нітротетразолієм синім за супероксидні аніони, які утворюються в результаті аеробної взаємодії відновленої форми нікотинамідаденіннуклеотиду з феназинметасульфатом. У результаті цієї реакції нітротетразолій синій відновлюється з утворенням гідрозинтетразолію. У присутності СОД відсоток відновлення нітротетразолію синього зменшується. Кількісні параметри реакції,

яка перебігала, визначали шляхом вимірювання оптичної щільності реакційної суміші при довжині хвилі 540 нм.

Отримані результати дослідження обраховано методами варіаційної статистики з використанням критерію Стюдента. Результати вважали достовірними при вірогідності похибки  $p < 0,05$ .

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У зв'язку з відсутністю даних літератури про стан ВРОЛ у хворих на анкілозивний спондилоартрит, а також враховуючи те, що наслідками цих порушень можуть бути порушення функцій цілого ряду ферментативних систем, прогресування патологічного процесу і розвиток різноманітних його ускладнень, нами проведено детальне вивчення активності перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантних систем захисту (АОСЗ) у пацієнтів з АС різного ступеня активності захворювання, а також досліджено їх динаміку під впливом стандартної програми лікування. З представлених у таблиці 1 даних видно, що у хворих на анкілозивний спондилоартрит у вихідному стані, порівняно зі здоровими особами контрольної групи, суттєво зростала в сироватці крові концентрація малонового діальдегіду та дієнових кон'югат, а також кількість перекисоутворень при одночасній активації вітамінних антиоксидантних систем захисту організму.

При аналізі досліджуваних показників ВРОЛ, які характеризують інтенсивність процесів генерації вільних радикалів в організмі

хворих на АС із запальним процесом різного ступеня активності, спостерігали достовірне підвищення рівня проміжних та кінцевих продуктів ПОЛ у напрямку від мінімального ступеня активності патологічного процесу до максимального. Так, було встановлено, що вже при I ст. активності захворювання рівень малонового діальдегіду та дієнових кон'югат зростав, відповідно, на 20,8 і 4,9 % ( $p < 0,05$ ). При II і III ст. активності запального процесу в організмі концентрація цих продуктів ПОЛ прогресивно підвищувалась, відповідно, на 45,3 і 7,8 % та 75,0 і 9,0 %. Такі ж тенденції, хоч і менше виражені, спостерігались у динаміці перекисоутворення та накопиченні в сироватці крові хворих глутатіону окисненого, концентрація яких зростала на 1,4; 6,0; 8,1 % та 2,7; 9,3; 14,6 % відповідно. Різниця в активності ПОЛ за вищевказаними показниками між групами хворих з мінімальним, помірним та вираженим ступенями активності запального процесу була достовірною ( $p < 0,05$ ). Відмітимо також, що інтенсивність вільнорадикальних реакцій у пацієнтів з АС I-III ст. активності була достовірною вищою, ніж в осіб контрольної групи ( $p < 0,05$ ).

При цьому зауважимо, що в багатьох раніше проведених дослідженнях [3, 4, 5, 9] було показано, як зростання вмісту активних проміжних продуктів перекисоутворення, особливо МДА та ДК, може викликати зміни в структурі мембран клітин, призводити до їх набряку і порушення функції, особливо, коли антиоксидантна система не в змозі компенсувати активацію ПОЛ.

Таблиця 1 – Динаміка показників перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантних систем захисту у хворих на анкілозивний спондилоартрит різного ступеня активності ( $M \pm m$ )

Показники ПОЛ та АОСЗ		Контроль (здорові), n=15	Хворі на АС різного ступеня активності		
			I ст., n=17	II ст., n=13	III ст., n=12
МДА, мкмоль/л	1	2,36±0,08	2,85±0,09	3,43±0,08*	4,13±0,06^
	2		2,65±0,08	3,19±0,07	3,96±0,07
ДК, мкмоль/л	1	17,42±0,07	18,27±0,08	18,78±0,12*	18,98±0,11*
	2		17,94±0,09	18,51±0,11	18,63±0,12
ПУ, мкмоль/л	1	31,58±0,10	32,03±0,07	33,49±0,09*	34,13±0,08^
	2		31,78±0,08	33,17±0,09	33,85±0,08
Віт. Е, ммоль/л	1	20,64±0,20	19,26±0,15	17,54±0,11*	16,48±0,13
	2		20,19±0,12	18,83±0,13	17,86±0,14
Віт. А, ммоль/л	1	2,59±0,04	2,37±0,04	2,13±0,04*	2,03±0,05^
	2		2,51±0,04	2,28±0,04	2,19±0,04
ГВ, ммоль/л	1	1,38±0,02	1,31±0,02	1,23±0,02*	1,17±0,02**
	2		1,37±0,02	1,29±0,02	1,23±0,02
ГО, ммоль/л	1	2,26±0,02	2,32±0,02	2,47±0,02*	2,59±0,02**
	2		2,27±0,02	2,40±0,02	2,51±0,02
СОД, %, блок	1	12,03±0,09	11,67±0,05	10,84±0,05*	9,58±0,04**
	2		11,92±0,05	11,03±0,05	10,02±0,05

Примітка. 1, 2 – відповідно, значення показників до та після курсу лікування; підкреслені показники достовірно відрізняються від даних контрольної групи; \* – відмічені параметри достовірно відрізняються від показників при I ст. активності; ^ – позначені параметри достовірно відрізняються від даних при II ст. активності ( $p < 0,05$ ).

Саме така ситуація складається у хворих на АС при прогресуванні запального процесу. Так, рівень токоферолів (вітамін Е) знизився, відповідно, на 7,2; 17,7 і 25,2 %, а каротинів (вітамін А) – на 10,9; 12,2 та 25,6 %. Кількість глутатіону відновленого зменшилася в середньому на 11,8 % при такому ж збільшенні ГО, відсоток блокування СОД нижчий контрольного при I-III ст. активності патологічного процесу, відповідно, на 3,1; 11,0 та 25,6 %. При зіставленні цих даних видно, що антиоксидантна система не в змозі компенсувати гіперпродукцію вільних радикалів у хворих на АС навіть при мінімальній активності запального процесу. Відомо, що недостатність АОСЗ призводить до зменшення захисту всіх клітинних мембран, у тому числі остеобластів та хондроцитів, від окиснювальної деструкції супероксидним аніоном чи синглетним киснем. У кінцевому результаті дані процеси спричиняють окиснювальне пошкодження, розвивається так званий синдром пероксидації, який може досягати ступеня, що призводить до деструкції сполучнотканинних структур і внутрішніх органів, тобто може пришвидшувати руйнування клітин, скорочувати тривалість їх життя, суттєво порушувати функціональну здатність.

Дослідження параметрів ПОЛ і АОСЗ після курсу стандартної медикаментозної терапії (нестероїдні протизапальні середники, базисні протиревматичні засоби, метаболічна та цитопротекторна дії, ЛФК і дієтотерапія) засвідчило її неспроможність відновити баланс між активними проміжними продуктами окиснення та антиоксидантною системою захисту у хворих на анкілозивний спондилоартрит. Як видно з представлених у таблиці даних, більшість показників вільнорадикального окиснення, а саме: МДА, ДК та ГО, залишались на високому рівні й достовірно відрізнялись від контролю. Відмічено незначне зростання активності глутатіону відновленого та СОД – на 4,5-5,1 та 1,8-4,5 % відповідно, що не може дезактивувати велику кількість утворених вільних радикалів. Дещо кращою ставала функціональна активність вітамінних антиоксидантних систем захисту організму. Так, концентрація токоферолу та каротину в сироватці крові підвищувалась після курсу лікування, відповідно, на 4,8-8,4 та 5,9-7,9 %.

У цілому отримані результати досліджень свідчать про те, що параметри ВРОЛ є досить інформативними тестами активності патологічного процесу, а активація процесів ПОЛ і пригнічення АОСЗ у хворих на анкілозивний спондилоартрит, а також їх прогресування при

збільшенні активності захворювання вказують на те, що синдром пероксидації має суттєве значення як у патогенезі клінічних проявів самого захворювання, так і в механізмах прогресування патологічного процесу. Отримані нами дані підтверджують тезу А.П. Авцина та В.А. Шахламова [1] про те, що лабораторні дані про вміст продуктів ПОЛ у біологічних об'єктах дозволяють визначати глибину і ступінь вираження патологічного процесу. Більше того, описана ситуація свідчить про загальнобіологічне значення ролі порушень ПОЛ у розвитку різноманітних патологічних процесів на мембранному рівні.

Крім того, важливо підкреслити, що застосування курсу стандартної медикаментозної терапії в цілому суттєво знижує активність ПОЛ і підвищує функціональну здатність антиоксидантних систем, але жоден з досліджуваних показників після курсу такого лікування не досягнув рівня контрольної групи. При цьому дана терапія виявилась найефективнішою у пацієнтів з мінімальним ступенем активності запального процесу, особливо у хворих з початковими стадіями рентгенологічних змін у хребті та суглобах. Тому отримані результати можуть бути обґрунтованими для включення в стандартний медикаментозний комплекс препарату з більш вираженими антиоксидантними властивостями.

**ВИСНОВКИ.** 1. У хворих на анкілозивний спондилоартрит запально-деструктивний процес супроводжується розвитком оксидативного стресу (синдрому пероксидації), що клінічно проявляється вірогідним зростанням інтенсивності процесів вільнорадикального окиснення ліпідів і відносним зниженням функціональної здатності глутатіонової, вітамінної та СОД-залежної антиоксидантних систем захисту організму.

2. Виявлена чітка прямо пропорційна залежність параметрів вільнорадикального окиснення ліпідів від ступеня активності запального процесу при анкілозивному спондилоартриті дозволяє рекомендувати використовувати їх як діагностичні критерії активності патологічного процесу.

3. Застосування стандартної терапії у хворих на анкілозивний спондилоартрит сприяє зменшенню клініко-лабораторних проявів хвороби, але не нормалізує параметрів ПОЛ та АОСЗ організму, тобто у цих пацієнтів навіть на фоні такого лікування залишаються субстрат та умови для прогресування захворювання.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Авцын А.П., Шахламов В.А. Ультраструктурные основы патологии клетки. – М.: Медицина, 1989. – 316 с.
2. Бабанина М.Ю. Динамика показателей свободнорадикального окисления и иммунного статуса у больных активным ревматизмом на фоне сердечной недостаточности под влиянием комплексного лечения с использованием эналаприла // Укр. ревматол. журн. – 2002. – № 2. – С. 48-52.
3. Бринер И.А., Поливода С.Н., Черепок А.А. Патогенетическое значение оксидативного стресса при ревматоидном артрите // Укр. ревматол. журн. – 2004. – № 2. – С. 67-71.
4. Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И. Свободные радикалы в живых системах. Итоги науки и техники. Биофизика. – Т. 29. ВИНТИ, Москва, 1991. – 250 с.
5. Зборовская И.А., Банникова М.В. Патогенетическое и клинико-диагностическое значение показателей антиоксидантной системы крови и содержание продуктов перекисного окисления липидов у больных ревматоидным артритом // Клин. ревматол. – 1994. – № 4. – С. 13-16.
6. Коган А.Х. Фагоцитзависимые кислородные свободнорадикальные механизмы аутоагрессии в патогенезе внутренних болезней // Вестн. РАМН. – 1999. – № 2. – С. 3-9.
7. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю.Н. Свободнорадикальные процессы при заболеваниях сердечно-сосудистой системы // Кардиол. – 2000. – № 7. – С. 48-61.
8. Панасюк А.Ф., Ярошук Г.В. Влияние активных форм кислорода на пролиферацию и обмен хондроцитов в монослойной культуре // Материалы II Всерос. съезда ревматологов, 18 октября 1997 г. – Тула, 1997. – С. 143.
9. Atanasiu R.L., Stea D., Mateescu M.A. et al. Direct evidence of caeruleo-plasmin antioxidant properties // Mol. Cell. Biochem. – 1998. – **189** (1-2). – P. 127-135.
10. Bachir S., Harris G., Blake D.R. et al. Oxidative DNA damage and cellular sensitive to oxydative stress in human autoimmune diseases // Ann. Rheum. Dis. – 1993. – **52**. – P. 659-666.
11. Collado-Escobar M.D., Nieto A., Mataran L. et al. Interleukin 6 gene promoter polymorphism is not associated with ankylosing spondylitis // J. Rheumatol. – 2000. – **107**. – P. 1461-1463.
12. Duftner C., Dejaco C., Kullich A. et al. Preferential type 1 chemokine receptors and cytokine production of cd28-t-cells in ankylosing spondylitis // Ann. Rheum. Dis. – 2005. – **64**. – P. 836-841.
13. Haibel H., Rudwaleit M., Braun J. et al. Six months open label trial of leflunomide in active ankylosing spondylitis // Ann. Rheum. Dis. – 2005. – **7**. – P. 124-126.
14. Lange U., Teichmann J., Stracke H. Correlation between plasma TNF-alpha, IGF-1, biochemical markers of bone metabolism, markers of inflammation/disease activity and clinical manifestation in ankylosig spondylitis // Eur. J. Med. Res. – 2000. – **5**. – P. 507-511.

## ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА В ПРОГРЕССИРОВАНИИ АНКИЛОЗИРУЮЩЕГО СПОНДИЛОАРТРИТА

М.И. Швед, О.В. Горская, Н.И. Козий

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

### Резюме

С целью определения роли оксидативного стресса в патогенезе клинико-лабораторных проявлений анкилозирующего спондилоартрита (АС) обследовано 42 больных АС и 15 практически здоровых лиц контрольной группы. Оценивали интенсивность свободнорадикального окисления липидов по изменениям параметров перекисеобразования, малонового диальдегида, диеновых конъюгат, глутатиона окисленного и функциональной способности витаминной, глутатионовой и СОД-зависимой антиоксидантных защитных систем организма у пациентов с различными степенями активности заболевания. Установлено, что у больных АС воспалительно-деструктивный процесс сопровождается развитием оксидативного стресса (синдрома перекисидации), выраженность которого прямо пропорционально зависит от степени активности воспалительного процесса, поэтому показатели свободнорадикального окисления липидов можно рекомендовать использовать в качестве диагностических критериев активности патологического процесса. Кроме того, применение стандартной терапии у больных АС способствует уменьшению клинико-лабораторных проявлений болезни, но не нормализует параметры перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы защиты организма, то есть у этих пациентов даже на фоне такого лечения остаются субстрат и условия для прогрессирования заболевания.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: анкилозирующий спондилоартрит, свободнорадикальное окисление липидов, патогенез, лечение.

## **PATHOGENETIC ROLE OF OXIDATIVE STRESS IN PROGRESSION OF ANKYLOSIVE SPONDYLOARTHRITIS**

**M.I. Shved, O.V. Horska, N.I. Koziy**  
TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I. YA. HORBACHEVSKY

### **Summary**

42 patients with ankylosive spondyloarthritis (AS) and 15 healthy control people were evaluated in order to determine the role of oxidative stress in pathogenesis of clinical and laboratory manifestations of ankylosive spondyloarthritis. The intensity of free-radical lipid oxidation was assessed by dynamic changes of peroxide formation, levels of malonic dialdehyde, dienic conjugates, oxidized glutathione and functional capacity of vitamin, glutathione and superoxide dismutase (SOD)-dependent antioxidative defence systems in patients with various degrees of disease activity. We established that in patients with AS the inflammatory and destructive process is accompanied by oxidative stress (peroxidation syndrome), the prominence of which is directly correlated with the inflammatory process activity. Therefore, the indices of free-radical lipid oxidation may be recommended as diagnostic criteria for evaluation of the disease activity. Besides, standard therapy in patients with AS results in a decrease of clinical and laboratory manifestations of the disease, but fails to normalize lipid peroxidation and antioxidative defence parameters. Thus, the substrate and conditions for the disease progression persist despite standard therapy.

KEY WORDS: **ankylosive spondyloarthritis, free-radical lipid oxidation, pathogenesis, therapy.**

Отримано 17.09.2007 р.

Адреса для листування: М.І. Швед, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м.Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

**Для отримання оперативної інформації звертайтеся  
до нашої сторінки в Інтернеті:  
[www.tdmu.edu.te.ua](http://www.tdmu.edu.te.ua)**



## ЕФЕКТИ NO ТА ЙОГО СТАБІЛЬНИХ МЕТАБОЛІТІВ У ЛІМФОЦИТАХ БЛИХ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ХРОНІЧНОМУ ГІПЕРІМУНОКОМПЛЕКСНОМУ СИНДРОМІ ЗА УМОВ IN VIVO

О.В. Садляк

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

*Експериментальний хронічний гіперімунокомплексний процес відтворено на 40 статевозрілих щурах-самцях масою 200-250 г. Мета нашої роботи – дослідження показників синтазної активності NO і його стабільних метаболітів у лімфоцитах тварин за цих умов та вивчення стабілізуючого впливу корвітину на даний процес. Встановлено: за гіперімунокомплексемії (ХГК) зростає синтез iNOS, активність cNOS зазнає значного інгібування. Застосування корвітину за умов ХГК значно зменшує активність iNOS та підвищує активність cNOS у лімфоцитах, зумовлюючи цим тенденцію до нормалізації показників  $NO_2^-$  та  $NO_3^-$ .*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** хронічна гіперімунокомплексемія, оксид азоту, метаболіти оксиду азоту, лімфоцити, корвітин.

ВСТУП. Хронічна гіперімунокомплексемія (ХГК) є актуальною проблемою практичної медицини сьогодення. Ще у 80-х роках минулого століття науковцями Лебером (P. Leber) та Мак Класкеєм (R. Mc.Cluskey) в медичну термінологію було введено нову нозологічну форму захворювань – імунокомплексні [1]. Алергічні реакції імунокомплексного походження розглядаються як пусковий механізм розвитку багатьох патологій, оскільки основною ланкою патогенезу при цьому захворюванні є гіперпродукція імунних комплексів, здатних проявляти пошкоджувальну дію на тканини організму. Гіперімунокомплексний синдром є підґрунтям для формування імунодефіцитних та аутоімунних синдромів [7, 18].

Оскільки центральним елементом імунної системи є лімфоцити, то саме їм належить провідна роль у регуляції імунної відповіді як у природному, так і набутому імунітеті [8]. Таким чином, гіперімунокомплексемія може бути результатом клітинного дисбалансу у взаємодії лімфоцитів, а це зумовлює хронічне клітинне порушення імунної відповіді.

Результати досліджень, які проводили впродовж останніх років, свідчать про те, що процеси утворення і відкладання імунних комплексів (ІК) залежать від рівня оксиду азоту (NO) в організмі, під контролем якого перебувають найважливіші імунні міжклітинні взає-

модії, що становлять суть функціонування імунної системи як фактора гомеостазу [4, 5, 6, 7].

В організмі NO синтезується з амінокислоти L-аргініну. Одними з головних продуктів метаболізму NO є іони  $NO_2^-$  і  $NO_3^-$ . Іони  $NO_2^-$  досить активно перетворюються в NO і  $NO_3^-$ , при цьому в основному виводяться з організму [11].

Активні метаболіти NO належать до потужних регуляторів кровопостачання, антитромбозу, промоторів росту, протизапальних факторів і антиоксидантів тощо [3]. Цей процес є окиснювальною реакцією, яку каталізує фермент NOS-синтаза (NOS). NOS-синтаза присутня в клітинах практично всіх типів тканини і поділяється на конститутивну (cNOS) та індукцибельну (iNOS). Конститутивні форми NO мають фізіологічне значення. Індукцибельна форма (iNOS) активується під впливом патогенних факторів у відповідь на подразники різної етіології [6].

Вивчення біохімічних основ цих порушень в імунокомпетентних клітинах – новий напрямок в імунопатології.

Актуальним є одночасний експериментальний пошук можливостей імунокорекції хронічних імунокомплексних захворювань. Цікавим в цьому аспекті є дослідження впливу корвітину – водорозчинної форми кверцетину, натурального екстракту із класу біофлавоноїдів. Експериментальні та клінічні дослідження показали, що кверцетин (корвітин) проявляє

широкий спектр фармакологічної дії на організм: імуномодулюючу, протизапальну, антиоксидантну, антиагрегатну й антикоагуляційну, а також регулює процеси активації чи збереження рівня оксиду азоту в пошкоджених тканинах та крові. Ці ефекти зумовлюють широкий діапазон інших властивостей кверцетину: антигіпоксантних, протипухлинних, вазопротекторних, кардіопротекторних і антиаритмічних [9, 10, 12, 14, 17, 18].

Дана характеристика корвітину робить можливим його успішне застосування при алергічних та імунокомплексних захворюваннях.

З огляду на це, метою нашої роботи було вивчення особливостей патогенетичної ролі NO-синтазного шляху оксиду азоту в лімфоцитах при хронічній гіперімунокомплексемії за умов *in vivo* та можливості імунокорекції при даній патології.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Експерименти проведено на 40 статевозрілих щурах-самцях масою 200-250 г. Було сформовано 4 серії піддослідних тварин. Хронічний гіперімунокомплексний процес відтворювали за методом G.Cochrane, D.Koffer [15]. Для відтворення моделі ХГК тваринам вводили один раз на тиждень внутрішньовенно бичачий сироватковий альбумін з розрахунку 100 мг/кг маси впродовж 12 тижнів. Розчин корвітину вводили внутрішньоочеревинно в дозі 40 мг/кг на добу впродовж 10 днів. ХГК супроводжується збільшенням рівня ЦІК у крові. За рівнем ЦІК оцінювали розвиток хвороби. Евтаназію тварин

проводили шляхом декапітації з дотриманням Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, 1985).

Лімфоцити виділяли з гепаринізованої цільної крові шляхом центрифугування в градієнті щільності фікол-верографіну.

Визначення активності сумарної конститутивної ( $\text{Ca}^{2+}$ -залежної) та індукцйбельної ( $\text{Ca}^{2+}$ -незалежної) NO-синтази проводили спектрофотометричним методом [2].

Вміст нітрит-аніона визначали в безбілкових аліквотах надосадових розчинів після визначення активності NO-синтази у колориметричній реакції за допомогою реактиву Гріса методом Гріна [13]. Вміст нітрат-аніона визначали в сироватці крові й суспензії клітин спектрофотометричним методом [16].

Отримані результати обробляли за допомогою комп'ютерної програми "Microsoft Excel".

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Вивчення впливу корвітину на метаболізм синтаз оксиду азоту в лімфоцитах інтактних тварин показало, що його введення супроводжувалось змінами всіх досліджуваних показників (табл. 1). Даний препарат зумовив пригнічення активності iNOS у 2,3 раза ( $p < 0,001$ ). Одночасно відмічено підвищення активності cNOS, проте воно було недостовірним ( $p > 0,05$ ). Недостовірними виявилися і зміни вмісту  $\text{NO}_2^-$ . Рівень  $\text{NO}_3^-$  в лімфоцитах тварин даної групи зріс у 1,6 раза ( $p < 0,01$ ).

Розвиток ХГК супроводжувався значними змінами показників системи оксиду азоту в лімфоцитах (див. табл. 1). Так, за умов даної патології спостерігалось підвищення активно-

Таблиця 1 – Вплив кверцетину (корвітину) на показники обміну NO-синтазного шляху оксид азоту в лімфоцитах за умов хронічної гіперімунокомплексемії ( $M \pm m$ ;  $n=10$ )

Умови досліджу	Досліджувані клітини	NOS, пмоль/хв/мг білка	cNOS, пмоль/хв/мг білка	iNOS, пмоль/хв/мг білка	$\text{NO}_2^-$ , пмоль/мг білка	$\text{NO}_3^-$ , нмоль/мг білка
Інтактні тварини	Лімфоцити	19,15±1,98	19,75±1,59	3,78±0,41	139,47±11,26	15,88±1,53
Інтактні тварини+ корвітин	Лімфоцити+ корвітин	24,56±2,01	22,91±2,06	1,65±0,16	175,34±18,10	25,59±2,02
Дослідні тварини	Лімфоцити	25,33±1,89	7,57±0,72	17,77±1,67	25,75±2,25	3,16±0,36
Дослідні тварини+ корвітин	Лімфоцити+ корвітин	26,46±2,13	19,37±2,18	7,09±0,85	72,86±8,93	8,97±1,07
$p_{1-2}$		< 0,001	> 0,05	< 0,001	> 0,05	< 0,01
$p_{1-3}$		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
$p_{3-4}$		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
$p_{1-4}$		< 0,01	> 0,05	< 0,01	< 0,001	< 0,001

Примітка.  $p_{1-2}$  – вірогідність різниці показників порівняно з інтактними та інтактними тваринами, яким вводили корвітин;  $p_{1-3}$  – вірогідність різниці показників порівняно з інтактними і дослідними тваринами;  $p_{3-4}$  – вірогідність різниці показників порівняно з дослідними та дослідними тваринами, яким вводили корвітин;  $p_{1-4}$  – вірогідність різниці показників порівняно з інтактними і дослідними тваринами, яким вводили корвітин.

сті індуцибельної ізоформи NO-синтази у 4,7 раза ( $p < 0,001$ ). При цьому активність конститутивної ізоформи зазнала значного інгібування, її показник зменшився у 2,6 раза ( $p < 0,001$ ). На тлі таких змін ферментативної активності відмічено зниження вмісту нітрит- та нітрат-аніона – відповідно, у 5,4 ( $p < 0,001$ ) та 5,0 разів ( $p < 0,001$ ).

Застосування корвітину в тварин з хронічним гіперімунокомплексним процесом зумовило зменшення активності індуцибельної NOS у 2,5 раза ( $p < 0,001$ ), проте це зменшення не було достатнім для нормалізації активності даного ферменту (див. табл. 1). Її величина перевищувала контрольний рівень в 1,9 раза ( $p < 0,001$ ). Активність конститутивної NOS зазнала протилежних змін. Її величина зросла у 2,6 раза ( $p < 0,001$ ) і практично не відрізнялась від активності cNOS у інтактних тварин ( $p > 0,05$ ). Вміст як нітрит-, так і нітрат-аніона в лімфоцитах за умов введення корвітину тваринам з імуні-комплексною патологією зростає. Рівні  $\text{NO}_2^-$  та  $\text{NO}_3^-$  збільшились у 2,8 раза ( $p < 0,001$ ). Рівень  $\text{NO}_2^-$  на 91% був меншим від вихідного

( $p < 0,001$ ). Вміст  $\text{NO}_3^-$  на 77% був нижчим від контрольного ( $p < 0,001$ ).

**ВИСНОВКИ.** 1. Зростання синтезу індуцибельної оксидазотної синтази (iNOS) при ХГК та зниженні активності конститутивної синтази (cNOS) може свідчити про підвищення цитотоксичної активності лімфоцитів за цих умов. Зменшення на цьому тлі вмісту нітрат- і нітрит-аніонів можна розцінити як розвиток нітрозактивного стресу. Дисбаланс, що утворився, може свідчити про розвиток аутоагресії.

2. Корвітин за умов ХГК значно зменшує активність iNOS та підвищує активність cNOS у лімфоцитах, зумовлюючи тенденцію до нормалізації показників  $\text{NO}_2^-$  та  $\text{NO}_3^-$  у цих тест-об'єктах.

3. Виражена стабілізуюча дія препарату дає підстави для проведення подальшого експериментального дослідження з метою корекції порушень даної системи при ХГК і робить можливим успішне застосування корвітину при алергічних та імунікомплексних захворюваннях.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Белова Л.А. Биохимия процессов воспаления и поражения сосудов. Роль нейтрофилов // Биохимия. – 1997. – **62**, № 6. – С. 659-668.
2. Викторов И.В. Роль оксида азота и других свободных радикалов в ишемической патологии мозга // Вестн. Рос. АМН. – 2000. – № 4. – С. 5-10.
3. Заячківська О.С. Значення NO-опосередкованого механізму у резистентності слизової стравоходу // Укр. морфолог. альм. – 2006. – **4**, № 4. – С. 28-30.
4. Звягина Т.В., Гамаюнов И.В., Губанова Е.А., и др. Изменения метаболизма оксида азота при ревматических заболеваниях // Укр. ревмат. журн. – 2002. – № 3 (9). – С. 10-15.
5. Зотова И.В., Затеишиков Д.А., Сидоренко Б.А. Синтез оксида азота и развитие атеросклероза // Кардиология. – 2002. – № 4. – С. 58-67.
6. Ивашкин В.Т., Драпкина О.М. Оксид азота в регуляции функциональной активности физиологических систем // Рос. журн. гастроэнт., гепатол., колопроктологии. – 2000. – № 4. – С. 16-21.
7. Ковальчук Л.В., Хараева З.Ф. Роль оксида азота в иммунопатогенезе стафилококковых инфекций // Иммунология. – 2003. – № 3. – С. 186-188.
8. Комісаренко С.В. Молекулярні механізми активації лімфоцитів // Укр. біохім. журн. – 2002. – **74**, № 46 (додаток 2). – С. 8.

9. Мойбенко А.А., Пархоменко А.И., Кожухов С.Н. Эффективность водорастворимой формы кверцетина (корвитина) при лечении острого коронарного синдрома с элевацией сегмента ST // Журн. АМН України. – 2003. – **9**, № 2. – С. 361-370.
10. Пархоменко А.И., Иркин О.И., Кожухов С.Н. Возможности фармакологической защиты миокарда при синдроме ишемии-реперфузии в экспериментальной и клинической практике // Ліки України. – 2002. – № 7-8. – С. 2-11.
11. Покровский В.И., Виноградов Н.А. Оксид азота, его физиологические и патологические свойства // Терапевт. арх. – 2005. – № 1. – С. 82-87.
12. Сиволап В.П., Михайлівська Н.С. Застосування кверцетину (“Корвітину”) у хворих на Q-інфаркт міокарда з метаболічними порушеннями (цукровий діабет, гіперхолестеринемія, ожиріння, артеріальна гіпертензія) // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія: Медицина. – 2005. – Вип. 25. – С. 98-101.
13. Спосіб кількісного визначення нітрит-аніону в біологічній рідині: Пат. України № 6601N35/52 / Коцюруба А.В., Семікопна Т.В., Вікторов О.П. та ін. – Бюл. № 7-11 від 15.12.2000 р.
14. Becker C., Zijlstra J.A. Новые аспекты патогенеза хронической венозной недостаточности и направленности действия оксиритинов // Consilium

Medicum. – 2001. – 3, № 11. – С. 21-25.

15. Cochrane G., Koffer D. Immune complex in experimental animals and man // *Advanc. Immunol.* – 1972. – 16.

16. Green L.C., David A.W., Glogows Analysis of nitrate, nitrite and [<sup>15</sup>N] nitrate in biological fluids *Biochem.* – 1982. – 126, № 1. – P. 131-138.

17. Oleeszek W., Stochmal A. Triterpene saponins and flavonoids of trifolium species // *Phytochemistry.* – 2002. – 61 (2). – P. 165-170.

18. Weyand C.M. New insights into the pathogenesis of rheumatoid arthritis // *Rheumatology.* – 2000. – 139, Suppl. 1. – P. 3-8.

## ЭФФЕКТЫ NO И ЕГО СТАБИЛЬНЫХ МЕТАБОЛИТОВ В ЛИМФОЦИТАХ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ХРОНИЧЕСКОМ ГИПЕРИММУНОКОМПЛЕКСНОМ СИНДРОМЕ В УСЛОВИЯХ IN VIVO

О.В. Садляк

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

### Резюме

Экспериментальный хронический гипериммунокомплексный процесс отображен на 40 половозрелых крысах-самцах массой 200-250 г. Цель нашей работы – исследование показателей синтазной активности NO и его стабильных метаболитов в лимфоцитах животных в этих условиях, а также изучение стабилизирующего влияния корвитина на данный процесс. Установлено: при гипериммунокомплексемии (ХГИК) возрастает синтез iNOS, активность cNOS значительно ингибируется. Применение корвитина в условиях ХГИК значительно уменьшает активность iNOS и повышает активность cNOS в лимфоцитах, обуславливая этим тенденцию к нормализации показателей  $NO_2^-$  и  $NO_3^-$ .

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хроническая гипериммунокомплексемия, оксид азота, метаболиты оксида азота, лимфоциты, корвитин.

## EFFECTS OF NO AND ITS STABLE METABOLITES IN LYMPHOCYTES OF WHITE RATS WITHIN EXPERIMENTAL CHRONIC HYPERIMMUNOCOMPLEX SYNDROME IN VIVO

O.V. Sadlyak

LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY

### Summary

Experimental chronic hyperimmunocomplex process was made on 40 sexually matured male rats (weight 200-250 g). The aim of our work is to explore the parameters of synthasic activity of NO and its stable metabolites in animal lymphocytes and to study the stabilizative influence of corviline on these processes. It was set that under conditions of chronic hyperimmunocomplex syndrome the iNOS synthesis increases, the cNOS activity suffers significant inhibition. Using of corviline under condition of chronic hyperimmunocomplex syndrome conditions decreases considerably the activity of iNOS and increases the activity of cNOS in lymphocytes, causing the normalization of  $NO_2^-$  and  $NO_3^-$  parameters.

KEY WORDS: chronic hyperimmunocomplexemia, nitric oxide, metabolites of nitric oxide, lymphocytes, corviline.

Отримано 16.05.2007 р.

Адреса для листування: О.В. Садляк, Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, вул. Пекарська, 69а, Львів, 79001, Україна.

## ВПЛИВ БІОМАСИ КАРОТИНОСИНТЕЗУВАЛЬНИХ ДРІЖДЖІВ *RHAFFIA RHODOZYMA* НА СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ПЕЧІНКИ ПРИ ІНТОКСИКАЦІЇ ЩУРІВ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

М.І. Колісник, Н.І. Борецька, М.В. Камінська  
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН УААН, ЛЬВІВ

Досліджено вплив біомаси каротиносинтезувальних дріжджів *P. rhodozyma* на показники процесів перекисного окиснення ліпідів та активність ферментів системи антиоксидантного захисту в печінці щурів при оксидативному стресі, зумовленому введенням тетрахлорметану. Показано, що введення у раціон уражених тварин біомаси дріжджів *P. rhodozyma* проявляє чітко виражений антиоксидантний вплив. Згодовування біомаси дріжджів *P. rhodozyma* при порушенні окиснювальних процесів під дією тетрахлорметану має вищий захисний ефект, ніж добавки  $\beta$ -каротину.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: перекисне окиснення ліпідів, ферментативна система антиоксидантного захисту, каротиноїди, дріжджі *P. rhodozyma*.

ВСТУП. У клітинах аеробних організмів у результаті окисно-відновних реакцій відбувається постійна генерація активних форм кисню (АФК), нестабільних метаболітів з високою реакційною здатністю. Клітинний синтез АФК регулюється рядом гормонів, цитокінів та ростових факторів. У низьких концентраціях вони беруть участь у сигнальній трансдукції та експресії генів [2, 6, 11]. Зростання рівня АФК вище певної межі призводить до небезпечних для життєдіяльності клітин процесів, таких, як перекисне окиснення ліпідів, окиснювальна модифікація білків та нуклеїнових кислот, що зумовлює розвиток деструкції біомембран, клітин, тканин. Пошкоджувальна дія АФК на клітини проявляється за умов їх посиленої генерації та виснаження системи антиоксидантного захисту. Підвищення інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) на даний час розглядають як порушення метаболізму, що вимагає корекції [1]. Проблема можливості регуляторного впливу на процеси перекисного окиснення біомолекул антиоксидантами є актуальною як для медицини, так і для ветеринарії. Використання синтетичних антиоксидантів обмежується високою ймовірністю появи небажаних побічних ефектів, тому пошуки природних антиоксидантів і підвищення толерантності живих організмів до окиснювального стресу є важливим завданням сучасної науки.

© М.І. Колісник, Н.І. Борецька, М.В. Камінська, 2007.

До природних антиоксидантів відносять вітаміни А, Е, С, а також убіхінон, тіолові сполуки, каротиноїди і флавоноїди [3]. Відомо, що високу антиоксидантну дію проявляє каротиноїд астаксантин, який міститься в лососевій рибі, крабах, омарах та синтезується клітинами дріжджів *P. rhodozyma* [14].

Метою даної роботи було з'ясувати вплив біомаси каротиносинтезувальних дріжджів *P. rhodozyma* IBM Y-5021 на стан перекисного окиснення ліпідів та ферментативної ланки системи антиоксидантного захисту в печінці щурів при моделюванні окиснювального стресу тетрахлорметаном.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди було проведено на щурах-самцях лінії Вістар із початковою масою тіла 120-130 г, яких утримували у стандартних умовах віварію. Дослідження на лабораторних тваринах виконували згідно з етичним кодексом МОЗ України. Їх поділили на 3 групи (по 8 тварин): 1-ша контрольна; 2-га – щури, яким згодовували біомасу дріжджів *P. rhodozyma* (2 % від маси раціону); 3-тя – тварини, яким згодовували  $\beta$ -каротин у дозі 40 мг/100 г комбікорму (кількість еквівалентна вмісту каротиноїдів у біомасі дріжджів, яку споживали щури 2-ї групи). На 12 день досліду кожну групу тварин було розділено на 2 підгрупи. Щурам однієї підгрупи з кожної групи вводили тетрахлорметан (ТХМ) в дозі 0,2 мл/100 г маси тіла у вигляді 50 % олійного роз-

чину. ТХМ вводили внутрішньочеревно 2 рази через день. Забій тварин проводили через 48 год після останнього введення токсиканту. В тканині печінки визначали вміст тіобарбітур-активних продуктів (ТБКАП) [7], дієнових кон'югат [9], гідроперекисів ліпідів [10], активність каталази [4], глутатіонпероксидази (ГПО) [8] та супероксиддисмутази (СОД) [12]. Вміст каротиноїдів у біомасі дріжджів визначали за методом, описаним для *Neurospora crassa* [5], на фотоколориметрі КФК-3 при  $\lambda=470$  нм після обробки клітин 0,1 % розчином СТАВ (цетил-триметил-амоній-бромід) [13].

Статистичну обробку результатів досліджень проводили, використовуючи t-критерій Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Одержані результати показують (табл. 1), що введення  $\beta$ -каротину та біомаси дріжджів *P. rhodozyma* у раціон щурів суттєво не впливало на вміст тіобарбітур-активних продуктів і гідроперекисів ліпідів у тканині печінки. Проте вміст дієнових кон'югат у печінці тварин знижувався при згодовуванні біомаси дріжджів на 25 %.

Відомо, що введення тваринам ТХМ призводить до посилення процесів вільнорадикального окиснення [1]. Одержані дані свідчать про значне підвищення вмісту первинних та кінцевих продуктів ПОЛ у тканині печінки уражених щурів контрольної групи (див. табл. 1). Зокрема, вміст дієнових кон'югат у тканині печінки зростав на 26,8 %, а рівень гідроперекисів ліпідів – на 32,1 %. Підвищення концентрації кінцевих продуктів ліпопероксидації – ТБК-активних сполук – було ще більш вираженим і становило 96,9 %.

Згодовування тваринам раціонів з добавкою біомаси каротиносинтезувальних дріжджів

або  $\beta$ -каротину значною мірою послаблювало токсичний вплив ТХМ. Так, якщо у щурів контрольної групи вміст ТБКАП під дією ТХМ зростав на 97 %, то у тварин 2-ї і 3-ї груп – лише на 27,1 й 17,7 % відповідно. Аналіз одержаних результатів показує, що згодовування біомаси каротиносинтезувальних дріжджів нормалізувало спричинене ТХМ підвищення рівня дієнових кон'югат і гідроперекисів ліпідів (див. табл. 1). Слід відмітити, що при згодовуванні тваринам  $\beta$ -каротину вміст дієнових кон'югат і гідроперекисів ліпідів у печінці отруєних ТХМ щурів був нижчим порівняно з ураженими тваринами контрольної групи, проте рівень цих показників не досягав нормальних величин.

У механізмах регуляції вільнорадикальних та пероксидних процесів ключову роль відіграють ферменти-антиоксиданти, які взаємодоповнюють один одного, – СОД, каталаза та ГПО. Потужним природним антиоксидантом і ферментом першої ланки антиоксидантного захисту є СОД. Тому показники активності цього ферменту характеризують глибину тканинного ураження та порушення метаболізму, зумовлених оксидативним стресом.

Одержані нами дані свідчать про те, що при згодовуванні щурам біомаси каротиновмісних дріжджів або  $\beta$ -каротину активність каталази, СОД і ГПО достовірно не змінювалась. При ураженні щурів ТХМ активність вказаних ферментів у тканині печінки тварин контрольної групи знижувалась, відповідно, на 49, 45 і 44 % (табл. 2).

При згодовуванні щурам раціонів з добавкою біомаси дріжджів *P. rhodozyma* або  $\beta$ -каротину токсична дія ТХМ на активність ферментів антиоксидантної системи була виражена слабше. Зниження активності СОД та ГПО у печінці тварин 2-ї групи становило лише 9 і 21 % відповідно, а у щурів 3-ї групи – 14 і 20 %.

Таблиця 1 – Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у печінці щурів ( $M \pm m$ ,  $n=4$ )

Групи тварин	Підгрупи тварин	ТБК-активні продукти, нмоль/г	Дієнові кон'югати, мкмоль/кг	Гідроперекиси ліпідів, ОЕ/г
1-ша контрольна	1 інтактні	18,41 $\pm$ 1,70	89,87 $\pm$ 3,13	16,35 $\pm$ 1,62
	2 +ТХМ	36,25 $\pm$ 2,39*	113,98 $\pm$ 1,82*	21,6 $\pm$ 1,92*
2-га біомаса <i>P. rhodozyma</i>	1 інтактні	19,35 $\pm$ 1,00	67,21 $\pm$ 3,45*	14,33 $\pm$ 1,45
	2 +ТХМ	24,59 $\pm$ 1,02**	71,07 $\pm$ 6,18	14,17 $\pm$ 0,86
3-тя $\beta$ -каротин	1 інтактні	18,25 $\pm$ 1,32	84,12 $\pm$ 2,48	14,16 $\pm$ 1,42
	2 +ТХМ	21,48 $\pm$ 2,51	92,18 $\pm$ 3,34	21,00 $\pm$ 1,50**

Примітка. Тут і в наступній таблиці: \* – різниця достовірна відносно інтактних тварин контрольної групи; \*\* – різниця достовірна відносно інтактних тварин даної групи.

Таблиця 2 – Вплив біомаси дріжджів *P. rhodozyma* та β-каротину на активність ферментів антиоксидантного захисту в тканині печінки щурів за дії тетрахлорметану ( $M \pm m$ ,  $n=4$ )

Групи тварин	Підгрупи тварин	Каталаза, мкмоль $H_2O_2 \cdot xв^{-1} \cdot мг^{-1}$ білка	СОД, ум. од. $\cdot мг^{-1}$ білка	ГПО, нмоль GSH $\cdot xв^{-1} \cdot мг^{-1}$ білка
1-ша контрольна	1 інтактні	120±1,9	4,71±0,20	366±12,7
	2 +ТХМ	61±2,9*	2,57±0,12*	204±15,8*
2-га біомаса <i>P. rhodozyma</i>	1 інтактні	125±2,9	4,66±0,10	375±14,1
	2 +ТХМ	133±2,7**	4,25±0,10**	297±9,3**
3-тя β-каротин	1 інтактні	118±3,6	4,33±0,22	362±14,4
	2 +ТХМ	110±4,4	3,72±0,11**	291±17,9**

У тварин 2-ї групи введення ТХМ супроводжувалося зростанням активності каталази у тканині печінки на 14,9 %. Підвищення активності каталази у щурів, які споживали біомасу каротиномісних дріжджів, очевидно, було проявом компенсаторної реакції організму, спрямованої на нормалізацію процесів перекисного окиснення ліпідів. Ураження тварин, яких утримували на раціонах з β-каротином, не викликало суттєвих змін цього показника порівняно з контролем.

Таким чином, введення щурам ТХМ призводило до активізації процесів ПОЛ у тканинах печінки. Введення в раціон тварин біомаси каротиномісних дріжджів *P. rhodozyma* або β-каротину спричиняло зниження ступеня накопичення продуктів ПОЛ та підвищення активності ферментів системи антиоксидантного захисту в щурів при оксидативному стресі, зумовленому введенням тетрахлорметану. Порівняльний аналіз показників ПОЛ та ферментів системи антиоксидантного захисту свідчить про те, що згодовування біомаси дріжджів *P. rhodozyma* мало вищий захисний ефект, ніж добавка β-каротину. Коригувальна дія біомаси дріжджів на вільнорадикальні процеси окис-

нення, очевидно, зумовлена наявністю каротиноїдів, зокрема астаксантину, який проявляє значно вищу антиоксидантну дію, ніж β-каротин [15]. Визначення вмісту каротиноїдів у біомасі дріжджів, яку використовували як добавку до раціонів щурів, показало, що їх кількість досягала 20 мг каротиноїдів/г сухої біомаси, в т. ч. вміст астаксантину становив 13 мг/г сухої біомаси.

**ВИСНОВКИ.** 1. Введення щурам тетрахлорметану призводить до активізації процесів перекисного окиснення ліпідів та зниження активності каталази, супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази у печінці.

2. Згодовування біомаси каротиносинтезувальних дріжджів *P. rhodozyma* щурам, яким вводили тетрахлорметан, проявляє антиоксидантний вплив: зменшує інтенсивність процесів ліпопероксидації у тканинах печінки з одночасним підвищенням активності ферментів антиоксидантної системи захисту.

3. Згодовування щурам біомаси дріжджів *P. rhodozyma* при порушенні окиснювальних процесів у печінці під дією тетрахлорметану проявляє кращу захисну дію, ніж добавка β-каротину.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Гонський Я.І., Баган О.П., Кліщ І.М. та ін. Корекція ентеросорбцією порушень окиснювальних процесів при токсичному ураженні печінки // Укр. біохим. журн. – 1994. – **66**, № 2. – С. 112-116.  
 2. Капитанов А.Б., Пименов А.М. Каротиноиды как антиоксидантные модуляторы клеточного метаболизма // Усп. совр. биол. – 1996. – **116**, вып 2. – С. 179-193  
 3. Кения М.В., Лукаш А.И., Гуськов Е.П. Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окисли-

тельном стрессе // Усп. совр. биол. – 1993. – **113**, вып. 4. – С. 456-470.  
 4. Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. и др. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-18.  
 5. Крицкий М.С., Чернишева Е.К., Соболева И.С. Никотинамидные коферменты на ранних этапах световой индукции каротиногенеза в мицелии *Neurospora crassa* // Прикладная биохимия и микробиология. – 1977. – **13**, вып. 6. – С. 901-906.

6. Луцк В.И. Окислительный стресс и механизмы защиты от него у бактерий // Биохимия. – 2001. – **66**, вып. 5. – С. 592-609.

7. Луцк В.И., Багнокова Т.В., Луцк О.В. Показники оксидативного стресу. 1. Тіобарбітурактивні продукти і карбонільні групи білків // Укр. біохім. журн. – 2004. – **76**, № 6. – С. 136-141.

8. Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. дело. – 1986. – № 12. – С. 724-727.

9. Романова Л.А., Стальная И.Д. Современные методы в биохимии / Под ред. В. Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 63-64.

10. Способ определения гидроперекисей липидов в биологических тканях: А. с. №1084681 СССР, МКИ G №33/48 / В.В. Мирончик (СССР). – № 3468369/28-13; Заявл. 08.07.82; Опубл. 07.04.84, Оф. бюл.

№ 13.–2 с.

11. Турпаев К.Т. Активные формы кислорода и регуляция экспрессии генов // Биохимия. – 2002. – **67**, вып. 3. – С. 339-352.

12. Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678-681.

13. Alamae T., Jarviste A. Permeabilization of the methylotrophic yeast *Pichia pinus* for intracellular enzyme analysis: a quantitative study // J. Microbiological Methods. – 1995. – **22**. – P. 193-205.

14. Johnson E., Lewis M. Astaxanthin formation by the yeast *Phaffia rhodozyma* // J. Gen. Microbiol. – 1979. – **115**. – P. 173-183.

15. Miki W. Biological function and activities of animal carotenoids // Pure Appl. Chem. – 1991. – **63**, № 1. – P. 141-146.

## ВЛИЯНИЕ БИОМАССЫ КАРОТИНОСИНТЕЗИРУЮЩИХ ДРОЖЖЕЙ *PHAFFIA RHODOZYMA* НА СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПЕЧЕНИ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ КРЫС ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

М.И. Колисник, Н.И. Борецкая, М.В. Каминская  
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЖИВОТНЫХ УААН, ЛЬВОВ

### Резюме

Исследовано влияние биомассы каротиносинтезирующих дрожжей *P. rhodozyma* на показатели процессов перекисного окисления липидов и активность ферментов системы антиоксидантной защиты в печени крыс при окислительном стрессе, вызванном введением тетрахлорметана. Показано, что введение в рацион пораженных животных биомассы дрожжей *P. rhodozyma* оказывает чётко выраженное антиоксидантное влияние. Скармливание биомассы дрожжей *P. rhodozyma* при нарушении окислительных процессов под действием тетрахлорметана имеет высший защитный эффект по сравнению с добавкой β-каротина.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: перекисное окисление липидов, ферментативная система антиоксидантной защиты, каротиноиды, дрожжи *P. rhodozyma*.

## INFLUENCE OF CAROTENE-PRODUCING YEAST *PHAFFIA RHODOZYMA* BIOMASS ON ANTIOXIDANT SYSTEM OF RAT LIVER UNDER TOXICATION OF TETRACHLORMETHANE

M.I. Kolisnyk, N.I. Boretska, M.V. Kaminska  
INSTITUTE OF ANIMAL BIOLOGY, LVIV

### Summary

The influence of carotene-producing yeast *P. rhodozyma* biomass on lipid peroxidation and antioxidative defense system ferments in rat liver under oxidative stress was studied. Oxidative stress was caused by tetrachlormethane (TCM). The addition of yeast *Phaffia rhodozyma* biomass to the diet of damaged rats is characterized by antioxidative action. The feeding of yeast biomass to rats with oxidative processes disorder under action of tetrachlormethane has higher protective effect in comparison to β-carotene additions.

KEY WORDS: lipid peroxidation, fermentative antioxidative defence system, carotenoids, yeast *P. rhodozyma*.

Отримано 3.05.2007 р.

Адреса для листування: М.І. Колисник, Інститут біології тварин УААН, вул. Стуса, 38, Львів, 79034, Україна.

— І äàè÷íà òì ÿ — ò. 9, № 3, 2007 —



## ВПЛИВ НОВОГО СТРУКТУРНОГО АНАЛОГА МЕЛАТОНІНУ НА ОРГАНИ ТА СИСТЕМИ ЩУРІВ У ХРОНІЧНОМУ ЕКСПЕРИМЕНТІ

О.В. Репетева

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

*У роботі представлено результати вивчення впливу нового структурного аналога мелатоніну на органи і системи щурів у хронічному експерименті. Доведено, що структурний аналог мелатоніну в дозах  $ED_{50}$  (10,8 мг/кг),  $5 ED_{50}$  і  $10 ED_{50}$  протягом 3-х місяців не справляв негативного впливу на масу тіла, діяльність серцево-судинної системи, функціональний стан печінки та нирок, не змінював морфологічний склад периферичної крові.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: хронічний експеримент, органи і системи, мелатонін.

**ВСТУП.** Перш ніж запропонувати препарат для клінічних випробувань, необхідно вивчити не тільки його специфічну активність і специфічну нешкідливість (ембріотоксичність, гонадотоксичність, імунотропну і, місцевоподразнюючу дію та ін.), але і його вплив на органи та системи організму в хронічному експерименті. Результати таких експериментів уже в найближчі тижні застосування препарату або субстанції дозволяють зробити висновок про те, токсичні вони чи ні. Проведення таких досліджень на стадії доклінічного вивчення обов'язкове для всіх нових речовин і препаратів [3].

Метою дослідження було вивчення впливу нового структурного аналога мелатоніну на органи та системи щурів в умовах хронічного експерименту.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Для встановлення можливої загальнотоксичної дії на органи і системи організму протягом 3 місяців проводили дослідження на нелінійних білих щурах різної статі масою 180-200 г. В експерименті використовували 4 групи по 10 тварин у кожній: 1 група – тварини, яким вводили структурний аналог мелатоніну в дозі  $ED_{50}$  (10,8 мг/кг); 2 група – тварини, яким вводили ту ж речовину у дозі  $5 ED_{50}$  (54,0 мг/кг); 3 група – тварини, яким вводили ту ж речовину у дозі  $10 ED_{50}$  (108,0 мг/кг); 4 група – тварини, які отримували ізотонічний розчин натрію хлориду і твін-80 (контроль). Усі показники органів та систем вивчали згідно з вимогами "Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації" (за редакцією академіка О.В. Сте-

© О.В. Репетева, 2007.

фанова) [1]. Протягом експерименту із щурами поведилися відповідно до Міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментів і інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986). Дані обробляли методами непараметричної статистики з використанням t-критерію Стьюдента [2].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Інтегративним показником, який дозволяє об'єктивно зробити висновок про ступінь токсичності, є маса тіла в динаміці. До кінця експерименту маса тіла щурів збільшилася в середньому на 46,8-49,4 % у дослідних групах і на 47,5 % у контрольній ( $p < 0,05$ ), що свідчило про відсутність негативного впливу нового структурного аналога мелатоніну на органи тварин. Вірогідної різниці між всіма дослідними групами в динаміці збільшення маси тіла щурів не виявлено (табл. 1).

Відсутність токсичного впливу структурного аналога мелатоніну підтверджується також показниками клінічного аналізу крові (табл. 2 і 3). Протягом всього дослідження кількість еритроцитів, гемоглобіну і лейкоцитів статистично вірогідно не відхилялася від вихідних величин (див. табл. 2).

Аналогічні результати було отримано і при вивченні нового структурного аналога мелатоніну в дозах  $5 ED_{50}$  і  $10 ED_{50}$ .

Проведене дослідження дозволяє зробити висновок про те, що тривале застосування структурного аналога мелатоніну не впливає на показники червоної і білої крові піддослідних тварин.

При вивченні функціональної системи кровообігу встановлено, що тривале застосування нового структурного аналога мелатоніну не викликає змін артеріального тиску й електричної активності серця щурів.

Аналіз кардіограм показав, що число серцевих скорочень істотно не змінювалося протягом дослідного періоду (390,3-386,1 скорочень за 1 хв). Тривалість серцевого циклу протягом дослідного періоду залишалася в межах фізіологічних значень. Показники зубців та інтервалів ЕКГ вірогідно не відрізнялися від вихідних величин. Так, зубець Р був добре виражений в основному в першому відведенні. Тривалість інтервалу Р-Р складала в середньому 0,302-0,268 с, інтервалу Q-T – 0,152-0,142 с, систолічний показник становив 48,6-54,4.

Тривале застосування лікарських засобів перш за все викликає реакцію з боку печінки як детоксикуючого органа організму, який першим реагує на введення токсичних речовин [1]. Тому ми вивчили білоксинтетичну, піг-

менто- і холестеринуотворювальну функції печінки. Вміст загального білірубину, зокрема фракції прямого білірубину (табл. 4), в сироватці крові піддослідних тварин протягом усього періоду експерименту вірогідно не змінювався.

Кількість холестерину (табл. 5) до кінця дослідження трохи зменшувалася порівняно з вихідними даними, але залишалася в межах фізіологічних значень.

Значення АлАТ і АсАТ – маркерних ферментів цитолізу протягом усього дослідного періоду не відрізнялися від величин цих ферментів у тварин контрольної групи ( $p > 0,05$ ) (табл. 6).

Отримані результати свідчать про те, що структурний аналог мелатоніну не впливає на показники функціонального стану печінки.

Стан нирок експериментальних тварин оцінювали за такими показниками: кількістю виділеної сечі, вмістом в ній білка, густиною сечі, залишковим азотом сечовини і концентрацією сечовини в сироватці крові. Результати дослідження наведено в таблиці 7.

Таблиця 1 – Динаміка маси тіла (г) експериментальних тварин при тривалому застосуванні нового структурного аналога мелатоніну в різних дозах ( $X \pm Sx$ ,  $n=10$ )

Групи тварин	Дози	Вихідні дані	Термін дослідження		
			15 днів	30 днів	3 місяці
Контрольна група	-	174,0 $\pm$ 3,2	193,5 $\pm$ 3,03	226,0 $\pm$ 4,61	258,0 $\pm$ 3,94
Дослідна група	ЕД <sub>50</sub>	173,8 $\pm$ 2,21	196,4 $\pm$ 4,14	221,5 $\pm$ 3,2	260,0 $\pm$ 2,9
	5 ЕД <sub>50</sub>	174,4 $\pm$ 2,61	189,7 $\pm$ 4,47	217,5 $\pm$ 3,76	256,3 $\pm$ 4,33
	10 ЕД <sub>50</sub>	175,5 $\pm$ 3,3	194,5 $\pm$ 2,93	220,2 $\pm$ 4,0	258,6 $\pm$ 4,00

Таблиця 2 – Показники периферичної крові щурів при тривалому застосуванні нового структурного аналога мелатоніну в дозі ЕД<sub>50</sub> ( $X \pm Sx$ ,  $n=10$ )

Групи тварин	Показники	Вихідні дані	Термін дослідження		
			15 днів	30 днів	3 місяці
Дослідна	Гемоглобін, г/л	119,6 $\pm$ 3,1	118 $\pm$ 1,5	119,8 $\pm$ 1,96	120,4 $\pm$ 1,66
	Еритроцити, $\cdot 10^{12}$ /л	3,51 $\pm$ 0,2	3,33 $\pm$ 0,06	3,26 $\pm$ 0,26	3,30 $\pm$ 0,18
	Лейкоцити, $\cdot 10^9$ /л	7,82 $\pm$ 4,27	8,16 $\pm$ 2,88	7,96 $\pm$ 2,26	7,9 $\pm$ 2,28
	ШОЕ, мм/год	1,18 $\pm$ 0,26	1,25 $\pm$ 0,56	1,75 $\pm$ 0,56	1,62 $\pm$ 0,42
Контрольна	Гемоглобін, г/л	120,4 $\pm$ 4,6	119,5 $\pm$ 3,25	118,5 $\pm$ 2,2	122,0 $\pm$ 5,2
	Еритроцити, $\cdot 10^{12}$ /л	4,41 $\pm$ 0,59	4,35 $\pm$ 0,22	4,38 $\pm$ 0,25	4,56 $\pm$ 0,23
	Лейкоцити, $\cdot 10^9$ /л	6,23 $\pm$ 0,47	6,55 $\pm$ 0,22	6,50 $\pm$ 0,45	6,49 $\pm$ 0,20
	ШОЕ, мм/год	1,7 $\pm$ 0,34	1,25 $\pm$ 1,90	2,0 $\pm$ 0,72	2,26 $\pm$ 0,55

Таблиця 3 – Показники лейкоцитарної формули крові щурів при тривалому застосуванні нового структурного аналога мелатоніну в дозі ЕД<sub>50</sub> ( $X \pm Sx$ ,  $n=10$ )

Групи тварин	Види лейкоцитів	Вихідні дані	Термін дослідження		
			15 днів	30 днів	3 місяці
Дослідна	Нейтрофіли, %	27,75 $\pm$ 2	32,25 $\pm$ 1,9	29 $\pm$ 1,9	31 $\pm$ 3,9
	Еозинофіли, %	1,0 $\pm$ 0,8	1,5 $\pm$ 0,72	1,5 $\pm$ 0,72	1,2 $\pm$ 0,22
	Базофіли, %	-	-	-	-
	Моноцити, %	2,5 $\pm$ 0,7	3,75 $\pm$ 1,6	3,75 $\pm$ 1,8	6,73 $\pm$ 1,73
	Лімфоцити, %	62,0 $\pm$ 1,8	59,2 $\pm$ 1,9	58,5 $\pm$ 2,7	56,70 $\pm$ 6,5
Контрольна	Нейтрофіли, %	31,5 $\pm$ 1,8	31,7 $\pm$ 2,53	30,75 $\pm$ 2,5	31,85 $\pm$ 1,0
	Еозинофіли, %	1,9 $\pm$ 0,36	2,9 $\pm$ 0,36	2,9 $\pm$ 0,36	2,24 $\pm$ 0,46
	Базофіли, %	0,74 $\pm$ 0,20	1,75 $\pm$ 0,36	0,4 $\pm$ 0,15	0,48 $\pm$ 0,04
	Моноцити, %	2,98 $\pm$ 0,36	1,75 $\pm$ 0,54	2,9 $\pm$ 0,36	2,5 $\pm$ 0,89
	Лімфоцити, %	55,75 $\pm$ 1,7	56,75 $\pm$ 1,45	55,75 $\pm$ 3,26	57,22 $\pm$ 1,6

Установлено, що тривале застосування нового структурного аналога мелатоніну не викликало істотних змін з боку видільної системи. Азот сечовини і сечовина сироватки крові істотно не змінювалися в усі терміни спостереження. Густина сечі як до досліду, так і протягом 3-х місяців не відхилялась від

норми і становила у середньому 1,006-1,017 у щурів. Білка у сечі тварин усіх дослідних груп не виявлено. Показники діурезу щурів дослідної групи вірогідно не відрізнялися від вихідних даних контрольної групи.

Отже, негативного впливу нового структурного аналога мелатоніну за даними показ-

Таблиця 4 – Динаміка рівня білірубіну (прямої фракції) (мкмоль/л) в сироватці крові щурів при тривалому застосуванні нового структурного аналога мелатоніну в різних дозах ( $\bar{X} \pm S_x$ , n=10)

Групи тварин	Дози	Вихідні дані	Термін дослідження		
			15 днів	30 днів	3 місяці
Контрольна	—	1,25±0,36	1,28±0,49	1,56±0,16	1,52±0,26
Дослідна	ED <sub>50</sub>	1,12±0,47	2,19±0,77	1,55±0,32	1,52±0,44
	5 ED <sub>50</sub>	1,19±0,32	1,41±0,52	1,36±0,23	1,42±0,50
	10 ED <sub>50</sub>	1,22±0,12	1,32±0,44	1,41±0,22	1,46±0,26

Таблиця 5 – Динаміка рівня холестерину (ммоль/л) в сироватці крові щурів при тривалому застосуванні нового структурного аналога мелатоніну в різних дозах ( $\bar{X} \pm S_x$ , n=10)

Групи тварин	Дози	Вихідні дані	Термін дослідження		
			15 днів	30 днів	3 місяці
Контрольна	—	0,080±0,01	0,087±0,02	0,05±0,01	0,05±0,02
Дослідна	ED <sub>50</sub>	0,068±0,01	0,050±0,01	0,03±0,01	0,03±0,02
	5 ED <sub>50</sub>	0,074±0,02	0,065±0,01	0,052±0,01	0,051±0,04
	10 ED <sub>50</sub>	0,071±0,07	0,065±0,12	0,054±0,09	0,052±0,10

Таблиця 6 – Динаміка рівня АлАТ і АсАТ (нмоль/с-л) – маркерних ферментів цитолізу при тривалому застосуванні нового структурного аналога мелатоніну в різних дозах ( $\bar{X} \pm S_x$ , n=10)

Групи тварин	Дози	Вихідні дані	Термін дослідження			
			15 днів	30 днів	3 місяці	
АсАТ	Контрольна	—	51±2,6	50±0,88	51,7±2,1	52,1±2,5
	Дослідна	ED <sub>50</sub>	50±1,8	51±0,25	52,4±2,1	52,0±1,6
АсАТ	Дослідна	5 ED <sub>50</sub>	52±1,2	51,6±0,65	52,4±0,23	50,1±0,99
		10 ED <sub>50</sub>	49±1,9	50,6±1,3	51,7±0,54	50,6±0,79
АлАТ	Контрольна	—	131,6±1,4	130,1±0,86	130,3±0,78	131,0±1,1
	Дослідна	ED <sub>50</sub>	131±2,1	132,1±1,1	130,2±0,56	131,1±0,25
		5 ED <sub>50</sub>	129±1,51	130,2±0,68	127,3±0,74	132,5±0,44
		10 ED <sub>50</sub>	130,5±1,4	133,2±0,56	132,5±0,75	131,0±0,70

Таблиця 7 – Вміст азоту сечовини і концентрація сечовини в сироватці крові щурів при тривалому застосуванні нового структурного аналога мелатоніну в різних дозах ( $\bar{X} \pm S_x$ , n=10)

Групи тварин	Дози	Показники	Вихідні дані	Термін дослідження		
				15 днів	30 днів	3 місяці
Контрольна	—	Азот сечовини, ммоль/л	2,47±0,96	2,31±0,77	2,24±0,85	2,16±0,74
		Сечовина, ммоль/л	6,50±1,56	6,10±1,58	5,96±1,17	5,82±1,20
Дослідна	ED <sub>50</sub>	Азот сечовини, ммоль/л	1,45±0,16	2,52±0,25*	1,78±0,24	1,70±0,20
		Сечовина, ммоль/л	4,30±0,34	6,56±0,53*	4,96±0,49	4,86±0,46
Дослідна	5 ED <sub>50</sub>	Азот сечовини, ммоль/л	2,52±0,71	2,44±0,62	2,33±0,85	2,20±0,26
		Сечовина, ммоль/л	5,87±1,23	6,04±1,12	5,94±1,13	5,80±1,28
Дослідна	10 ED <sub>50</sub>	Азот сечовини, ммоль/л	2,49±0,56	2,37±0,55	2,31±0,85	2,18±0,60
		Сечовина, ммоль/л	6,21±0,95	6,12±1,43	5,88±0,96	5,80±1,18

Примітка. \* – розходження, порівняно з вихідною величиною, вірогідні (p<0,05).

Таблиця 8 – Динаміка вмісту глюкози (ммоль/л) у крові експериментальних тварин при тривалому застосуванні нового структурного аналога мелатоніну в різних дозах ( $X \pm Sx$ ,  $n=10$ )

Групи тварин	Дози	Вихідні дані	Термін дослідження		
			15 днів	30 днів	3 місяці
Контрольна	–	4,15±0,30	4,27±0,13	4,22±0,20	4,24±0,2
Дослідна	ED <sub>50</sub>	4,12±0,14	4,21±0,09	4,24±0,08	4,18±0,10
	5 ED <sub>50</sub>	3,26±0,28	3,52±0,32	3,11±0,24	3,28±0,44
	10 ED <sub>50</sub>	4,46±0,18	4,55±0,80	4,48±0,45	4,44±0,44

никами на функціональний стан нирок не виявлено.

Вміст цукру в крові є важливим показником вуглеводного обміну [1]. Результати проведеного дослідження свідчать про те, що структурний аналог мелатоніну при тривалому застосуванні в щурів у різних дозах не впливав на рівень глюкози в крові піддослідних тварин. Вміст глюкози вірогідно не відрізнявся по закінченні експерименту порівняно як з вихідними даними, так і з рівнем глюкози у контрольних тварин. Відсутність небажаного токсичного впливу на функції ендокринних залоз за умов тривалого застосування нового структурного аналога мелатоніну в дозах, які у кілька разів перевищують умовно-терапевтичну, підтверджується відсутністю патологічних змін у структурі надниркових залоз при гістологічному дослідженні. Наведені дані (табл. 8) свід-

чать про те, що структурний аналог мелатоніну не впливає на функції ендокринної системи.

Викладені вище результати вивчення нешкідливості нового структурного аналога мелатоніну за умов тривалого застосування підтверджено при гістоморфологічному дослідженні внутрішніх органів. Результати проведеного нами дослідження збігаються з даними літератури про інтактних тварин за всіма системами організму [4].

**ВИСНОВКИ.** У хронічному експерименті новий структурний аналог мелатоніну, застосований внутрішньошлунково в дозах ED<sub>50</sub> (10,8 мг/кг), 5 ED<sub>50</sub> і 10 ED<sub>50</sub> протягом 3-х місяців, не справляв негативного впливу на масу тіла, діяльність серцево-судинної системи, функціональний стан печінки та нирок, не змінював морфологічний склад периферичної крові.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів / За ред. О.В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – С. 292-307, С. 74-97, С. 196-203, С. 272-283.
2. Сернов Л.Н., Гацура В.В. Статистические методы оценки достоверности результатов фармакологических исследований // Элементы экспериментальной фармакологии. – М., 2000. – С. 308-315.
3. Стефанов О.В. Современные проблемы токсикологии. – 1998. – № 1. – С. 12-14.
4. Яковлева Л.В., Авдеева І.І., Весніна К.В. та ін. Токсичні властивості нового антиалергічного препарату "Глюкорибін" // Вісник фармації. – 1998. – № 1 (17). – С. 103-107.

## ВЛИЯНИЕ НОВОГО СТРУКТУРНОГО АНАЛОГА МЕЛАТОНИНА НА ОРГАНЫ И СИСТЕМЫ КРЫС В ХРОНИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

**Е.В. Репетева**

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

#### Резюме

В работе представлены результаты изучения влияния нового структурного аналога мелатонина на органы и системы крыс в хроническом эксперименте. Доказано, что структурный аналог мелатонина в дозах ED<sub>50</sub>

(10,8 мг/кг), 5 ED<sub>50</sub> и 10 ED<sub>50</sub> на протяжении 3-х месяцев не оказывал негативного влияния на массу тела, деятельность сердечно-сосудистой системы, функциональное состояние печени и почек, не изменял морфологический состав периферической крови.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хронический эксперимент, органы и системы, мелатонин.

## INFLUENCE OF NEW STRUCTURAL ANALOGUE OF MELATONIN ON ORGANS AND SYSTEMS OF RATS UNDER CONDITION OF CHRONIC EXPERIMENT

**O.V. Repetyeva**

NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

### Summary

The results of the study of the influence of new structural analogue of melatonin on organs and systems in chronic experiment are presented in the work. It is proved that structural analogue of melatonin in dose ED<sub>50</sub> (10,8 mg/kg), 5 ED<sub>50</sub> and 10 ED<sub>50</sub> during 3 months did not cause negative influence upon body mass body, activity of cardiovascular system, functional condition of liver and kidneys, did not change the morphological composition of peripheral blood.

KEY WORDS: chronic experiment, organs and systems, melatonin.

Отримано 26.04.2007 р.

Адреса для листування: О.В. Репетева, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна.

Для отримання оперативної інформації звертайтеся  
до нашої сторінки в Інтернеті:  
[www.tdmu.edu.te.ua](http://www.tdmu.edu.te.ua)

## СПІВВІДНОШЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЙ $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{K}^+$ , $\text{Na}^+$ І ВИСОКО-МОЛЕКУЛЯРНИХ НАСИЧЕНИХ НЕЕТЕРИФІКОВАНИХ ФОРМ ЖИРНИХ КИСЛОТ МІЖ СПЕРМАЛЬНОЮ ПЛАЗМОЮ ТА СПЕРМАТОЗОЇДАМИ

Г.В. Максим'юк

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

*В еякулятах бугаїв, репродуктивні органи яких виділяють секрети з низькою (16-33 мМ), середньою (25-46 мМ) і високою (32-69 мМ) концентрацією  $\text{K}^+$ , визначили числові вирази (коефіцієнти), які характеризують особливості співвідношень концентрацій високомолекулярних насичених неетерифікованих форм жирних кислот між спермальною плазмою та сперматозоїдами. Різниця між даними показниками у групах з низькою і високою концентрацією  $\text{K}^+$  щодо середньої коливається у межах  $\pm 0,25-13$  частин їх вмісту в спермі, що становить 7-33 %.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** спермальна плазма, сперматозоїди, калій, натрій, кальцій, високомолекулярні жирні кислоти.

ВСТУП. Експериментально встановлено, що повноцінність структури і функцій сперматозоїдів при заморожуванні сперми до  $-196\text{ }^\circ\text{C}$  пов'язана з гомеостазом  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ . У системі "клітина-середовище", зокрема в еякулятах з низькою і високою концентрацією  $\text{K}^+$ , визначено нижчі показники їх рухливості та запліднювальної здатності [3, 4]. Це означає, що сформована репродуктивними органами і захисними середовищами рівновага вмісту іонів та молекул неорганічних і органічних речовин суттєво впливає на життєздатність сперматозоїдів нативної, еквіліброваної і розмороженої сперми.

У зв'язку з цим доведено, що тканини органів пойкилотермних тварин містять більше ненасичених високомолекулярних карбонових (жирних) кислот (ЖК), ніж насичених. Відомо також, що ліолева, ліоленова й арахідонова ЖК за температури, відповідно,  $-5$ ,  $-11$  і  $-49\text{ }^\circ\text{C}$  мають властивість переходити з твердого стану в рідкий. Тобто ознаки, які характеризують особливості фізико-хімічного стану, і числові вирази (коефіцієнти) співвідношень насичених та ненасичених ЖК вказують на постійність їх складу в мембранах ізольованих і неізольованих клітин організму [2, 8-12].

З одного боку, це свідчить про тісний зв'язок концентрацій ЖК із структурою мембранних білків, з іншого – про їх регуляцію на

генному рівні. Тому метою роботи було вивчення в еякулятах високої якості особливостей зв'язків між концентраціями  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  та високомолекулярних насичених неетерифікованих форм ЖК.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Досліджували еякуляти дев'яти бугаїв чорно-рябої породи віком 5-7 років, поділених на три групи по три тварини у кожній. Дослідні групи (1-ша, 2-га, 3-тя) сформували за низькою (16-33 мМ), середньою (25-46 мМ), високою (32-69 мМ) концентрацією  $\text{K}^+$  у спермі. Еякуляти відбирали за показниками об'єму (3-5 мл), концентрації сперматозоїдів (1,6-1,8 млрд/мл) та їх рухливості (7-9 балів) [1]. Методом центрифугування сперму розділяли на плазму і сперматозоїди, в яких полум'яним фотометром (Flapho-4) за методикою [5] визначали концентрації  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ .

Для визначення концентрацій неетерифікованих насичених форм ЖК відбирали 1,0 мл свіжоотриманої сперми. Стан структури білків акросоми та цитоплазматичної мембрани сперматозоїдів фіксували 2 % розчином глутаральдегіду. Після фіксації сперму розділяли на сперматозоїди і плазму, в яких газохроматографічним апаратом "Chrom-5" визначали концентрації ЖК [6, 7].

Особливості співвідношень  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  і ЖК між спермальною плазмою і спермато-

© Г.В. Максим'юк, 2007.

зоїдами аналізували за допомогою числових виразів, які одержували в результаті поділу найвищих значень концентрацій на нижчі. Статистичний аналіз проводили за стандартними комп'ютерними програмами.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Визначені у спермальній плазмі та сперматозоїдах бугаїв дослідних груп показники концентрацій  $\text{Ca}^{2+}$  (7-9-8 та 2-2-2),  $\text{K}^+$  (16-27-46 та 21-18-14),  $\text{Na}^+$  (61-52-35 та 6-11-15 мМ), які для зручності аналізу було зведено до цілих чисел, використали для оцінки особливостей співвідношень різно- ( $\text{Na}^+:\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$ ) та однойменних ( $\text{Na}^+:\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+:\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}:\text{Ca}^{2+}$ ) пар іонів у спермі (рис.1).

На відмінності співвідношень різнойменних пар  $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$  і  $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$  між спермальною плазмою та сперматозоїдами в еякулятах бугаїв дослідних груп вказує вектор зменшення (збільшення) величини числових виразів, який для співвідношень  $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$  спрямований від 1-ї групи до 3-ї (34-30-20:1), для  $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$  – від 3-ї до 1-ї (9-16-26:1). З іншого боку, наявність різних концентрацій  $\text{Na}^+$  і  $\text{K}^+$  у спермальній плазмі щодо  $\text{Ca}^{2+}$  у сперматозоїдах зумовлює їх неоднакові співвідношення у спермі, а саме: спермальна плазма бугаїв 1-ї групи містить на 25 частин (іонів)  $\text{Na}^+$  більше, ніж  $\text{K}^+$  (34-9=25), 2-ї – на 14 (30-16=14), але 3-ї – на 6 менше (20-26=-6).

Важливою ознакою рівноваги вмісту вказаних іонів є те, що при значних різницях співвідношень  $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$  (34-20=14) та  $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$  (9-26=-17) співвідношення  $\text{Na}^+:\text{K}^+$  між тваринами 1-ї і 2-ї груп відрізняються несуттєво. Визначені в еякулятах бугаїв 1-ї, 2-ї і 3-ї дослідних груп числові вирази становлять, відповідно, 3-3-2:1.

Тобто у 1-й та 2-й групах вони однакові (3:1), у 3-й – на одну частину вмісту менші (2:1).

Характер співвідношень між спермальною плазмою і сперматозоїдами для однойменних пар  $\text{K}^+:\text{K}^+$  та  $\text{Na}^+:\text{Na}^+$  подібний до характеру співвідношень для різнойменних пар  $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$ . Зміни (зменшення або збільшення) числових виразів також різні:  $\text{Na}^+:\text{Na}^+$  – спрямовані від 1-ї групи до 3-ї (11-5-2:1),  $\text{K}^+:\text{K}^+$  – від 3-ї до 1-ї (<1->1-3:1). Крім того, для співвідношень  $\text{Na}^+:\text{Na}^+$  та  $\text{K}^+:\text{K}^+$  в еякулятах бугаїв 1-ї і 2-ї груп кількість  $\text{Na}^+$  на 10 і 4 частини (іони) відповідно більша (11 проти <1:1 та 5 проти >1:1), ніж  $\text{K}^+$ . За цих умов співвідношення  $\text{Ca}^{2+}:\text{Ca}^{2+}$  (4-5-5:1) на 1-3 частини вмісту більші, ніж  $\text{Na}^+:\text{K}^+$  (3-3-2:1). Але в еякулятах тварин 3-ї групи даний показник на одну частину вмісту менший (2 проти 3:1). При цьому співвідношення  $\text{Ca}^{2+}:\text{Ca}^{2+}$  (4-5:1) між спермальною плазмою і сперматозоїдами в еякулятах бугаїв 1-ї та 2-ї дослідних груп на 1-2 частини більші, ніж  $\text{Na}^+:\text{K}^+$  (3:1). В еякулятах тварин 3-ї групи різниця між ними на 3 частини менша (5 проти 2:1).

Отже, проведений аналіз дає підставу стверджувати, що в еякулятах бугаїв дослідних груп неоднаково високі концентрації  $\text{Na}^+$  та  $\text{K}^+$  і низькі  $\text{Ca}^{2+}$ , а також різні їх співвідношення формують відповідну рівновагу (гомеостаз) іонів між спермальною плазмою та сперматозоїдами.

Аналіз визначених концентрацій насичених неетерифікованих форм ЖК показав, що для об'єктивної оцінки зв'язків між іонами натрію, калію, кальцію і молекулами ЖК одержані у спермальній плазмі та сперматозоїдах показники доцільно поділити на дві групи. Рівень концентрацій ЖК у 1-й групі високий, у 2-й – низький (табл. 1).

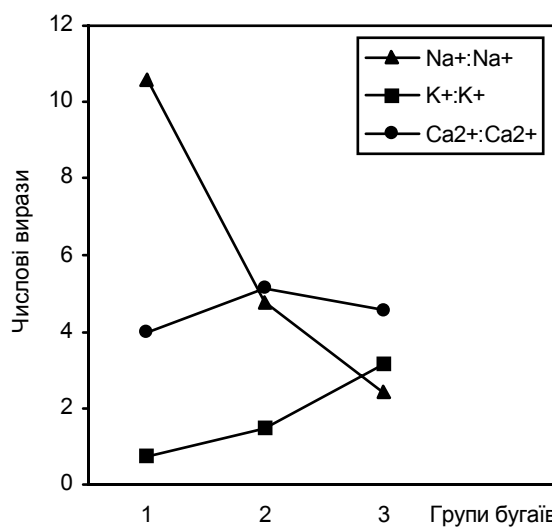
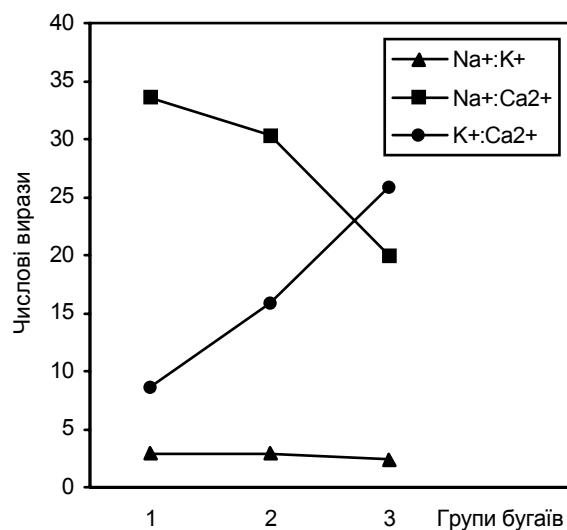


Рис. 1. Співвідношення різно- (а) та однойменних (б) пар іонів між спермальною плазмою і сперматозоїдами.

Таблиця 1 – Концентрації (мг%) і співвідношення (ч. в.) насичених неетерифікованих форм ЖК між спермальною плазмою та сперматозоїдами (М)

Об'єкт	Код ЖК	Рівень концентрацій	Групи бугаїв, концентрації і співвідношення ЖК		
			1	2	3
Плазма	C <sub>16: 18:0</sub>	Високий (>10)	18	13	18
Сперматозоїди	C <sub>14: 16: 18:0</sub>	Високий (>1)	3	2	4
Плазма:сперматозоїди			6:1	6:1	4:1
Плазма	C <sub>16: 18:0</sub>	Високий (>10)	18	13	18
Сперматозоїди	C <sub>12: 15: 20: 22:0</sub>	Низький (<1)	0,4	0,4	0,5
Плазма:сперматозоїди			45:1	32:1	36:1
Плазма	C <sub>12: 14: 15: 20: 22:0</sub>	Низький (<5)	2	2	3
Сперматозоїди	C <sub>12: 15: 20: 22:0</sub>	Низький (<1)	0,4	0,4	0,5
Плазма:сперматозоїди			5:1	5:1	6:1
Плазма	C <sub>12: 14: 15: 20: 22:0</sub>	Низький (<5)	2	2	3
Сперматозоїди	C <sub>14: 16: 18:0</sub>	Високий (>1)	3	2	4
Плазма:сперматозоїди			<1:1	1:1	<1:1

За даною схемою поділу, середні показники концентрацій пальмітинової (C<sub>16:0</sub>) і стеаринової (C<sub>18:0</sub>) ЖК у спермальній плазмі виходять за межу 10 мг% (високий рівень); лауринової (C<sub>12:0</sub>), міристинової (C<sub>14:0</sub>), пентадеканової (C<sub>15:0</sub>), арахінової (C<sub>20:0</sub>) і бегенової (C<sub>22:0</sub>) – не перевищують 5 мг% (низький рівень). У сперматозоїдах концентрації міристинової, пальмітинової і стеаринової ЖК більші за 1 мг% (високий рівень); лауринової, пентадеканової, арахінової і бегенової – менші за 1 мг% (низький рівень). При цьому слід зауважити, що у спермальній плазмі, як виняток, концентрація міристинової ЖК низька (<5 мг%), у сперматозоїдах – висока (>1 мг%).

Аналіз особливостей співвідношень ЖК між спермальною плазмою та сперматозоїдами здійснювали за допомогою можливих комбінацій високого і низького рівнів концентрацій, а саме: високий:високий, високий:низький, низький:низький і низький:високий.

Для варіанта високий:високий рівень концентрацій ЖК їх співвідношення в еякулятах бугаїв 1-ї та 2-ї дослідних груп однакові (6:1), в 3-й – на 2 частини вмісту (33%) менші (4:1). Варіант високий:низький рівень концентрацій характеризують числові вирази, величина яких для тварин 1-ї, 2-ї і 3-ї груп становить 45-32-36:1. Тобто у 1-й і 3-й групах вони, відповідно, на 13 (29 %) і 4 (12 %) частини вмісту більші, ніж у 2-й (32:1). Для варіанта низький:низький рівень концентрацій у 1-й і 2-й групах співвідношення ЖК однакові (5:1),

у 3-й – на одну частину вмісту (20 %) більші (6:1). Для співвідношень низький:високий рівень концентрацій встановлено найменші числові вирази (< 1-1-< 1:1). При цьому в 1-й і 3-й групах вони, відповідно, на 33 (0,67:1) і 25 % (0,75:1) менші, ніж у 2-й (1:1).

**ВИСНОВКИ.** 1. В еякулятах бугаїв з високою концентрацією K<sup>+</sup> між спермальною плазмою та сперматозоїдами встановлено на 33 % (4 проти 6:1) менші показники співвідношень пальмітинової і стеаринової ЖК щодо міристинової, пальмітинової і стеаринової; на 12 % (36 проти 32:1) більші – пальмітинової і стеаринової ЖК щодо лауринової, пентадеканової, арахінової і бегенової; на 20 % (6 проти 5:1) більші – лауринової, міристинової, пентадеканової, арахінової і бегенової щодо лауринової, пентадеканової, арахінової і бегенової (низький:низький рівень), але лауринової, міристинової, пентадеканової, арахінової і бегенової щодо міристинової, пальмітинової і стеаринової – на 7 % (0,75 проти 1:1) менші, ніж у тварин із середньою концентрацією (низький:високий рівень).

2. У групі бугаїв з низькою концентрацією K<sup>+</sup> для співвідношень високий:високий рівень концентрацій наведені показники однакові (6:1), високий:низький – на 29 % (45 проти 32:1) більші, низький:низький – однакові (5:1), низький:високий – на 27 % (0,67 проти 1:1) менші, ніж у тварин із середньою концентрацією.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. ГОСТ 20909.3-75 – ГОСТ 20909.6-75. Сперма быков неразбавленная. Методы испытаний. – Введ. 19.09.75. – М., 1975. – 49 с.

2. Гула Н.М., Маргітч В.М. Значення фосфоліпідів сперми у забезпеченні фертильної спроможності // Укр. біохім. журн. – 1994. – 66, № 1. – С. 3-10.



3. Максим'юк В.М. Вплив ендо- і екзогенних чинників на величину вмісту та числових співвідношень макроелементів у спермі бугаїв // Актуальні проблеми медицини, біології, ветеринарії і сільського господарства. – 1998. – Кн. IV. – С. 215-217.

4. Максим'юк В.М. Іони макроелементів у спермі бугаїв // Науковий вісник національного аграрного університету. Проблеми фізіології і патології відтворення тварин. – 2000. – № 22. – С. 156-161.

5. Максим'юк Г.В., Воробець Д.З., Максим'юк В.М. та ін. Оцінка впливу умов кріоконсервації на гомеостаз  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$  у сперматозоїдах і спермальній плазмі // Клінічна та експериментальна патологія. – 2005. – 4, № 1. – С. 116-120.

6. Рівіс Й.Ф., Данилик Б.Б. Газохроматографічне визначення високомолекулярних неетерифікованих жирних кислот у біологічному матеріалі // Укр. біохім. журн. – 1997. – 69, № 1. – С. 72-76.

7. Рівіс Й.Ф., Скорохід І.В., Данилик Б.Б., Процик Я.М. Одночасне газохроматографічне визначення окремих етерифікованих і неетерифікованих висо-

комолекулярних кислот у біологічному матеріалі // Укр. біохім. журн. – 1997. – 69, № 2. – С. 110-115.

8. Go K.J., Wolf D.P. The role of sterole in sperm capacitation // Adv. Lipid Res. – 1983. – 20. – P. 317-330.

9. Holman R.T., Adams C.E., Nelson R.A. et al. Patients with anorexia nervosa demonstrate deficiencies of selected essential fatty acids, compensatory changes in nonessential fatty acids and decreased fluidity of plasma lipids // J. Nutr. – 1995. – 125. – P. 901-907.

10. Roldan E.R.S., Harrison R.A.P. Diacylglycerol and phosphatidate production and the exocytosis of the sperm acrosome // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1990. – 172. – P. 8-15.

11. Russo C., Olivieri D. Increased membrane ratios of metabolite to precursor fatty acid in essential hypertension // Hypertension. – 1997. – 29. – P. 1058-1063.

12. Zalata A.A., Christophe A.B., Depuydt C.E. et al. The fatty acid composition of phospholipids of spermatozoa from infertile patients // Molecular Human Reproduction. – 1998. – 4, № 2. – P. 111-118.

## СООТНОШЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИЙ $Ca^{2+}$ , $K^+$ , $Na^+$ И ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ НАСЫЩЕННЫХ НЕЭТЕРИФИЦИРОВАННЫХ ФОРМ ЖИРНЫХ КИСЛОТ МЕЖДУ СПЕРМАЛЬНОЙ ПЛАЗМОЙ И СПЕРМАТОЗОИДАМИ

Г.В. Максимюк

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

### Резюме

В эякулятах быков, репродуктивные органы которых выделяют секреты с низкой (16-33 мМ), средней (25-46 мМ) и высокой (32-69 мМ) концентрацией  $K^+$ , определили числовые выражения (коэффициенты), которые характеризуют особенности соотношений концентраций высокомолекулярных насыщенных неэтерифицированных форм жирных кислот между спермальной плазмой и сперматозоидами. Разница между данными показателями в группах с низкой и высокой концентрацией  $K^+$  относительно средней колеблется в пределах  $\pm 0,25-13$  частей их содержания в сперме, что составляет 7-33 %.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: спермальная плазма, сперматозоиды, калий, натрий, кальций, высокомолекулярные жирные кислоты.

## CONCENTRATION RATIO OF $Ca^{2+}$ , $K^+$ , $Na^+$ AND HIGH-MOLECULAR SATURATED NONETHERIFIED FATTY ACIDS BETWEEN SPERM PLASMA AND SPERMATOZOA

H.V. Maksymjuk

LIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY

### Summary

Reproductive organs of bulls release secretion with low (16-33 mM), average (25-46 mM) and high (32-69 mM)  $K^+$  concentration. We have determined numeric values (coefficients) in bulls ejaculates which characterize peculiarities of ratio concentration of high-molecular saturated nonetherified fatty acids between sperm plasma and spermatozoa. The deviation between figures in groups with low and high  $K^+$  concentration in comparison to average equals  $\pm 0,25-13$  parts of their contents in sperm which is 7-33 %.

KEY WORDS: semen plasma, spermatozoa, potassium, sodium, calcium, high-molecular fatty acids.

Отримано 4.07.2007 р.

Адреса для листування: Г.В. Максим'юк, вул. Енергетична, 24/39, Львів, 79026, Україна.

Історія дослідження – 9, № 3, 2007

## ВПЛИВ КАРБОРЕНУ НА ФІБРИНОЛІТИЧНУ АКТИВНІСТЬ ПЛАЗМИ КРОВІ, СЕЧІ ТА ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ

О.І. Набока, А.І. Березнякова

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

*У роботі представлено результати вивчення впливу карборену на фібринолітичну активність плазми крові, сечі та внутрішніх органів. Встановлено, що тривале введення карборену не впливає на фібринолітичну активність плазми крові, сприяє посиленню фібринолітичної активності сечі, печінки та кіркової речовини нирок із зниженням процесів фібринолізу в мозковій речовині нирок та не впливає на показники фібринолітичної активності сечі в сосочку нирок.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** фібринолітична активність, плазма крові, карборен.

**ВСТУП.** Дослідження нових субстанцій і препаратів включають вивчення їх дії не тільки на функціональну активність серцево-судинної, нервової, ендокринної, імунної систем, процеси дихання та травлення. Велике значення має їх вплив на систему гемостазу, тобто процеси тромбіно- та фібриноутворення, фібринолітичну активність [1, 2, 4].

Оскільки нирки є важливим гомеостатичним органом, до функції їх інкреторної діяльності належить забезпечення функціонування і системи гемостазу, в т.ч. фібринолітичної активності. Зміни у діяльності нирок можуть викликати порушення процесів фібринолізу, що відображається на функції організму в цілому [3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 13].

З огляду на вищевикладене, метою роботи стало дослідження впливу карборену на фібринолітичну активність плазми крові, сечі, печінки та нирок (кіркового, мозкового та сосочкового шарів).

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Експерименти проведено на 4 групах тварин (по 10 в кожній). Було дві групи контролю: 1-ша – при визначенні фібринолітичної активності плазми крові та сечі у щурів, 2-га – при вивченні фібринолітичної активності печінки та нирок. Тваринам 3-ї та 4-ї груп вводили карборен в дозі 10,7 мг/кг: вони були використані для вивчення аналогічних показників.

Фібринолітичну активність плазми крові та сечі, а також тканинну фібринолітичну актив-

© О.І. Набока, А.І. Березнякова, 2007.

ність печінки, кіркового, мозкового та сосочкового шарів нирок під впливом карборену визначали за допомогою наборів реактивів фірми "Simko LTD" (Львів). Сумарну ферментативну і неферментативну фібринолітичну активність плазми крові, сечі та внутрішніх органів вивчали за методикою О.Л. Кухарчука [10].

Принцип методу визначення ферментативного і неферментативного фібринолізу в сечі, плазмі крові й тканинах внутрішніх органів полягає в тому, що при інкубації азофібрину із стандартною кількістю плазміногену в присутності активаторів фібринолізу, які містяться в сечі, плазмі крові або тканинах, утворюється плазмін, активність якого оцінюється за ступенем забарвлення (визначення екстинкції розчину на СФ-46 при довжині хвилі 440 нм) розчину в лужному середовищі, внаслідок лізису азофібрину, в присутності епсилон-амінокапронової кислоти (неферментативний фібриноліз) або без неї (сумарна фібринолітична активність). Різниця між ними відображає стан ферментативного фібринолізу [10].

Фібринолітичну активність плазми крові, сечі та внутрішніх органів (печінка, нирки) вивчали за методикою, яка основана на лізисі фібрину гомогенатами органів. Проводили евтаназію тварин під ефірною анестезією шляхом декапітації. Печінку і нирки одразу заморожували у рідкому азоті. Безпосередньо перед аналізом тканини гомогенізували в охолодженому боратному буфері (рН-7,0).

Досліди на тваринах проводили згідно з Міжнародними принципами Європейської кон-

венції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментів та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986).

Дані обробляли методами непараметричної статистики з використанням t-критерію Стьюдента [12].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Експерименти проведено після 7-денного внутрішньо-шлункового введення карборену в дозі 10,7 мг/кг. Аналіз отриманих нами результатів засвідчив, що фібринолітична активність плазми крові після застосування карборену суттєво не змінювалася (табл. 1).

Показники сумарного, неферментативного та ферментативного фібринолізу були близькими до даних контрольної групи тварин.

Щодо впливу карборену на фібринолітичну активність сечі було встановлено, що вона змінювалася більш виразно. Зростання як ферментативного, так і неферментативного

фібринолізу зумовило підвищення сумарної фібринолітичної активності (табл. 2).

Отримані нами результати показали, що після тривалого введення карборену сумарна фібринолітична активність вірогідно підвищувалась (на 52,8 %,  $p < 0,05$ ). Більшою мірою посилення фібринолізу відмічалось за рахунок ферментативного фібринолізу. Його показники зростали на 56,9 % відносно контролю. Неферментативний фібриноліз сечі під впливом карборену зростав на 46,8 %.

Результати досліджень тканинного фібринолізу в печінці та нирках показали, що більш суттєве зростання фібринолітичної активності спостерігалось в тканині печінки (табл. 3).

Під впливом карборену сумарна фібринолітична активність вірогідно ( $p < 0,05$ ) зростала в 1,68 раза. Вказані зміни супроводжувалися аналогічним (в 1,68 раза) підвищенням показників як ферментативного, так і неферментативного фібринолізу.

Таблиця 1 – Вплив багаторазового введення карборену в дозі 10,7 мг/кг на фібринолітичну активність плазми крові у щурів ( $\bar{X} \pm S\bar{x}$ )

Фібринолітична активність ( $E_{440}$ /мг/год)	Контроль	Карборен
Сумарна	0,97±0,06	0,99±0,04
Неферментативна	0,47±0,05	0,51±0,02
Ферментативна	0,49±0,07	0,49±0,03

Примітка. Тут і в наступних таблицях:  $n=10$ ;  $p \geq 0,05$  відносно контролю.

Таблиця 2 – Вплив багаторазового введення карборену в дозі 10,7 мг/кг на фібринолітичну активність сечі у щурів ( $\bar{X} \pm S\bar{x}$ )

Фібринолітична активність ( $E_{440}$ /мг/год)	Контроль	Карборен
Сумарна	0,17±0,01	0,26±0,02
Неферментативна	0,10±0,01	0,14±0,01
Ферментативна	0,8±0,01	0,12±0,08

Таблиця 3 – Вплив багаторазового введення карборену в дозі 10,7 мг/кг на фібринолітичну активність печінки та нирок у щурів ( $\bar{X} \pm S\bar{x}$ )

Фібринолітична активність ( $E_{440}$ /мг/год)	Контроль	Карборен
<i>Печінки</i>		
Сумарна	9,23±0,326	15,79±1,06
Неферментативна	5,24±0,287	9,07±0,67
Ферментативна	3,99±0,358	6,72±0,47
<i>Кіркової речовини нирок</i>		
Сумарна	8,32±0,233	9,71±0,48
Неферментативна	4,20±0,197	5,02±0,28
Ферментативна	4,12±0,111	4,66±0,29
<i>Мозкової речовини нирок</i>		
Сумарна	5,27±0,259	3,23±0,28
Неферментативна	2,53±0,104	1,35±0,07
Ферментативна	2,74±0,19	1,87±0,22
<i>Сосочкового шару нирок</i>		
Сумарна	5,56±0,302	6,46±0,61
Неферментативна	2,90±0,144	3,10±0,41
Ферментативна	2,66±0,246	3,36±0,47

Активність процесів фібринолізу в нирках ми вивчали пошарово – у кірковій, мозковій речовині та сосочку. Було встановлено, що фібринолітична активність в нирках змінювалась неоднозначно. У кірковій речовині нирок сумарна фібринолітична активність після карборену підсилювалась в 1,17 раза порівняно з контрольною групою тварин, що зумовлювалось вірогідним зростанням (в 1,2 раза) неферментативного фібринолізу та підсиленням ферментативного лізису фібрину на 13 %.

У мозковій речовині нирок ми спостерігали протилежний ефект: не збільшення, а пригнічення активності процесів фібринолізу після тривалого введення карборену. Причому вірогідне зниження сумарної фібринолітичної активності в мозковому шарі нирок в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ) було зумовлене зменшенням переважно неферментативного фібринолізу – на 88 % порівняно з контролем. Ферментативна

фібринолітична активність також вірогідно знижувалась – на 45,9 % ( $p < 0,05$ ) відносно контролю. Суттєвих змін фібринолізу в сосочку нирок ми не спостерігали. Незначне перевищення даних сумарної, ферментативної та неферментативної фібринолітичної активності у дослідній групі показників контролю не мало вірогідних значень.

**ВИСНОВКИ.** 1. Тривале введення карборену не впливає на фібринолітичну активність плазми крові.

2. Тривале введення карборену сприяє підсиленню фібринолітичної активності сечі, печінки та кіркової речовини нирок із зниженням процесів фібринолізу в мозковій речовині нирок.

3. Тривале введення карборену не впливає на показники фібринолітичної активності сечі в сосочку нирок.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Аршинов А.Г., Сысоева Е.Д. Исследование системы гемостаза в клинической практике // Врач. – 2000. – № 9. – С. 30-31.
2. Вандер А. Физиология почек: Пер. с англ. – 5-е изд. – С. Пб.: Питер, 2000. – 256 с.
3. Воробьев А.И., Городецкий В.М., Шулушко Е.М. Острая массивная кровопотеря. – М.: Геотар-Мед, 2001. – 380 с.
4. Гоженко А.И. Энергетическое обеспечение основных почечных функций и процессов в норме и при повреждении почек: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – К., 1987. – 45 с.
5. Гоженко А.И. Дисрегуляція як основа патофізіології гомеостазу // Клінічна та експериментальна патологія. – 2004. – 3, № 2. – С. 191-193.
6. Гусева С.А., Дубкова А.Г., Вознюк В.П. Наследственные и приобретенные гематологические синдромы в клинической практике. – К.: Логос, 2000. – С. 117-146.
7. Зосимов А.Н., Голик В.П. Системный анализ в медицине. – Х.: Торнадо, 2000. – 78 с.
8. Клінічні лабораторні методи дослідження / За ред. І.А. Зупанця та В.Ф. Москаленка. – 2-ге вид., переробл. та допов. – Харків: Вид-во НФаУ, 2001. – 177 с.
9. Крыжановский Г.Н. Некоторые общепатологические закономерности и базовые механизмы развития патогенетических процессов // Архив патологии. – 2001. – № 6. – С. 1-49.
10. Магальяс В.М., Міхеев А.О., Роговий Ю.Є. та ін. Сучасні методики експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії: Навч.-метод. посібник. – Чернівці: БДМА, 2001. – 42 с.
11. Роговий Ю.Є. Механізми розвитку тубулоінтерстиційних пошкоджень при патології нирок (експериментальне дослідження): Автореф. дис.... д-ра мед. наук: 14.03.04. – Одеса, 2000. – 36 с.
12. Сернов Л.Н., Гацура В.В. Статистические методы оценки достоверности результатов фармакологических исследований // Элементы экспериментальной фармакологии. – М., 2000. – С. 308-315.
13. Blatchford O., Murray W.R., Blatchford M. A risk score to predict need for treatment for upper-gastrointestinal haemorrhage // Lancet. – 2000. – 356, № 9238. – P. 1318-1328.

# ВЛИЯНИЕ КАРБОРЕНА НА ФИБРИНОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПЛАЗМЫ КРОВИ, МОЧИ И ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ

О.И. Набока, А.И. Березнякова  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

## Резюме

В работе представлены результаты изучения влияния карборена на фибринолитическую активность плазмы крови, мочи и внутренних органов. Установлено, что продолжительное введение карборена не влияет на фибринолитическую активность плазмы крови, способствует усилению фибринолитической активности мочи, печени и коркового вещества почек со снижением процессов фибринолиза в мозговом веществе почек и не влияет на показатели фибринолитической активности мочи в сосочке почек.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: фибринолитическая активность, плазма крови, карборен.

# INFLUENCE OF KARBOREN ON FIBRINOLYTIC ACTIVITY OF BLOOD PLASMA, URINE AND INTERNAL ORGANS

O.I. Naboka, A.I. Bereznaykova  
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

## Summary

The results of the study of karboren influence on fibrinolytic activity of blood plasma, urine and internal organs are presented in the work. It has been established that prolonged introduction of karboren does not influence upon fibrinolytic activity of blood plasma, promotes the reinforcement of fibrinolytic activity of urine, liver and grey matter of kidneys with reduction of fibrinolysis processes in soft matter of kidneys and does not influence upon parameters of fibrinolytic activity of the urine in kidney teat.

KEY WORDS: fibrinolytic activity, blood plasma, karboren.

Отримано 16.05.2007 р.

Адреса для листування: А.І. Березнякова, Національний фармацевтичний університет, вул. Мельникова, 12 (кафедра патологічної фізіології), Харків, 61002, Україна.

Для отримання оперативної інформації звертайтеся  
до нашої сторінки в Інтернеті:  
[www.tdmu.edu.te.ua](http://www.tdmu.edu.te.ua)

## ОСОБЛИВОСТІ ПРООКСИДАНТНОЇ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ РОТОВОЇ РІДИНИ У ДІТЕЙ, ЯКІ МЕШКАЮТЬ НА НІТРАТНОЗАБРУДНЕНИХ ТЕРИТОРІЯХ

О.І. Годованець

БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ЧЕРНІВЦІ

*Проведено аналіз показників прооксидантної системи та системи антиоксидантного захисту ротової рідини в дітей з хронічним катаральним гінгівітом середнього ступеня тяжкості, які мешкають на нітратнозабруднених територіях. Встановлено активізацію процесів пероксидації ліпідів на фоні підвищеного рівня нітрит-іона у ротовій рідині та недостатність антипероксидної і детоксикаційної функцій глутатіонової системи, основних ферментів антиоксидантного захисту – супероксиддисмутази і каталази.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** діти, гінгівіт, прооксидантна система, система антиоксидантного захисту, нітрати.

**ВСТУП.** Останнім часом відзначається неухильне зростання антропогенного забруднення довкілля. У багатьох країнах світу нітратно-нітритний пресинг реально загрожує здоров'ю населення. Нітрати, які надходять у надмірній кількості з водою та продуктами харчування, значно змінюють фізіологічний перебіг вільнорадикальних процесів, оскільки володіють вираженими оксидантними властивостями. Зміна стану прооксидантно-антиоксидантної системи ротової порожнини відіграє важливу роль у розвитку патології пародонта.

Потрапивши в організм аліментарним шляхом у вигляді нітрат-іона ( $\text{NO}_3^-$ ), атом азоту перебуває в максимально окисненому стані (валентність азоту +5), тому спочатку він відновлюється до нітрит-іона ( $\text{NO}_2^-$ ), валентність азоту в якому +4, а згодом до оксиду азоту ( $\text{NO}$ ) з валентністю +2. Дані механізми відновлення забезпечуються нітрат- та нітритредуктазами мікроорганізмів порожнин організму. При цьому більша частина редуктазних процесів відбувається в ротовій порожнині. У слині утворюється 80 % всієї добової дози нітритів. Тому можна передбачити розвиток певних змін тканин порожнини рота, оскільки вони перші піддаються впливу ксенобіотика. Окрім мікрофлори в організмі, нітрат- і нітритредуктазними властивостями володіють дезоксиформи гемоглобіну (Hb), міоглобіну (Mb), цитохромоксидаза, цитохром P-450, ксантиноксидаза тощо.

© О.І. Годованець, 2007.

Перебіг даних процесів відновлення нітратів можна пояснити більш позитивним окисно-відновним потенціалом пари  $\text{NO}_2^-/\text{NO}$  порівняно з відповідними потенціалами поширених в організмі електронно-транспортних білків: MetHb/Hb, MetMb/Mb, цитохрому a ( $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ ), цитохрому P-450 ( $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ ) тощо [7].

Кінцевий продукт відновлення нітратів в організмі людини – оксид азоту – універсальний регулятор метаболізму, який здатний зворотньо окиснюватись до  $\text{NO}_3^-$  та еліминуватись нирками. Ще одним джерелом утворення оксиду азоту в організмі є NO-синтезна компонента, яка забезпечує фізіологічні концентрації останнього за умов нормальної оксигенації [7]. Таким чином, нітрати, які надходять у надлишковій кількості, здатні включатись в нормальний фізіологічний цикл оксиду азоту в організмі людини, викликаючи зміни концентрацій основних його метаболітів.

В організмі оксид азоту представлений у вигляді трьох взаємозв'язаних форм: нейтрального вільного радикала ( $\text{NO}^\cdot$ ), нітросонієвого катіона ( $\text{NO}^+$ ), нітросільного аніона ( $\text{NO}^-$ ). Однак тільки  $\text{NO}^\cdot$ , завдяки відсутності заряду та наявності неспареного електрона, є високоактивним метаболітом, дію двох інших до кінця не з'ясовано. Прооксидантна дія  $\text{NO}^\cdot$  зумовлена здатністю оксиду азоту взаємодіяти із супероксид-аніоном, внаслідок чого утворюється пероксинітрит ( $\text{ONOO}^-$ ). Останній за наявності надлишку протонів утворює пероксинітритну

кислоту (ONOOH), яка може розкладатись з утворенням  $\text{NO}_3^-$  або двох радикалів – гідроксильного ( $\text{OH}^\cdot$ ) та діоксиду азоту ( $\text{NO}_2^\cdot$ ).  $\text{NO}_2^\cdot$  при взаємодії з  $\text{NO}^\cdot$  утворює в кінцевому результаті  $\text{NO}_2^-$ . При взаємодії  $\text{OH}^\cdot$  з  $\text{ONOO}^-$  відтворюється  $\text{NO}^\cdot$  [4]. Отже, у процесі метаболізму нітратів в організмі утворюється значна кількість вільних радикалів, що призводить до активації вільнорадикальних реакцій. Крім того,  $\text{NO}$  здатний взаємодіяти з білками та низькомолекулярними сполуками, які містять в активному центрі іони металів зі змінною валентністю [7]. Внаслідок цього відбувається інактивація багатьох ферментів, насамперед залізовмісних, що стає причиною розвитку гемічної та первинної тканинної гіпоксії, недостатності основних ферментів антиоксидантного захисту.

Тому метою нашого дослідження було вивчити стан прооксидантної системи та системи антиоксидантного захисту ротової порожнини дітей з клінічними проявами хронічного катарального гінгівіту, які мешкають на нітратнозабруднених територіях, виявивши при цьому вікові особливості даних систем, враховуючи тривалість надходження ксенобіотика.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Проведено клінічне обстеження 30 дітей віком 6-7 років (IA група) та 30 дітей віком 12 років (IIA група) з діагнозом – хронічний катаральний гінгівіт середнього ступеня тяжкості, які мешкають на нітратнозабруднених територіях, анамнез яких не обтяжений соматичною патологією. До груп порівняння ввійшли 30 здорових дітей віком 6-7 років (IB група) та 30 здорових дітей віком 12 років (IIB група), які проживають в умовах централізованого водопостачання. Діагноз гінгівіту встановлювали на основі даних суб'єктивного та об'єктивного обстеження. Діти скаржилися на кровоточивість та свербіж ясен. Клінічно виявлялися зубний наліт та зубний камінь, гіперемія, набряк маргінально-альвеолярної частини ясен, позитивна проба Шиллера-Писарева, кровоточивість під час зондування.

Для параклінічного дослідження було вбрано ротову рідину, оскільки методи відзначаються неінвазивністю та доступністю одержання матеріалу. Збір ротової рідини проводили зранку після дворазового полоскання рота дистильованою водою. Стан прооксидантної системи визначали за рівнем малонового діальдегіду (МДА) за методом Н.Д. Стальної [5] та рівнем дієнових кон'югат, які визначали за методом І.Ф. Мецишена [6]. Для вивчення стану системи антиоксидантного захисту визначали активність каталази за методом М.А. Королюк [5]; активність супер-

оксиддисмутази (СОД) за методом С. Чеварі [5]; вміст HS-груп за допомогою реактиву Елмана [6]; рівень відновленого глутатіону за методом О.В. Травіної [8]; активність глутатіон-S-трансферази (Г-ST) за методом Н.В. Habig et al. [12]; активність глутатіонредуктази (ГР) за методом Pinto R.E., Bartley V. [9]; активність глутатіонпероксидази (ГП) за методом І.В. Геруша, І.Ф. Мецишена [1]. Для підтвердження хронічної дії нітратів на дитячий організм визначали рівень нітрит-іона в ротовій рідині спектрофотометричним методом [11]. Статистичну обробку даних проводили методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента за допомогою комп'ютерної програми "STATGRAPHICS" (2001).

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Аналіз отриманих даних показав, що в ротовій рідині дітей, які мешкають на нітратнозабруднених територіях, рівень нітрит-іона був вищим в 3,2 раза у дітей 6-7 років та в 3,3 раза у дітей 12 років (рис. 1). Підвищення рівня нітрит-іона – основного метаболіту нітратів в організмі – підтвердило патогенетичну дію нітратів, які надходять у надмірній кількості з питною водою.

Встановлено, що у дітей на фоні постійного надходження нітрат-іона суттєво активізувалось переокиснення ліпідів та знизився антиоксидантний захист ротової порожнини. Отримані результати представлено в таблиці 1.

Дані таблиці показали, що рівень проміжного продукту окиснення ліпідів (ДК) у ротовій рідині дітей 6-7 років з досліджуваного регіону склав  $(1,0 \pm 0,01)$  нмоль/мг, що на 42,9 % вище показників групи контролю ( $p < 0,05$ ). У 12-річних дітей рівень ДК сягнув  $(1,1 \pm 0,01)$  нмоль/мг, що на 57,1 % вище, ніж у дітей групи порівняння, і достовірно вище, ніж у дітей IA групи, що вказує на посилення пероксидації зі збільшенням тривалості надходження ксенобіотика.

Рівень МДА – одного з кінцевих продуктів пероксидації ліпідів – в обох дослідних групах збільшувався, відповідно, на 69,2 % у дітей 6-7 років та на 82,1 % у дітей 12 років ( $p < 0,05$ ). Отримані дані узгоджуються з даними літератури про те, що нітрати в організмі виступають як оксиданти і призводять до зростання рівня вільних радикалів у крові [2].

Стан антиоксидантної системи захисту ротової порожнини у дітей з клінічними проявами гінгівіту, які мешкають на нітратнозабруднених територіях, також зазнавав суттєвих змін. За даними таблиці, активність СОД в IA та IIA групах була на 44,4 % нижчою показників груп порівняння ( $p < 0,05$ ). Активність каталази в ротовій рідині дітей 6-7 років з досліджуваного регіону зменшувалась на 71,3 %, у 12-річних –

Таблиця 1 – Показники прооксидантної системи та системи антиоксидантного захисту ротової рідини в дітей (X±x)

Показники	Діти 6-7 років		Діти 12 років	
	IA група (x=30)	IB група (x=30)	IIA група (x=30)	IIБ група (x=30)
МДА, мкмоль/мг білка	262,9±11,16*	159,9±8,63	258,8±17,98**	141,73±9,4
ДК, нмоль/мг білка	1,0±0,01*	0,7±0,03	1,1±0,01**, <sup>^</sup>	0,7±0,02
Каталаза, мкмоль/хв·мг білка	2,3±0,2*	8,0±0,16	3,0±0,26**, <sup>^</sup>	8,7±0,41
СОД, од/мг білка	0,5±0,02*	0,9±0,04	0,5±0,03**	0,9±0,05
HS-групи, пмоль/мл	66,5±8,41*	171,8±2,26	37,3±4,22**, <sup>^</sup>	155,6±7,71
Г-SH, пмоль/мл	31,9±5,89*	146,0±8,54	19,9±3,17**	135,9±8,83
Глутатіон-S-трансфераза, нмоль/хв·мг білка	13,9±2,2*	87,7±7,52	12,4±0,87**	84,7±5,54
Глутатіонпероксидаза, нмоль/хв·мг білка	1292,2±106,59*	590,8±71,76	1307,6±108,82**	803,9±85,58
Глутатіонредуктаза, нмоль/хв·мг білка	12,0±0,73*	22,0±1,11	10,7±0,71**	21,0±1,01

Примітка. \* – вірогідна відмінність показників в IA та IB групах (p<0,05); \*\* – вірогідна відмінність показників в IIA та IIБ групах (p<0,05); ^ – вірогідна відмінність показників в IA та IIA групах (p<0,05).

на 65,5 % порівняно з показниками груп контролю (p<0,05). Інактивіацію даних ферментів можна пояснити впливом нітрит-іона на метали зі змінною валентністю, які знаходяться в активних центрах ензимів. Окиснюючи їх, нітрати унеможливають участь останніх в окисно-відновних реакціях [3].

Система глутатіону та глутатіонзалежних ферментів забезпечує антипероксидний захист в організмі та процеси біотрансформації ксенобіотиків. Крім того, основний її компонент – відновлений глутатіон – бере активну участь у метаболізмі нітратів [7, 10, 13]. Тому цікавими виявились результати вивчення показників даної системи. Рівень HS-груп у ротовій рідині дітей 6-7 років, які мешкають на нітратнозабруднених територіях, склав (66,5±8,41) пмоль/мл, що в 2,6 раза нижче показників групи порівняння – (171,8±2,26) пмоль/мл (p<0,05). У 12-річних даних показник становив (37,3±4,22) пмоль/мл, що в 4,2 раза менше, ніж у дітей контрольної групи – (155,6±7,71) пмоль/мл (p<0,05). Встановлено достовірну різницю між показниками рівня HS-груп в обох групах спостереження. Зниження вмісту HS-груп з віком можна пояснити витраченням даного метаболіту в процесах обміну нітратів в організмі. Середнє значення рівня Г-SH у дітей віком 6-7 років основної групи склало (31,9±5,89), у 12-річних – (19,9±3,17) пмоль/мл, що, відповідно, в 4,6 та 6,8 раза менше показників груп порівняння. Різде зниження рівня відновленого глутатіону як одного з основних донорів HS-груп в організмі закономірне.

Активність ГП у ротовій рідині дітей, хворих на хронічний катаральний гінгівіт, які мешкають на нітратнозабруднених територіях, сягнула (1292,2±106,59) у віці 6-7 років та (1307,6±

108,82) нмоль/хв·мг білка у віці 12 років проти (590,8±71,76) та (803,9±85,58) нмоль/хв·мг білка в групах порівняння (p<0,05). Активність ГР у дітей груп спостереження знизилась, відповідно до віку, на 54,5 та 51 % проти показників груп порівняння (p<0,05). Отже, підвищення активності ГП – захисна реакція організму на накопичення гідроперекисів при надмірному надходженні нітратів в організм дитини. Інактивіація ГР, можливо, пов'язана з недостатністю НАДФН за умов гемічної та тканинної гіпоксії і призводить до зниження регенерації відновленого глутатіону. Такий стан антипероксидної компоненти глутатіонової системи можна охарактеризувати як розбалансований та недостатній.

Активність Г-ST у ротовій рідині дітей обох груп спостереження різко знижувалась, що свідчило про участь даного ферменту в процесах біотрансформації нітратів. Зокрема, у дітей 6-7 років вона зменшувалась в 6,3 раза, а у 12-річних – в 6,8 раза порівняно з дітьми груп контролю. Інактивіація Г-ST вказувала на ви-

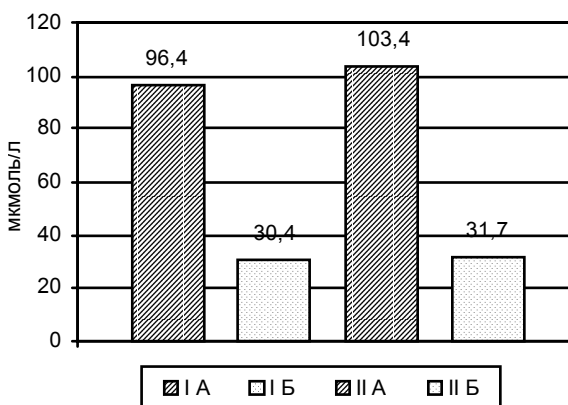


Рис. 1. Рівень нітрит-іона в ротовій рідині дітей.



снаження детоксикаційної ланки глутатіонової системи, що сприяло накопиченню ксенобіотика в організмі та посиленню негативної дії нітратів.

Таким чином, у дітей 6-7 та 12 років, які мешкають на нітратнозабруднених територіях та мають клінічні ознаки хронічного катарального гінгівіту, виявлено підвищений рівень нітрит-іона у ротовій рідині. Постійне вживання води з підвищеним рівнем нітратів призводить до розвитку хронічного хімічного стресу, що запускає компенсаторно-адаптаційні та детоксикаційні механізми захисту в організмі дитини, які з віком посилюються.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Геруш І.В., Мещишен І.Ф. Стан глутатіонової системи крові за умов експериментального виразкового ураження гастродуоденальної зони та дії настойки ехінацеї пурпурової // Вісн. проблем біол. і мед. – 1998. – № 7. – С. 10-15.
2. Горішна О.В. Профілактика та реабілітація захворювань у дітей, які проживають на нітратнозабруднених територіях // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2003. – № 1. – С. 65-66.
3. Горішна О.В., Цебржинський О.І., Горішний Б.М. Вплив хронічної дії нітратів на прооксидантно-антиоксидантну систему печінки білих щурів залежно від віку // Експерим. і клін. мед. – 2001. – № 1. – С. 50-51.
4. Кургалюк Н.М., Коцюруба А.В., Сагач В.Ф. Модифікація продукції оксиду азоту за умов гострої гіпоксії під впливом екзогенних інтермедіатів циклу Кребса // Фізіол. журн. – 2005. – **51**, № 4. – С. 20-28.
5. Магальяс В.М., Міхеев А.О., Роговий Ю.Є. та ін. Сучасні методи експериментальних та клінічних досліджень Центральної науково-дослідної лабораторії БДМА: Навчально-методичний посібник. – Чернівці: БДМА, 2001. – 42 с.
6. Мещишен І.Ф., Григор'єва Н.П. Метод кількісного визначення HS-груп у крові // Бук. мед.

ВІСНОВКИ. 1. Хронічне надходження нітратів в організм дитини призводить до активації процесів окиснення ліпідів та недостатності антиоксидантного захисту ротової порожнини.

2. З віком у дітей виявляється тенденція до посилення процесів пероксидації на фоні зниження активності основних ферментів антиоксидантної системи захисту та рівня відновленого глутатіону, що зумовлює певні особливості перебігу хронічного катарального гінгівіту в дітей за умов хронічного нітратного навантаження.

вісник. – 2002. – **6**, № 6. – С. 109-192.

7. Реутов В.П., Гоженко А.И., Насибуллин Б.А. и др. Анализ циклических процессов с участием оксида азота в организмах и молекулярного азота в биосфере с позиций голографического принципа и принципа цикличности. – Одесса, 2003. – 66 с.

8. Травина О.В. Руководство по биохимическим исследованиям. – М.: Медгиз, 1955. – 320 с.

9. Beutler E. Effect of flavin compounds on glutathione reductase activity: in vitro and in vivo studies // J. Clin. Invest. – 1969. – **48**, № 11. – P. 1957-1965.

10. Cardillo C., Kilcoyne C.M., Quyum A.A. Effects of S-nitrosoglutathione in the human forearm circulation // Circulation. – 1998. – **97**, № 9. – P. 851-856.

11. Green L.C., Wanger D.A., Gvolowski T.J. et al. Analysis of nitrate and N-15nitrate in biological fluids // Ann. Biochem. – 1982. – **126**, № 1. – P. 131-138.

12. Habig H.W., Pabs M.J., Jacoby W.B. Glutathione-S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation // J. Biol. Chem. – 1974. – **249**, № 22. – P. 7130-7139.

13. Spencer N., Zeng H., Patel R., Hogg N. Reaction of S-nitrosoglutathione with the heme group of deoxyhemoglobin // J. Biol. Chem. – 2000. – **275**, № 47. – P. 36562-36567.

## ОСОБЕННОСТИ ПРООКСИДАНТНОЙ И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ У ДЕТЕЙ, КОТОРЫЕ ПРОЖИВАЮТ НА НИТРАТНОЗАГРЯЗНЕННЫХ ТЕРРИТОРИЯХ

О.И. Годованец

БУКОВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ЧЕРНОВЦЫ

#### Резюме

Проведен анализ показателей прооксидантной системы и системы антиоксидантной защиты ротовой жидкости в детей с хроническим катаральным гингивитом средней степени тяжести, которые проживают на

нитратнозагрязненных территориях. Установлено активизацию процессов пероксидации липидов на фоне повышенного уровня нитрит-иона в ротовой жидкости, недостаточность антипероксидной и детоксикационной функций глутатионовой системы, основных ферментов антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы и каталазы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **дети, гингивит, прооксидантная система, система антиоксидантной защиты, нитраты.**

## **PECULIARITIES OF PROOXIDANT AND ANTIOXIDANT SYSTEMS OF THE ORAL FLUID IN CHILDREN WHO LIVE ON TERRITORIES CONTAMINATED WITH NITRATES**

**O.I. Hodovanets**

*BUCOVYNIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY, CHERNIVTSI*

### **Summary**

*The author has carried out an analysis of prooxidant system and system of antioxidant protection of the oral cavity in children with chronic catarrhal gingivitis of a medium degree of severity, living in areas contaminated with nitrates. An activation of the processes of lipid peroxidation against a background of an elevated level of nitrite ions in the oral cavity and the insufficiency of the antiperoxide and detoxicating function of the glutathione system, the basic enzymes of antioxidant protection – superoxide dismutase and catalase has been established.*

KEY WORDS: **children, gingivitis, prooxidant system, antioxidant protection system, nitrates.**

*Отримано 20.08.2007 р.*

**Адреса для листування:** *О.І. Годованець, Буковинський державний медичний університет, Чернівці, Україна.*

**Для отримання оперативної інформації звертайтеся до нашої сторінки в Інтернеті:  
[www.tdmu.edu.te.ua](http://www.tdmu.edu.te.ua)**

## ЗАСТОСУВАННЯ АНТИОКСИДАНТІВ ТА ЕНТЕРОСОРБЕНТІВ В УМОВАХ ХІМІЧНО-РАДІАЦІЙНОГО УРАЖЕННЯ ТВАРИН

П.Г. Лихацький, Л.С. Фіра, І.П. Мосейчук

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

У статті наведено результати досліджень застосування антиоксидантів та ентеросорбентів в умовах змодельованого радіаційно-хімічного ураження. Встановлено, що потрапляння в організм тварин солей Cd та Co на тлі радіаційного ураження викликає активацію процесів ПОЛ, проміжні та кінцеві продукти яких призводять до деградації ліпідних та білкових компонентів мембран. Це супроводжується зміною проникності останніх. Для корекції виявлених порушень використано відомий антиоксидант тіотриазолін та ентеросорбент фібросил.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** радіаційно-хімічне ураження, перекисне окиснення ліпідів, ТБК-реагуючі продукти, редокс-індекс, еритроцитарний індекс інтоксикації, гепатоцити, фібросил, тіотриазолін.

ВСТУП. Забруднення довкілля хімічними ксенобіотиками та радіонуклідами може призвести до техногенної катастрофи, яка негативно впливатиме на здоров'я. Наслідки її необхідно ліквідувати. Таким чином, значної актуальності набувають методи дослідження нових лікарських засобів, які знижують активність окиснювальних процесів в ураженому організмі та активують захисно-компенсаторні сили. Це дозволяє організму легше вийти зі стану окиснювального стресу [1, 11, 13].

Надходження в організм надлишкових концентрацій солей важких металів та металів зі змінною валентністю викликає зростання вмісту активних форм кисню, посилення процесів перекисного окиснення ліпідів, пошкодження різних типів біомакромолекул [6, 9]. У житті нерідко зустрічається поєднаний вплив декількох токсичних чинників на організм людини. Такий вплив зумовлює накопичення в організмі токсичних продуктів як екзо-, так і ендогенного походження, які чинять деструктивний вплив на клітинні мембрани. Останнє призводить до виходу внутрішньоклітинних компонентів у кров, що негативно впливає на процеси метаболізму в ураженому організмі [2].

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Досліди проведено на білих безпородних щурах-самцях масою 150-170 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію [10].

© П.Г. Лихацький, Л.С. Фіра, І.П. Мосейчук, 2007.

Моделлю токсичного ураження тварин слугувала інтоксикація солями важких металів (хлоридами кадмію та кобальту) на тлі радіаційного опромінення. Хлориди кадмію та кобальту щури отримували триразово (через день) інтрагастрально за допомогою зонда у вигляді водного розчину в дозі 3,4 (для CdCl<sub>2</sub>) та 2,4 мг/кг (CoCl<sub>2</sub>), що становить 1/25 від ЛД<sub>50</sub> для відповідних солей [6, 8]. Тварин піддавали одноразовому опроміненню за допомогою рентгенівського апарату РУМ-17. Поглинута доза становила 1 Гр, контролювали її дозиметром.

Евтаназію проводили з використанням тіопенталу натрію на 7-му, 14-ту та 21-шу доби після опромінення та введення солей важких металів. Об'єктом дослідження слугували гомогенат печінки [5], цільна кров та сироватка крові.

Усіх піддослідних тварин бул поділено на такі групи: 1-ша – контроль (здорові щури); 2-га – тварини, отруєні солями CdCl<sub>2</sub> та CoCl<sub>2</sub> на тлі радіаційного опромінення (уражені); 3-тя – уражені тварини, яким щоденно вводили фібросил; 4-та – уражені тварини, яким протягом експерименту вводили тіотриазолін.

Тіотриазолін вводили внутрішньом'язово щоденно у вигляді водного розчину в дозі 20 мг/кг протягом всього експерименту [3, 4]. Фібросил тварини отримували щоденно внутрішньошлунково у вигляді крохмальної суспензії в дозі 1 г/кг маси тіла [14].

Вміст ТБК-реагуючих продуктів визначали в реакції з тіобарбітуровою кислотою [12], активність каталази [КФ 1.11.1.6] досліджували фотоелектроколориметричним методом за інтенсивністю забарвлення комплексу, який утворюється при взаємодії пероксиду водню з молібдатом амонію [7], вміст відновленого та окисненого глутатіону – за методом G.L. Ellman [15]. Про ступінь ушкодження еритроцитарної мембрани судили за вмістом Ell [13]. Проникність плазматичних мембран гепатоцитів вивчали за активністю АлАТ [КФ 2.6.1.1] та АсАТ [КФ 2.6.1.2] – в реакції з 2,4-динітрофенілгідразином [10].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Вивчено вміст ТБК-реагуючих продуктів в організмі тварин за умов рентгено-хімічної інтоксикації після введення коригувальних середників. Найефективніший вплив на вміст ТБК-реагуючих продуктів у сироватці крові (табл. 1) проявив тіотриазолін, який протягом експерименту достовірно його зменшив: на 7-му добу – на 33 % нижче рівня уражених щурів, на 14-ту – на 41 %. Аналогічну тенденцію до зниження вмісту відмічено у тварин, які протягом експерименту отримували фібросил. Достовірне зменшення цього показника ( $p < 0,05$ ) в сироватці крові спостерігалось на 7-му добу дослідження, що в 1,5 раза нижче від рівня уражених щурів.

У печінці уражених тварин (див. табл. 1) використані нами коригувальні чинники проявили позитивний вплив на вміст ТБК-реагуючих продуктів.

Токсичні продукти, які утворились в результаті активації процесів ПОЛ та накопичення ендogenous токсинів, утворених при дії АФК, можуть викликати зміну проникності клітинних мембран. Нами досліджено проникність еритроцитарних та плазматичних мембран гепатоцитів після введення в організм уражених тварин коригувальних чинників (табл. 2).

Після введення в організм уражених тварин фібросилу спостерігався найменший відсоток проникнення еритроцитарної мембрани. Достовірні зміни ( $p < 0,05$ ) відмічено на 14-ту добу дослідження. Ell знизився, порівняно з ураженими (144 %) щурами, до 115 %. На 14-ту добу після введення в організм тварин тіотриазоліну Ell становив ( $73,83 \pm 1,40$ ) %, тоді як в уражених – ( $81,67 \pm 3,32$ ) %.

Про цитоліз клітин печінки ми судили за активністю амінотрансфераз, зокрема АлАТ та АсАТ. Відомо, що ці ферменти є мембранозалежними. АлАТ локалізується в основному в печінці, тобто є органоспецифічним ензимом. Після ураження тварин солями Cd та Co на тлі радіаційного опромінення відмічено значне зростання активності АлАТ в сироватці крові (табл. 3).

Після введення в організм уражених тварин фібросилу спостерігалась тенденція до

Таблиця 1 – Вміст ТБК-реагуючих продуктів у сироватці крові тварин, уражених солями Cd, Co та радіаційним опроміненням після введення коригувальних чинників, мкмоль/л ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Група тварин	Сироватка крові			Печінка		
	Строк дослідження, доба					
	7-ма	14-та	21-ша	7-ма	14-та	21-ша
Контрольні	8,62±0,53			46,00±4,00		
Уражені	19,48±1,60 $p < 0,05$	14,15±0,82 $p < 0,05$	17,37±1,16 $p < 0,05$	148,00±12,90 $p < 0,05$	262,00±7,10 $p < 0,05$	98,00±4,00 $p < 0,05$
Фібросил	13,02±0,66 $p_1 < 0,05$	13,62±0,40 $p_1 > 0,05$	10,64±0,23 $p_1 < 0,05$	91,96±1,35 $p_1 < 0,05$	162,33±5,67 $p_1 < 0,05$	53,33±2,66 $p_1 < 0,05$
Тіотриазолін	11,60±0,38 $p_1 < 0,05$	10,63±0,41 $p_1 < 0,05$	9,73±0,15 $p_1 < 0,05$	86,37±2,04 $p_1 < 0,05$	145,03±5,49 $p_1 < 0,05$	43,17±1,77 $p_1 < 0,05$

Примітка. Тут і в наступних таблицях:  $p$  – достовірні зміни між контрольними та ураженими тваринами;  $p_1$  – достовірні зміни між ураженими щурами та тваринами, які отримували коригувальні чинники.

Таблиця 2 – Еритроцитарний індекс інтоксикації у крові тварин, уражених Cd, Co та радіаційним опроміненням після введення коригувальних чинників, % ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Група тварин	Строк дослідження, доба		
	7-ма	14-та	21-ша
Контрольні	56,50±1,76		
Уражені	66,88±6,18 $p > 0,05$	81,67±3,32 $p < 0,05$	74,56±1,28 $p < 0,05$
Фібросил	60,41±0,73 $p_1 > 0,05$	65,25±1,19 $p_1 < 0,05$	63,16±0,91 $p_1 < 0,05$
Тіотриазолін	63,25±0,86 $p_1 > 0,05$	73,83±1,40 $p_1 < 0,05$	67,00±0,78 $p_1 < 0,05$

зниження активності АлАТ в сироватці крові протягом всього експерименту. Достовірні ( $p < 0,05$ ) зміни відмічено у більш пізні строки експерименту. Найнижчу активність АлАТ, порівняно з ураженими щурами, зафіксовано на 21-шу добу дослідження. Застосування тіотриазоліну призводило до зниження активності АлАТ в сироватці крові уражених тварин ( $p < 0,05$ ) у всі досліджувані терміни. Так, на 14-ту добу після ураження активність ензиму була майже на рівні контрольних тварин.

Паралельно з активністю АлАТ нами вивчена активність АсАТ. З таблиці 3 видно, що на активність ферменту в сироватці крові позитивно вплинули тіотриазолін та фібросил. Введення фібросилу призвело до достовірного зниження ( $p < 0,05$ ) активності цього ферменту на 14-ту добу дослідження порівняно з ураженими щурами. Більш позитивний вплив проявив тіотриазолін – після його введення в уражений організм активність досліджуваного ферменту в ці терміни перебувала на рівні контрольних тварин.

Результати дослідження активності АлАТ та АсАТ у печінці уражених тварин наведено в таблиці 4. У печінці уражених щурів на активність АлАТ ефективно вплинув тіотриазолін. Достовірні зміни спостерігалися на 14-ту та 21-шу доби дослідження після його застосування.

При вивченні активності АсАТ (див. табл. 4) в печінці уражених тварин після введення

коригувальних чинників відмічалась тенденція до нормалізації цього показника. Жоден з коригувальних середників достовірного зниження активності ферменту не викликав протягом всього експерименту. Очевидно, це пояснюється локалізацією ферменту, який значно більше зосереджений у міокарді, ніж у гепатоцитах, а об'єктом наших досліджень була саме печінка.

Фібросил викликав достовірні зміни активності каталази (табл. 5). Введення його в організм призвело до підвищення активності даного ферменту в сироватці крові в 1,6 раза відносно тварин контрольної групи, в яких вона в ці терміни була досить низькою. Найефективнішим для цього показника виявився тіотриазолін. Достовірне ( $p < 0,05$ ) підвищення активності каталази спостерігалось на 14-ту та 21-шу доби дослідження і становило ( $9,96 \pm 0,38$ ) та ( $13,48 \pm 0,42$ ) мкат/л, що в останньому випадку перевищувало норму на 28 %.

Нами були встановлені зміни вмісту відновленого глутатіону в сироватці крові після введення ураженим тваринам фібросилу та тіотриазоліну (див. табл. 5). Протягом всього експерименту вміст відновленого глутатіону в сироватці крові зменшувався після застосування тіотриазоліну порівняно з отруєними щурами. Це зниження виявилось достовірним на 7-му, 14-ту та 21-шу доби дослідження ( $p < 0,05$ ). Фібросил викликав достовірні зміни

Таблиця 3 – Активність АлАТ та АсАТ в сироватці крові тварин, уражених Cd, Co та радіаційним опроміненням після введення коригувальних чинників, мкмоль/л·год ( $M \pm m$ ; n=6)

Група тварин	АлАТ			АсАТ		
	Строк дослідження, доба					
	7-ма	14-та	21-ша	7-ма	14-та	21-ша
Контрольні	2,57±0,20			1,59±0,14		
Уражені	4,41±0,11 $p < 0,05$	4,09±0,14 $p < 0,05$	3,89±0,16 $p < 0,05$	2,06±0,13 $p > 0,05$	2,23±0,17 $p < 0,05$	3,33±0,09 $p < 0,05$
Фібросил	3,00±0,06 $p_1 < 0,05$	3,00±0,10 $p_1 < 0,05$	2,99±0,07 $p_1 < 0,05$	1,68±0,07 $p_1 > 0,05$	1,58±0,04 $p_1 < 0,05$	2,60±0,05 $p_1 < 0,05$
Тіотриазолін	3,04±0,04 $p_1 < 0,05$	2,65±0,09 $p_1 < 0,05$	2,89±0,13 $p_1 < 0,05$	1,58±0,04 $p_1 < 0,05$	1,53±0,04 $p_1 < 0,05$	1,81±0,03 $p_1 < 0,05$

Таблиця 4 – Активність АлАТ та АсАТ в печінці тварин, уражених Cd, Co та радіаційним опроміненням після введення коригувальних чинників, мкмоль/кг·год ( $M \pm m$ ; n=6)

Група тварин	АлАТ			АсАТ		
	Строк дослідження, доба					
	7-ма	14-та	21-ша	7-ма	14-та	21-ша
Контрольні	8,65±0,28			3,17±0,15		
Уражені	9,40±0,33 $p > 0,05$	9,83±0,23 $p < 0,05$	9,98±0,33 $p < 0,05$	3,77±1,18 $p < 0,05$	3,56±0,25 $p > 0,05$	3,33±0,20 $p > 0,05$
Фібросил	9,33±0,08 $p_1 > 0,05$	9,16±0,10 $p_1 > 0,05$	9,05±0,07 $p_1 < 0,05$	3,47±0,11 $p_1 > 0,05$	3,44±0,07 $p_1 > 0,05$	2,95±0,07 $p_1 > 0,05$
Тіотриазолін	8,98±0,10 $p_1 > 0,05$	8,79±0,05 $p_1 < 0,05$	8,62±0,12 $p_1 < 0,05$	3,40±0,10 $p_1 > 0,05$	3,20±0,06 $p_1 > 0,05$	2,99±0,07 $p_1 > 0,05$

( $p < 0,05$ ) вмісту даного показника на 21-шу добу дослідження, що в 1,2 раза є нижчим від такого в уражених тварин.

При введенні в організм тварин коригувальних чинників активність каталази в печінці, порівняно з ураженими щурами, дещо збільшувалась протягом останніх термінів дослідження (табл. 6). У щурів, які отримували після ураження фібросил, активність каталази зростала на 14-ту та 21-шу доби експерименту і становила ( $2,77 \pm 0,13$ ) та ( $3,42 \pm 0,12$ ) мкат/кг, що на 13 % перевищувало такий показник контрольних тварин у вищенаведені терміни.

Ефективність застосування тіотриазоліну проявилась на 14-ту та 21-шу доби від початку отруєння. У ці терміни активність каталази в печінці зазнала достовірного підвищення ( $p < 0,05$ ). На 21-шу добу активність ферменту перебувала на рівні контрольних тварин.

У печінці уражених щурів вміст відновленого глутатіону після введення фібросилу та тіотриазоліну збільшувався протягом всього експерименту порівняно з контрольними тваринами (див. табл. 6).

Введення в організм тварин фібросилу призвело до достовірних змін вмісту відновленого глутатіону ( $p < 0,05$ ) на 7-му та 21-шу доби дослідження, що в 1,7 та 1,3 раза відповідно перевищувало такий в уражених щурів. У печінці уражених тварин цей показник зростав протягом всіх строків дослідження після надходження в організм тіотриазоліну. Найвищий вміст відновленого глутатіону нами зафіксовано на 21-шу добу експерименту, який становив 119 % порівняно з ураженими щурами (77 %).

Нами вивчено вміст загального глутатіону та редокс-індекс в різних органах уражених

Таблиця 5 – Активність каталази, відновленого глутатіону в сироватці крові тварин, уражених Cd, Co та радіаційним опроміненням після введення коригувальних чинників, мкат/л ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Група тварин	Каталаза			Відновлений глутатіон		
	Строк дослідження, доба					
	7-ма	14-та	21-ша	7-ма	14-та	21-ша
Контрольні	$10,51 \pm 1,18$			$6,44 \pm 0,28$		
Уражені	$19,57 \pm 1,66$ $p < 0,05$	$5,34 \pm 0,45$ $p < 0,05$	$9,61 \pm 0,51$ $p > 0,05$	$16,04 \pm 0,91$ $p < 0,05$	$13,21 \pm 0,09$ $p < 0,05$	$16,65 \pm 1,21$ $p < 0,05$
Фібросил	$18,15 \pm 1,10$ $p_1 > 0,05$	$8,59 \pm 0,50$ $p_1 < 0,05$	$10,41 \pm 0,28$ $p_1 > 0,05$	$14,12 \pm 0,63$ $p_1 > 0,05$	$12,29 \pm 0,24$ $p_1 > 0,05$	$12,58 \pm 0,13$ $p_1 < 0,05$
Тіотриазолін	$15,99 \pm 1,11$ $p_1 > 0,05$	$9,96 \pm 0,38$ $p_1 < 0,05$	$13,48 \pm 0,42$ $p_1 < 0,05$	$13,27 \pm 0,33$ $p_1 < 0,05$	$12,02 \pm 0,32$ $p_1 < 0,05$	$12,33 \pm 0,05$ $p_1 < 0,05$

Таблиця 6 – Активність каталази та відновленого глутатіону в печінці тварин, уражених Cd, Co та радіаційним опроміненням після введення коригувальних чинників, мкат/кг ( $M \pm m$ ;  $n=6$ )

Група тварин	Каталаза			Відновлений глутатіон		
	Строк дослідження, доба					
	7-ма	14-та	21-ша	7-ма	14-та	21-ша
Контрольні	$3,58 \pm 0,05$			$2,29 \pm 0,15$		
Уражені	$3,29 \pm 0,18$ $p > 0,05$	$2,29 \pm 0,12$ $p < 0,05$	$2,95 \pm 0,13$ $p < 0,05$	$0,54 \pm 0,03$ $p < 0,05$	$1,37 \pm 0,04$ $p < 0,05$	$1,77 \pm 0,09$ $p < 0,05$
Фібросил	$2,73 \pm 0,11$ $p_1 < 0,05$	$2,77 \pm 0,13$ $p_1 < 0,05$	$3,42 \pm 0,12$ $p_1 < 0,05$	$0,92 \pm 0,012$ $p_1 < 0,05$	$1,49 \pm 0,091$ $p_1 > 0,05$	$2,26 \pm 0,07$ $p_1 < 0,05$
Тіотриазолін	$3,37 \pm 0,18$ $p_1 > 0,05$	$3,23 \pm 0,23$ $p_1 < 0,05$	$3,44 \pm 0,10$ $p_1 < 0,05$	$1,05 \pm 0,041$ $p_1 < 0,05$	$1,82 \pm 0,010$ $p_1 < 0,05$	$2,74 \pm 0,10$ $p_1 < 0,05$

Продовження табл. 6

Групи тварин	Редокс-індекс			
	Строк дослідження, доба			
	7-ма	14-та	7-ма	14-та
	Сироватка		Печінка	
Контрольні	$2,33 \pm 0,05$		$1,38 \pm 0,03$	
Уражені	$1,99 \pm 0,05$ $p < 0,05$	$1,85 \pm 0,03$ $p < 0,05$	$1,28 \pm 0,04$ $p > 0,05$	$1,70 \pm 0,03$ $p < 0,05$
Фібросил	$2,29 \pm 0,07$ $p_1 < 0,05$	$2,55 \pm 0,08$ $p_1 < 0,05$	$1,51 \pm 0,02$ $p_1 < 0,05$	$1,74 \pm 0,08$ $p_1 > 0,05$
Тіотриазолін	$2,58 \pm 0,05$ $p_1 < 0,05$	$2,41 \pm 0,09$ $p_1 < 0,05$	$1,35 \pm 0,02$ $p_1 > 0,05$	$1,78 \pm 0,06$ $p_1 > 0,05$

тварин після введення в організм коригувальних чинників. Результати вивчення цих показників наведено в таблиці 6.

Як видно з таблиці, після ураження знижувався редокс-індекс, що вказувало на активацію окиснювальних процесів в організмі після отруєння тварин солями важких металів та радіаційним опроміненням. Використані нами чинники проявили позитивний вплив на цей показник як в сироватці крові, так і в печінці щурів.

На 7-му добу дослідження в сироватці крові ефективним виявився як фібросил, так і тіотриазолін. На 14-ту добу від початку експерименту редокс-індекс підвищився під впливом використаних нами середників. Інша тенденція спостерігалась у печінці.

Отримані нами дані з вивчення редокс-індексу в організмі тварин дозволяють вико-

ристати досліджувані коригувальні чинники в подальших експериментах з метою пригнічення окиснювальних процесів в ураженому організмі.

**ВИСНОВОК.** Досліджувані антиоксидантніотриазолін та ентеросорбент фібросил проявили позитивний вплив на процеси вільнорадикального окиснення, зокрема знизили високий вміст ТБК-реагуючих продуктів в ураженому солями Cd, Co та Rg-променями організмі. Це дозволяє думати про їх антиоксидантні властивості та рекомендувати для подальшого вивчення з метою пригнічення активованих окиснювальних процесів, а також відновлення та нормалізації функціонування в ураженому організмі системи антиоксидантного захисту.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Барабой В.А., Олійник С.А., Хмелевський Ю.В. Стан антиоксидантної системи за дії іонізуючої радіації у низьких дозах та низької інтенсивності // Укр. біохім. журн. – 1994. – **66**, № 4. – С. 3-18.
2. Барабой В.А., Орел В.Э., Карнаух И.М. Перекисное окисление липидов и радиация. – К.: Наукова думка, 1994. – 252 с.
3. Белай И.М. Влияние нового препарата тиотриазолина на липидный обмен и перекисное окисление липидов при экспериментальном атеросклерозе // "Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки і практики": Зб. наук. ст. – Запоріжжя, 1997. – Вип. 1. – С. 183-187.
4. Библик В.В., Болгов Д.М. Тиотриазолин: фармакология и фармакотерапия // Укр. мед. альманах. – 2000. – **3**, № 4. – С. 226-228.
5. Блюгер А.Ф., Карташева О.Я. Моделирование патологических процессов в печени. – Рига: Зинатне, 1983. – С. 7-16.
6. Ерстенюк Г.М., Клименко А.О., Остап'як І.М. Стан антиоксидантної системи щурів у процесі гострої кадмієвої інтоксикації // Мед. хімія. – 2003. – № 3. – С. 22-25.
7. Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
8. Матолінець О.М. Вікові особливості антиоксидантної системи у тварин з кадмієвим токсикозом //

Мед. хімія. – 2000. – № 1. – С. 44-47.

9. Мельничук Д.О., Мельникова Н.М., Деркач Є.А. Вікові особливості кумуляції кадмію в органах токсикованих щурів і зміни показників кислотно-лужного стану крові за різних умов антиоксидантного захисту організму // Укр. біохім. журн. – 2004. – **76**, № 6. – С. 95-99.

10. Покровский А.А. Биохимические методы исследований. – М.: Медицина, 1969. – 650 с.

11. Рябов Г.А., Пасечник И.Н., Азизов Ю.М. Активированные формы O<sub>2</sub> и их роль при некоторых патологических состояниях // Анестез. и реаним. – 1991. – № 1. – С. 63-69.

12. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // В кн.: Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.

13. Тогайбаев А.А., Кургузкин А.В., Рикун И.В., Карибжанова Р.М. Способ диагностики эндогенной интоксикации // Лаб. дело. – 1988. – № 9. – С. 22-24.

14. Тараховский М.Л., Цыпкун А.Г., Сергеев В.П. и др. Эффективность энтеросорбентов и механизмы детоксикации при моделированном гепатите у неполовозрелых крыс // Физиол. журн. – 1991. – № 6. – С. 48-54.

15. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups // Arch. Bioch. Biophys. – 1959. – **82**. – P. 70-77.

# ПРИМЕНЕНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ И ЭНТЕРОСОРБЕНТОВ В УСЛОВИЯХ ХИМИЧЕСКИ-РАДИАЦИОННОГО ПОРАЖЕНИЯ ЖИВОТНЫХ

П.Г. Лихацкий, Л.С. Фира, И.П. Мосейчук

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

## Резюме

В статье приведены результаты исследований применения антиоксидантов и энтеросорбентов в условиях смоделированного радиационно-химического поражения. Установлено, что попадание в организм животных солей Cd и Co на фоне радиационного поражения вызывает активацию процессов ПОЛ, промежуточные и конечные продукты которых приводят к деградации липидных и белковых компонентов мембран. Это сопровождается изменением проницаемости последних. Для коррекции обнаруженных нарушений использован известный антиоксидант тиотриазолин и энтеросорбент фибросил.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** радиационно-химическое поражение, перекисное окисление липидов, ТБК-реагирующие продукты, редокс-индекс, эритроцитарный индекс интоксикации, гепатоциты, фибросил, тиотриазолин.

## APPLICATION OF ANTIOXIDANTS AND ENTEROSORBENTS UNDER CONDITIONS OF CHEMICAL-RADIATION DAMAGE OF ANIMALS

P.H. Lykhatsky, L.S. Fira, I.P. Moseychuk

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I. YA. HORBACHEVSKY

## Summary

The article adduces the results of researches of antioxidants and enterosorbents application under conditions of the modelled radiation-chemical damage. It has been set that appearance of Cd and Co salts in the organism of animal against a background of radiation defeat causes activating of lipid peroxidation processes, the intermediate and final products of which result in degradation of lipid and protein components of membranes. It is accompanied by a change of permeability of the last. For the correction of revealed violations the known antioxidant thiotriazoline and enterosorbent fibrosil is used.

**KEY WORDS:** radiation-chemical defeat, lipid peroxidation, TBK-reactive products, redox-index, erythrocytic index of intoxication, hepatocytes, fibrosil, thiotriazoline.

Отримано 26.06.2007 р.

**Адреса для листування:** П.Г. Лихацький, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м.Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.



## БУДОВА ТА ДІУРЕТИЧНА АКТИВНІСТЬ АМІНО- І ТІОПОХІДНИХ 1,2,4-ТІАЗОЛУ

А.Г. Каплаушенко

ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

*Проведено аналіз літературних джерел, які містять дані щодо діуретичної активності 3-тіо- і 4-аміно-1,2,4-тріазолів. Узагальнено закономірності залежності хімічної структури сполук даного ряду і показників їх діуретичної активності.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: 1,2,4-тріазоли, діуретична активність.

**ВСТУП.** Пошук нових лікарських засобів пов'язаний із цілеспрямованим синтезом біологічно активних сполук і вивченням взаємозв'язку "будова-дія".

У ряді аміно- і тіопохідних 1,2,4-тріазолу останнім часом синтезовано велику кількість сполук, щодо яких вивчено різноманітні види фармакологічної активності, але немає узагальнених даних стосовно взаємозв'язку діуретичної активності цих похідних з їх структурою. Тому нами було поставлено завдання провести аналіз і узагальнити літературні дані відносно діуретичної дії сполук даного ряду.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Дослідження діуретичної активності були проведені на кафедрах фармакології з курсом клінічної фармакології та фармакотерапії Запорізького державного медичного університету та кафедри клінічної фармакології та фармакотерапії Харківського національного фармацевтичного університету.

Вплив на функцію нирок синтезованих речовин досліджено на безпородних білих щурах-самцях масою 136-202 г за методом Є.Б. Берхіна [1].

Для дослідження впливу на функцію нирок використовували 6 груп тварин по 7 щурів у кожній. При вивченні водного діурезу щурів утримували на постійному харчовому раціоні при вільному доступі до води. До водного навантаження (5 % від маси тіла) тварин утримували протягом 2 год без їжі та води. Водорозчинні сполуки вводили інтраперитонеаль-

но з урахуванням правил асептики та антисептики, водонерозчинні – перорально у вигляді водної суспензії, стабілізованої твіном-80. Сполуки вводили в дозі 1/10 від LD<sub>50</sub>. Кількість сечі враховували через кожну годину протягом 4 год. Кількість сечі, що виділила контрольна група тварин (яка не отримувала дослідних сполук), брали за 100 %.

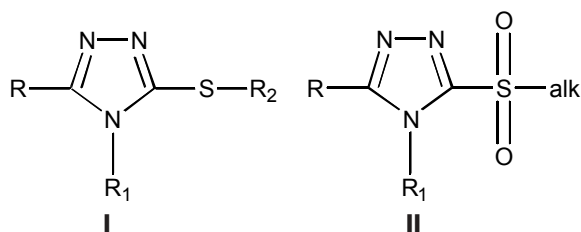
Дослідження та аналіз отриманих експериментальних даних проводили порівняно з еталонними діуретиками: еуфіліном, лазиксом, гіпотіазидом та фуросемідом.

### РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.

Діуретична активність тіопохідних 1,2,4-тріазолу

Нами проведено аналіз взаємозв'язку гострої токсичності з будовою 3-тіо- (Ia), 3-алкілтіо- (Iб), 3-аміноалкілтіо- (Iв-д), 3-арилтіо- (Iе), 3-гертилтіо- (Iж), 3-глікозилтіо-4-R-5-R1-1,2,4-тріазолів (Iз), 2-(4-R-5-R1-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)-етанонів (Iк), 2-(4-R-5-R1-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)-етанолів (Iл) 4-R-5-R1-1,2,4-тріазоліл-3-тіо-ацетатних кислот (Iм), їх солей (Iн), естерів (Io), амідів (Ip-с), гідразидів (Iт), іліденгідразидів (Iу, ф), 3-алкілсульфоніл-5-R-1,2,4-тріазолів (II), 5,5'-дитіо- (IIIa) 5,5'-діалкілдитіо-1,4,1',4'-тетрагідро-3,3'-бі-1,2,4-тріазолів (IIIб), 3-тіо- (IVa), 3-алкілтіо-5-R-(1,2,4-тріазоліл-3-тіо-метил)-1,2,4-тріазолів (IVб), похідних тіазоло(3,2-в)-1,2,4-тріазолу (Va, б).

При вивченні діуретичної дії 1,2,4-тріазол-3-тіонів і їх похідних особлива увага авторів [1-18] приділялась виявленню залежності досліджуваної активності від замісників по 1,2,4-тріазоловому циклу.



I R=H, Alk, Ar, Het

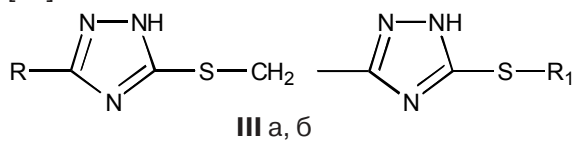
R<sub>1</sub>=H, Ar

R<sub>2</sub>=H (а), Alk (б), CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> (в), CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N=CHAr (г), CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(Alk)<sub>2</sub> (д), Ar (е), Het (ж), глікозил (з), -CH<sub>2</sub>(Alk)-CO-Alk(Ar) (к), -CH<sub>2</sub>(Alk)-CH(OH)(Ar) (л), -CH<sub>2</sub>(Alk)-COOH (м), -CH<sub>2</sub>(Alk)-COO-X<sup>+</sup> (н), -CH<sub>2</sub>(Alk)-COOAlk (о), -CH<sub>2</sub>(Alk)-CONH<sub>2</sub> (п), -CH<sub>2</sub>(Alk)-CONH(Alk) (р), -CH<sub>2</sub>(Alk)-CON(Alk)<sub>2</sub> (с), -CH<sub>2</sub>(Alk)-CONHNH<sub>2</sub> (т), -CH<sub>2</sub>(Alk)-CONHN=CHAlk (у), -CH<sub>2</sub>(Alk)-CONHN=CHAr (ф)

II R, R<sub>1</sub>=Ar

Серед 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів (Ia) [2] 5-(3-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіон має найвищу діуретичну активність. 5-(4-Нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіон проявляє помірну діуретичну дію. 5-(2-Нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіон практично не має діуретичного ефекту через 2 год після введення, а через 4 год проявляє слабкий антидіуретичний ефект [2]. Введення двох замісників [3, 10] у ядро тріазолу призводить до підсилення активності, але ця дія короточасна.

3-Тіо-5-R-(1,2,4-тріазоліл-3-тіометил)-1,2,4-тріазолі (IIIa) [12] проявляють помірну діуретичну активність. Необхідно констатувати, що введення замісників в 1,2,4-тріазоловий цикл, як правило, знижує активність сполук. Винятком є речовина, у якій в положенні 3 1,2,4-тріазолу міститься п-оксифенільний замісник [12].

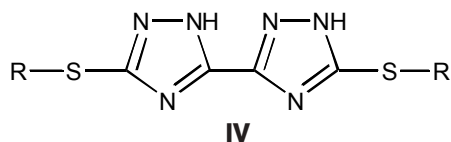


III R=H, Alk, Ar, R<sub>1</sub>=H (а); R=H, Alk, Ar R<sub>1</sub>=Alk (б)

Алкилування тіонів (Ia, IIIa) галогеналканами, циклогалогеналканами призводить до появи сполук, які мають помірну діуретичну дію [2, 3, 5, 15]. У деяких випадках вищевказане хімічне перетворення зумовлює зниження діуретичної активності синтезованих сполук [2, 3]. Слід відзначити, що найбільш активними серед 3-алкілтіо-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазолів є 3-алкілтіо-5-(4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазолі, що дещо не збігається з діуретичною активністю 5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-

1,2,4-тріазол-3-тіонів (Ia) [2]. На силу діуретичної дії сполук даного ряду значно впливають замісники по 1,2,4-тріазоловому циклу. Наприклад, 3-алкілтіо-1,2,4-тріазолі, що не містять замісників по ядру 1,2,4-тріазолу, або коли ці замісники аліфатичного ряду більш активні, ніж відповідні 5-арил-1,2,4-тріазолі [3].

5,5'-Діалкілдитіо-1,4,1',4'-тетрагідро-3,3'-бі-1,2,4-тріазолі (IVб) також менш активні, ніж відповідні тіони (IVa), а деякі сполуки мають антидіуретичну дію [4, 5, 11].



IV R=H (а), R=Alk (б)

Подовження вуглеводневого ланцюга алкільного радикала при атомі сірки в положенні 3 ядра 1,2,4-тріазолу (сполуки Ib, IIIб, IVб) призводить, як правило, до підсилення діуретичного ефекту, особливо на четвертій годині після введення досліджуваних сполук [2, 5, 13].

Введення по тіогрупі ароматичних (Ie), гетероциклічних (Iж) замісників, а також залишків глікозидів (Iз) практично не впливає на діуретичну активність сполук [2, 3, 5].

Окиснення 3-алкілтіо-1,2,4-тріазолів (Iб) до 3-алкілсульфо-1,2,4-тріазолів (II) не призводить до будь-яких суттєвих змін активності сполук [2, 3].

Подовження вуглеводневого радикала у 3-алкілсульфо-5-(2-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазолів (II) підвищує діуретичний ефект. Серед 3-ізопропілсульфо-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазолів найбільш активною є сполука, що містить 4-нітрофенільний радикал, найменш активною – сполука, яка містить 2-нітрофенільний замісник [2].

Введення по атому сірки 1,2,4-тріазолового циклу β-аміноалкільних радикалів (сполуки IVд) супроводжується значним підвищенням діуретичного ефекту [6, 7, 9]. При цьому, залежно від часу після введення, активність всіх синтезованих β-аміноалкілтіо-1,2,4-тріазолів на 21-44 % перевищує діуретичну активність еуфіліну, лазиксу і гіпотіазиду. Введення алкільних і арильних радикалів у положення 5 β-аміноалкілтіо-1,2,4-тріазолів призводить до зниження активності сполук. Введення двох ароматичних замісників у положення 4 і 5 ядра 1,2,4-тріазолу значно підсилює діурез у піддослідних тварин [3, 9]. Так, активність 4,5-дифеніл-5-(β-діетиламіноетил)-тіо-1,2,4-тріазолу в дозі 10 мг/кг перевищує активність еуфіліну в дозі 100 мг/кг і лазиксу в дозі 10 мг/кг про-

тягом 6 год на 124 і 30 % відповідно [3, 9]. Заміна β-діетиламіноетильного радикала на β-дипропіламіноетильну групу не змінює діуретичний ефект сполук [3, 9].

Діуретичний ефект 2-(5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)-етанонів (Ik) також залежить від положення нітрогрупи у фенільному радикалі при C<sub>5</sub>-атомі 1,2,4-тріазолового циклу. Наприклад, сполуки, що містять 4-нітрофенільний радикал, більш активні [2]. Встановлено, що введення оксигрупи в параположення фенільного радикала залишку кетону знижує діуретичну дію [2], а введення в це ж положення нітрогрупи підсилює вищевказаний ефект [5].

Відновлення 2-(5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)-етанонів (Ik) до 2-(5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-5-ілтіо)-етанолів (Il) знижує діуретичний ефект. При цьому всі закономірності щодо положення нітрогрупи у фенільному радикалі при п'ятому атомі ядра 1,2,4-тріазолу, виявлені в етанонів Ik, зберігаються [2, 5].

Серед 2-(5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)-ацетатних кислот (Im) [2] виявлено залежність діуретичної активності від положення нітрогрупи у фенільному заміснику молекули 1,2,4-тріазолу, аналогічну кетонам (Ik) і спиртам (Il). Перехід від 2-(5-(4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)-ацетатної кислоти до 2-(5-(4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-ілсульфо)-ацетатної кислоти практично не змінює характер діуретичної активності через 2 год після введення, але збільшує показник, що характеризує діуретичну дію протягом 4 год після введення сполук [2].

Етерифікація 2-(1,2,4-тріазол-3-ілтіо)-ацетатних кислот (Im) спиртами призводить до підвищення діуретичного ефекту [2, 5, 9, 11, 12, 13, 14, 18]. Серед естерів даного ряду виявлено сполуки, що за силою діуретичної дії відповідають активності гіпотіазиду [2, 5, 7]. При цьому авторами [5] встановлено, що діуретична активність естерів 1,2,4-тріазол-3-ілтіоацетатних кислот залежить від замісника по ядру 1,2,4-тріазолу. Так, якщо замісником є 2-бромфенільна група, то сполуки проявляють діуретичну активність. Заміна в положенні 5 тріазольного циклу 2-бромфенільної групи на 2-фенілхіноліл-4 призводить до втрати активності.

На діурез солей 2-(1,2,4-тріазол-3-ілтіо)-ацетатних кислот (In) впливає як активність, зумовлена катіоном, так і активність, викликана радикалами по ядру 1,2,4-тріазолу [2, 3, 5, 9, 12, 14]. Серед даного класу сполук виявлено речовини, що за силою своєї активності набли-

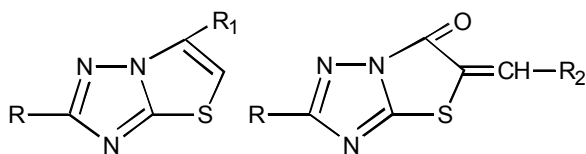
жаються або перевищують дію гіпотіазиду. Причому найбільшу активність проявляють солі з органічними основами, що містять атом азоту (метиламін, морфолін, піперидин). Солі 2-(5-(4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-ілсульфо)-ацетатної кислоти більш активні, ніж аналогічні їм солі 2-(5-(4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)-ацетатної кислоти [2].

Аміди (Ip, p, c) і гідразиди (It) 2-(1,2,4-тріазол-3-ілтіо)-ацетатних кислот не впливають на функцію нирок [2, 3, 5, 19].

Іліденгідразиди 2-(5-R-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)-ацетатних кислот проявляють помірну [5] діуретичну активність. Звертає на себе увагу той факт, що наявність нітрогрупи в залишках альдегідів сприяє підвищенню активності сполук. В цьому ряді також найактивнішими є ті сполуки, що містять як замісник по кільцю 1,2,4-тріазолу 2-бромфенільну групу.

Іліденгідразиди 2-(5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)-ацетатних кислот (Iy-ф) проявляють вищу діуретичну активність. При цьому на діуретичну активність іліденгідразидів даного ряду значно впливає кількість замісників у фенільному радикалі залишку альдегіду. Наприклад, сполуки, що містять два замісники, мають виражений діуретичний ефект. Також можна зазначити, що серед бензиліденгідразидів найбільш активними є сполуки, що містять в ядрі 1,2,4-тріазолу 3-нітрофенільний замісник [2, 3, 17].

Циклізація 2-(3-R-1,2,4-тріазол-5-ілтіо)-1-(4-R<sub>1</sub>-феніл)-етанонів (Iл) в похідні тіазоло(3,2-в)-1,2,4-тріазолу (сполуки Va) не сприяє підсиленню активності.



V a, б

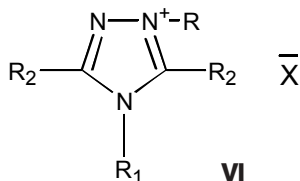
V a R = 2-бромфеніл, 2-фенілхінолін-4-іл;  
R<sub>1</sub> = Ar

V б R = Ar, Het; R<sub>1</sub> = Ar

Циклізація 2-(1,2,4-тріазол-3-ілтіо)-етанових кислот (Im) в 5-іліден-2-R-тіазоло(3,2-в)-1,2,4-тріазол-6-они (Vб) також не супроводжується підвищенням або зниженням діуретичної дії [5, 10, 12, 18]. Як і в попередніх випадках, більш активними є сполуки, які містять по кільцю 1,2,4-тріазолу 2-бромфенільний радикал. Крім цього, введення нітрогрупи в залишок альдегіду підвищує активність речовин [5]. Наявність атома галогену в залишку альдегіду призводить до зникнення діуретичної і появи антидіуретичної дії. Заміна

атома галогену на нітро- або метильну групу підвищує діуретичну активність сполук.

Діуретична активність амінопохідних 1,2,4-тріазолу



де **VI а** R=Alk, R<sub>1</sub>=NH<sub>2</sub>, NHAlk, R<sub>2</sub>=H, X=Hal;

**VI б** R=Alk, R<sub>1</sub>=N=CH-Ar, R<sub>2</sub>=H, X=Hal

**VI в** R=Alk, R<sub>1</sub>=NH<sub>2</sub>, R<sub>2</sub>=CH<sub>3</sub>, X=Hal

**VI г** R=H, R<sub>1</sub>=NH-Alk(Ar), R<sub>2</sub>=CH<sub>3</sub>, X=Hal

**VI д** R=CH<sub>2</sub>COOH (CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>), R<sub>1</sub>=NH<sub>2</sub>, NH-Ar, R<sub>2</sub>=H, X=Hal

Розглядаючи діуретичну активність похідних 4-аміно-1,2,4-тріазолу, слід зауважити, що вони проявляють доволі високу діуретичну активність [5]. Введення алкільного радикала по аміногрупі (сполуки **VIа**) практично не впливає на діуретичну активність сполук. Перехід до 4-іліденаміно-1-алкіл-4Н-1,2,4-тріазол-1-іум хлоридів (**VIб**) супроводжується підвищенням діурезу [5]. Авторами встановлено [4, 5], що введення в залишок альдегіду метокси-

або нітрогрупи підвищує, а атомів хлору або бромів знижує активність речовин [5].

Заміна нонільного радикала при N<sub>1</sub>-атомі ядра 1,2,4-тріазолу на пентильний призводить до зниження активності сполук [5]. Подальша заміна пентильного радикала на пропільний спричиняє зникнення діуретичної активності сполук [5]. Заміна в положенні 1 тріазольного ядра оксикарбонілметильної групи на карбомоїлметил зумовлює незначне підвищення активності [4, 5].

Перехід до 4-іліденаміно-1-оксикарбонілметил-4Н-1,2,4-тріазол-1-іум хлоридів (**VIд**) супроводжується підвищенням активності [5].

Введення в ядро 1,2,4-тріазолу двох метильних груп в положення 3 і 5 (сполуки **VIв**, **г**) знижує активність сполук [5].

**ВИСНОВКИ.** 1. Проведено аналіз діуретичної активності близько 1000 сполук – похідних 3-тіо-і 4-аміно-1,2,4-тріазолу.

2. Встановлений взаємозв'язок між хімічною структурою і діуретичною активністю похідних 3-тіо- і 4-аміно-1,2,4-тріазолу може бути використаний при цілеспрямованому синтезі біологічно активних сполук.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Берхин Е.Б. Методы изучения действия новых химических соединений на функцию почек // Хим.-фармац. журн. – 1977. – **11**, № 5. – С. 3-11.
2. Каплаушенко А.Г. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості S-похідних 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів: Дис.... канд. фармац. наук. – К., 2006. – 201 с.
3. Кныш Е.Г. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості N- і S-замещенных 1,2,4-тріазола: Дис.... д-ра фармац. наук. – Х., 1987. – 350 с.
4. Муляр А.Г., Мутин И.Н., Титов И.А. Влияние замещенных 1,2,4-тріазола на диурез // Междунар. сб. науч. тр. V науч.-практ. конф. по созданию и апробации новых лек. средств "Лекарства – человеку". – Каунас, 1997. – Т. 5. – С. 268-272.
5. Панасенко О.І. Синтез, перетворення, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних 1,2,4-тріазолу: Дис.... д-ра фармац. наук. – К., 2005. – 396 с.
6. Панасенко А.И., Кныш Е.Г., Самура Б.А. Синтез и биологическая активность солей 1,2,4-тріазоліл-5-тіоуксусных кислот // Междунар. сб. материалов по созданию и апробации новых лек. средств "Лекарства – человеку". – Х., 1996. – Т. 1. – С. 223-226.
7. Панасенко А.И., Кныш Е.Г., Самура Б.А. Синтез и биологическая активность эфиров 1,2,4-тріазо-

ліл-5-тіоуксусных кислот // Междунар. сб. материалов по созданию и апробации новых лек. средств "Лекарства – человеку". – Х., 1996. – Т. 1. – С. 210-214.

8. Панасенко А.И., Кныш Е.Г., Самура Б.А., Шевченко И.Н. Синтез и биологическая активность S-замещенных 3-н-пропил-1,2,4-тріазолін-5-тіона // Междунар. сб. материалов по созданию и апробации новых лек. средств "Лекарства – человеку". – Х., 1996. – Т. 1. – С. 214-223.

9. Савенкова Н.Н. Синтез, превращения и биологические свойства замещенных 5-гетерил и 5-аміноалкілтіо-1,2,4-тріазола: Дис. ... канд. фармац. наук. – Запорожье, 1984. – 177 с.

10. Самура Б.А., Панасенко А.И., Бакуменко М.Г., Кныш Е.Г. Взаимосвязь химического строения, токсичности, диуретического и депримирующего действия тиазола(3,2-в)- и тиазола(2,3-с)-1,2,4-тріазолов // Междунар. сб. материалов по созданию и апробации новых лек. средств "Лекарства – человеку". – Х., 1996. – Т. 1. – С. 244-247.

11. Самура Б.А., Панасенко А.И., Бакуменко М.Г., Кныш Е.Г. Взаимосвязь химического строения, токсичности, диуретического и депримирующего действия S-замещенных 5-тіо-1,2,4-тріазола //

Международ. сб. материалов по созданию и апробации новых лек. средств "Лекарства – человеку". – X., 1996. – Т. 1. – С. 248-252.

12. Чепель П.В. Синтез, перетворення та біологічна активність у ряду похідних 1,2,4-триазолу: Дис.... канд. фармац. наук. – Запоріжжя, 2002. – 153 с.

13. Чепель П.В., Панасенко О.І., Парченко В.В. Синтез, будова і біологічна активність 5-алкілтіо-3-(3-R-1,2,4-триазоліл-5-тіометил)-1,2,4-триазолів // Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики. – Запоріжжя, 2001. – Вип. 7. – С. 99-103.

14. Шевченко І.М. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості N- і S-заміщених моно- і біциклічних заміщених азагетероциклів: Дис.... канд. фармац. наук. – Запоріжжя, 1999. – 144 с.

15. Шикова В.В., Мутич І.Н., Тарусина Е.В. Диуретическая активность конденсированных производных триазола // Международный сб. науч. тр. VI науч.-практ. конф. по созданию и апробации новых лек. средств "Лекарства – человеку". – X., 1998. – С. 242-243.

16. Kalluraya, Balakrishna, Suresh K.J. et al. Synthesis, characterization and biological activities of some 3-aryloxymethyl-4-(5-aryl-2-furyldene)amino-5-mercapto-1,2,4-triazoles and their Mannich bases // Chim. acta turc. – 1994. – **22**, № 3. – P. 285-293.

17. Liang-zhong Xu, Shu-sheng Zhang, Zhi-yang Ni, Kui Jiao. Studies on synthesis and biological activities of novel triazole compounds containing thiophene groups // Chem. Res. Chin. Univ. – 2003. – **19**, № 3. – P. 310-313.

18. Sudan Sangeeta, Gupta Rajive, Kachroo P.L. Bridgehead nitrogen rocycies: synthesis and biological activities of s-triazolo[3,4-β][1,2,4]thiadiazole system // J. Indian Chem. Soc. – 1996. – **73**, № 11. – P. 625-626.

19. Udipi R.H., Suresh G.V., Setty Ramachandra S., Bhat A.R. Synthesis and biological evaluation of 3-substituted-4-[2'-(4-isobutylphenyl)propionamido]-5-mercapto-1,2,4-triazoles and their derivatives // J. Indian Chem. Soc. – 2000. – **77**, № 6. – P. 302-304.

## СТРОЕНИЕ И ДИУРЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ АМИНО-И ТИОПРОИЗВОДНЫХ 1,2,4-ТРИАЗОЛА

**А.Г. Каплаушенко**

ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

### Резюме

Проведен анализ литературных источников, содержащих данные о диуретической активности 3-тио- и 4-амино-1,2,4-триазолов. Обобщены закономерности зависимости химической структуры соединений данного ряда и показателей их диуретической активности.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **1,2,4-триазолы, диуретическая активность.**

## THE STRUCTURE AND DIURETIC ACTIVITY OF THE AMINO-AND THIO-1,2,4-TRIAZOL DERIVATIVES

**A.G. Kaplaushenko**

ZAPORIZHYAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

### Summary

The analysis of the literary sources containing information about diuretic activity of 3-thio- and 4-amino-1,2,4-triazols has been carried out. Some regularities of dependence between parameters of diuretic activity and chemical composition of mentioned compounds have been summarized.

KEY WORDS: **1,2,4-triazols, diuretic activity.**

Отримано 26.05.2007 р.

Адреса для листування: А.Г. Каплаушенко, вул. Зернова, 30, кв. 6, Запоріжжя, 69035, Україна.

## ЗВ'ЯЗУВАЛЬНА ФУНКЦІЯ СИРОВАТКОВОГО АЛЬБУМІНУ

С.М. Андрейчин, З.С. Скірак

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

*У статті відображено властивості альбуміну, його функції, участь в підтриманні гомеостазу та методи його визначення.*КЛЮЧОВІ СЛОВА: **альбумін, сироватковий альбумін, зв'язувальна функція.**

Альбумін сироватки крові – єдиний білок крові, який не містить в собі вуглеводневих залишків. Він цікавий не тільки своєю структурою, але і властивостями та роллю, яку він відіграє в організмі. По-перше, цей білок є основним регулятором колоїдно-осмотичного тиску в плазмі крові та інших біологічних речовин. По-друге, він виконує транспортну функцію, причому, на відміну від більшості інших транспортних білків, переносить не тільки білки та іони, але і пігменти (білірубін), гормони, вільні жирні кислоти, іони кальцію і хлору, а також синтетичні лікарські речовини, які надходять в організм. І по-третє, служить багатим і швидко реалізуючим резервом білка. Крім цього, альбуміну властиві кон'югуюча та інактивуюча функції, так що зниження концентрації даного білка підвищує вміст вільних біологічно активних речовин (в тому числі агресивних) в плазмі крові. Тому визначення концентрації його у плазмі крові та сечі є важливим діагностичним показником у клінічній і лабораторній практиці [4, 10, 12, 13, 14, 15].

Сироватковий альбумін представлений як білок, утворений довгим поліпептидним ланцюгом, і складається з 582 амінокислотних залишків, 33 з яких – залишки цистеїну. Молекула альбуміну містить 9 двічі складених фрагментів і 17 дисульфідних зв'язків. Вторинна і третинна структура цього білка вивчена поки що недостатньо, однак сучасне уявлення про тридоменну структурну організацію альбуміну дозволяє передбачити наявність в ньому *in vivo* гнучкої структури, що і забезпечує його широкі можливості зв'язування як низько-, так і високомолекулярних метаболітів. Показано, що альбумін має гетерогенність, яка зумов-

© С.М. Андрейчин, З.С. Скірак, 2007.

лена не тільки генетичними, але і постсинтетичними трансформаціями структури білка, в тому числі й змінами його фізико-хімічних властивостей в процесі функціонування. Альбумін гетерогенний відносно вмісту сульфідних груп, тому одну з функцій називають меркаптоальбуміновою, а другу – немеркаптоальбуміновою. Крім цього, проявляється і мікрогетерогенність, викликана як характером, так і кількістю молекул, агрегованих альбуміном речовин [1, 2, 3, 4, 8, 9].

Як вже було сказано вище, альбумін – єдиний білок у крові, який не містить вуглеводневих залишків. Його молекулярна маса становить (66 700±400) Д, а концентрація в плазмі крові здорових людей – близько 40 г/л. Період напівжиття альбуміну в кров'яному руслі – 19-20 діб.

Біологічна роль альбуміну велика. Перша і, можливо, багатогранна його функція – підтримання колоїдно-осмотичного тиску плазми крові. Вміст альбуміну на 75-80 % утворює онкотичний тиск плазми (сироватки) крові, від того і залежать об'єм крові в судинному руслі, транспорт води з нього в щільніші тканини. Таким чином, зниження рівня альбуміну внаслідок протеїнурії або тривалого голодування супроводжується різким зниженням колоїдно-осмотичного тиску плазми і підвищенням гідростатичного тиску, що призводить до переходу відносного надлишку води, не зв'язаної з білками, в підшкірно-жирову клітковину та інші щільні тканини, тобто відбувається формування набряків.

Друга біологічна функція – білковий резерв організму. Так, при тривалому голодуванні перш за все витрачається альбумін плазми крові, що, з огляду на вищезгаданий механізм,

призводить до утворення так званих “кахектичних” (“голодних”) набряків.

Третя біологічна функція – транспортна, причому альбумін здатний переносити найрізноманітніші ендо- й екзогенні речовини різної структури, що належать до різних класів. Так, з альбуміном утворюють комплекси білірубін, гормони, вільні жирні кислоти, лікарські речовини, іони кальцію, хлору та ін. Здатність зв'язувати такий широкий спектр речовин відрізняє його від решти транспортних білків, в основному зорієнтованих на якийсь певний клас сполук. Серед ендогенних речовин найбільшу спорідненість до альбуміну проявляють жирні кислоти і білірубін (саме це і підвищує розчинність вказаних сполук). З екзогенних речовин слід відмітити більшість антибіотиків, за транспорт і розподіл яких до органів і тканин відповідає саме альбумін [4, 11, 16].

Аналітичні методи визначення концентрації альбуміну можна поділити на декілька груп: висолювання глобулінів сірчаноокислими солями натрію (альбумін залишається в надосадовій рідині, де потім його виявляють методами, які застосовують для визначення концентрації загального білка); електрофоретичне фракціонування і хроматографічний розподіл, а також виділення альбуміну шляхом гел'фільтрації і седиментації в процесі ультрацентрифугування; визначення за допомогою іонселективних електродів, методами флуориметрії та імунохімії (імуноелектрофорез, радіальна імунодифузія за Манчіні в агаровому гелі, імунотурбидиметрія, радіоімуний аналіз та ін.), а також пряме колориметричне дослідження, яке базується на специфічному зв'язуванні цього білка з певними барвниками.

Перша група методів досить трудомістка, а результати визначення недостатньо точні й мають низьку відновлюваність; імунохімічні методи визначення є більш зручними, результати отримуються швидко, мають добру відновлюваність. Проте всі вони пов'язані з одержанням моноспецифічних антисироваток (в ряді випадків – моноклональних антитіл), що робить визначення досить дорогим. Тому основна увага в клінічній лабораторній практиці приділяється так званим прямим колориметричним методам визначення альбуміну [3, 5].

В основі прямих колориметричних методів визначення концентрації альбуміну лежить властивість цього білка зв'язувати низькомолекулярні агенти (транспортна функція). Визначення результатів реакції ведеться за утворенням в розчині забарвлення, яке виникає внаслідок зміщення рН. Барвники, які використовують, – індикатори рН, а зміну інтенсивності

забарвлення при взаємодії барвників з альбуміном називають “білковим відхиленням індикатора”. Індикаторами у різний час були бромкрезоловий червоний, бромкрезоловий зелений (БКЗ), бромфеноловий голубий, еозин, метилоранж та ін., але найбільше розповсюдження отримали методи з використанням БКЗ (тетрабромкрезолсульфонфталеїн) барвника. Цей індикатор володіє найбільшою спорідненістю до альбуміну при рН 7,0, а при рН 4,2 комплекс “альбумін-бромкрезоловий зелений” характерно змінює своє забарвлення з жовтого на зелено-блакитний колір, що дозволяє реєструвати забарвлення при довжині хвилі 580-630 нм. БКЗ – найбільш специфічний з усіх індикаторів, які використовуються в даний час; висока чутливість визначення допускає розчинення проби реактивом до співвідношення 1:500. Чутливість і специфічність методу значно підвищуються при введенні в реакційну суміш неіонних детергентів. Концентрацію альбуміну визначають за результатами вимірювання оптичної щільності при 580-630 (максимум зафарбовування – 625 нм), для усунення можливого інтерферуючого впливу альфа-глобулінів рекомендується додаткове вимірювання холостої проби на контрольній довжині хвилі 660-700 нм. Описаний метод зручний для використання на автоматичних аналізаторах, є специфічним і чутливим, а результати визначення, отримані за допомогою цього методу, можна зіставити з результатами, одержаними способами висолювання або розділення білків на ацетат целюлозі.

В останні роки велику увагу приділяють вивченню якісних змін альбуміну, виявлених при різних патологічних станах. Встановлено, що порушення структури впливає на його функції, найважливіша з яких – зв'язувальна і транспорт різних речовин в організмі.

Таким чином, визначення концентрації альбуміну та його окремих фракцій є дуже важливим діагностичним параметром при цілій низці захворювань, особливо захворюваннях печінки, нирок і видільної системи, а також інших патологіях, які призводять до порушень метаболізму. Вміст альбуміну визначають як у плазмі (сироватці) крові, так і в сечі, цереброспинальній рідині та інших біологічних зразках [4, 17].

У літературі є дуже багато відомостей про взаємодію із сироватковим альбуміном цілого ряду лікарських речовин, природних метаболітів, іонів металів, вітамінів, гормонів, алдегідів, хінонів, деяких низькомолекулярних токсичних речовин з групи динітрофенолінових, фосфоро- і хлороорганічних сполук. Пред-

ставлено дані про стан сироваткового альбуміну в практиці інтенсивної терапії та екстракорпоральній гемокорекції. Розглянено функціональні особливості цього білка в регуляції гомеостазу, його транспортні функції.

Ступінь зв'язування білка, напевно, не можна оцінювати тільки на основі специфічних причин. Треба враховувати молекулярну масу альбуміну, тоді як молекулярна маса глобулінів значно вища. З огляду на це, загальна поверхня частинок в розчині альбуміну значно більша, ніж поверхня частинок в однаковому за масою і концентрацією розчині глобуліну. Крім того, молекули альбуміну значно гнучкіші, тому вони можуть краще і сильніше зв'язуватися з чужорідними сполуками, які з ними взаємодіють.

Альбумін – головний білок у процесі зв'язування, його частка – близько 60 % від загальної кількості білка в плазмі крові, зв'язує більшість лікарських препаратів, а також велику кількість ендogenous речовин, таких, як жирні кислоти і білірубін [5, 6, 7, 10, 11].

Лікарські препарати та ендogenous молекули приєднуються до білків крові й тканин відповідно до закону взаємодії мас.

У новонароджених дітей, вагітних жінок, людей старечого віку (незалежно від статі) знижена кількість сироваткового альбуміну [4].

Зміни зв'язування речовин білками спостерігаються при різних патологічних станах. Це може бути пов'язано зі зміною концентрації білків за умов патології. У пацієнтів із захворюваннями печінки часто знижена концентрація альбуміну в плазмі, а глобулінова фракція збільшена. Тому накопичення ендogenous речовин, таких, як білірубін, може призвести до конкуренції за рецептор. Суть фундаментальних механізмів зміни зв'язування препарату з білками плазми у хворих на захворювання печінки з'ясовано не до кінця, однак відомо, що в цьому випадку має місце комплексний, мультифакторний процес, який у різних хворих перебігає по-різному, що робить будь-які прогнози утрудненими [4, 10, 12].

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Баранов А.Н., Власова И.М., Салецкий А.М. Исследование процессов агрегации сывороточного альбумина // ЖПС. – 2004. – **71**, № 2. – С. 204-207.
2. Баранов А.Н., Власова И.М., Микрин В.Е., Салецкий А.М. Лазерная корреляционная спектроскопия процессов денатурации сывороточного альбумина // ЖПС. – 2004. – **71**, № 6. – С. 831-835.
3. Власова И.М., Платов А.В. Применение корреляционной спектроскопии для определения размеров и формы молекул сывороточного альбумина // В сборнике трудов III Международной конференции молодых ученых и специалистов "Оптика-2003". – С. Пб.: ГУ ИТМО, 2003. – С. 292-293.
4. Гонський Я.І., Максимчук П.П., Калинский М.І. Біохімія людини: Підручник. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – С. 45-66, 391-432.
5. Комарова М.Н., Грызунов Ю.А. Строение молекулы альбумина и ее связывающих центров (обзор литературы). – М.: ГЭОТАР Медицина, 1998. – С. 28-51.
6. Коробков А.А. Комплексообразующие средства сывороточных белков при синдроме длительного раздавления и их модификация пентоксифиллином // Буковин. мед. журнал. – 2001. – **5**, № 1. – С. 170-173.
7. Костюченко А.Л., Гуревич К.Я. Терапевтическое использование растворов альбумина. Мифы и реальность // Эфферент. терапия. – 1997. – **3**, № 3. – С. 9-15.
8. Лопухин Ю.М., Добрецов Г.Е., Грызунов Ю.А. Конформационные изменения молекулы альбумина: новый тип реакции на патологический процесс // Бюл. экперим. биол. и мед. – 2000. – № 7. – С. 4-9.
9. Лук'янчук В.Д., Кравець Д.С., Болгов Д.М. та ін. Експериментальне визначення взаємодії лікарських засобів із сироватковим альбуміном // Метод. рекомендації, К.: ДФЦ МОЗ України, 2004. – 31 с.
10. Мартинов А.В., Смілянська М.В., Перемод С.Д. Противірусна дія поліаніонного альбуміну у вигляді терапевтичної системи С-2 // Ліки. – 2002. – № 1. – С. 39-40.
11. Родоман Г.В., Шалаева Т.И., Дынжинова Т.В. Сывороточный альбумин при синдроме системной воспалительной реакции и полиорганной недостаточности // Инфекции в хирургии. – 2004. – **2**, № 3. – С. 12-16.
12. Романова О.О., Дюбно Т.С., Морозова Т.Ф., Тіманюк В.О. Спектральні характеристики водних розчинів сироваткового альбуміну бика при низькоенергетичному лазерному опроміненні компонентів розчину // Укр. радіол. журн. – 2004. – № 1. – С. 58-62.
13. Balan U., Nelcon D.R., Silkowski M.C. et al. Modulation of interferon-specific gene expression by



albumin-interferon-alpha in interferon-alpha experienced patients with chronic hepatitis C // *Antiviral Therapy*. – 2006. – № 11 (7). – P. 901-908.

14. Maggs J.L., Pirmohamed M., Kitteringham N.R., Park B.R. Characterization of the metabolites of carbamazepine in patient urine by liquid chromatography, mass spectrometry // *Drug. Metab. Dispos.* – 1997. – **25**, № 3. – P. 275-280.

15. Peng T., Li L.O., Peng M.H. et al. Is correction for protein concentration appropriate for protein adduct asymmetry? Hypothesis and class from an aflatoxin B<sub>1</sub>-

exposed population // *Cancer Science*. – 2007. – **98**, № 2. – P. 140.

16. Uehida Y., Okuzumi Y., Fujishiro M. et al. Controversies in the determination of serum albumin concentration in chronic liver diseases // *The Japanese Journal of Clinical Pathology*. – 2006. – № 54 (10). – P. 1008.

17. Wu H.C., Wang O., Wang L.W. et al. Polycyclic aromatic hydrocarbon and aflatoxin-albumin adducts, hepatitis B virus infection and hepatocellular carcinoma in Taiwan // *Cancer letters*. – 2006. – № 6. – P. 22.

## СВЯЗЫВАЮЩАЯ ФУНКЦИЯ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА

**С.М. Андрейчин, З.С. Скирак**

*ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО*

### Резюме

*В статье отображены свойства альбумина, его функции, участие в поддержании гомеостаза и методы его определения.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** альбумин, сывороточный альбумин, связывающая функция.

## BINDING CAPACITY OF SERALBUMIN

**S.M. Andreychyn, Z.S. Skirak**

*TERNOPII STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY*

### Summary

*The information about properties of albumin, functions, role in homeostasis maintainance and methods of its determination is presented in the article.*

**KEY WORDS:** albumin, seralbumin, binding capacity.

*Отримано 26.06.2007 р.*

**Адреса для листування:** С.М. Андрейчин, вул. С. Бандери, 92, кв. 104, Тернопіль, 46013, Україна.

## ОТРИМАННЯ ТА ІДЕНТИФІКАЦІЯ ОСНОВНОГО МЕТАБОЛІТУ ДИЛТІАЗЕМУ

В.С. Бондар, Ю.П. Медведєва

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Отримано продукт кислотного гідролізу дилтіазему в середовищі 4 М кислоти хлористоводневої. Проведено порівняльне дослідження дилтіазему і отриманого продукту гідролізу за допомогою методу тонкошарової хроматографії. При цьому з використаних систем розчинників оптимальною для розділення нативного препарату й одержаного продукту виявилася система "хлороформ – діоксан – ацетон – 25 % розчин аміаку" (47,5:45:5:2,5), при застосуванні якої метаболіт залишається на лінії старту, а  $R_f$  дилтіазему складає близько 0,39. Розрізнити плями дилтіазему та отриманої сполуки було також можливо за допомогою УФ-світла.

Нативний препарат та отриману сполуку було проаналізовано за допомогою методу ВЕРХ. При цьому абсолютний час утримання для сполуки, одержаної в результаті проведення кислотного гідролізу препарату та метаболіту, виявленого в екстракті з кишечника отруєних дилтіаземом щурів, збігався і складав 6,461 хв, що дало нам змогу ідентифікувати отриману сполуку як один з основних метаболітів дилтіазему.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** дилтіазем, метаболізм, кислотний гідроліз, метаболіт, тонкошарова хроматографія, вискоєфективна рідинна хроматографія.

**ВСТУП.** Препарати з групи блокаторів кальцієвих каналів широко використовують в сучасній медичній практиці для лікування великої кількості серцево-судинних захворювань. У зв'язку з цим, в останні роки відмічено істотне зростання частоти гострих отруєнь препаратами даної групи. Відсутність специфічних антидотів дозволяє віднести отруєння антагоністами іонів кальцію до розряду найбільш небезпечних як для дітей, так і для дорослих. Розробка препаратів з поступовим вивільненням субстанції ще більше ускладнила токсичну ситуацію і призвела до появи особливостей її перебігу, таких, як інфаркти кишечника.

Дилтіазем – препарат з групи блокаторів кальцієвих каналів, похідне бензодіазепіну, досить широко застосовується в сучасній кардіологічній практиці для лікування ішемічної хвороби серця, артеріальної гіпертензії. У літературних джерелах досить часто наводяться випадки інтоксикації цим препаратом, зумовленої як самолікуванням та недотриманням рекомендацій лікаря, так і спробами суїциду [2-3, 6]. Оскільки дилтіазем активно метаболізує в організмі, то аналіз його основних метаболітів також є важливою проблемою.

Дані про співвідношення метаболітів дилтіазему, які утворюються при біотрансформації © В.С. Бондар, Ю.П. Медведєва, 2007.

цього препарату, досить суперечливі. Так, деякі автори вказують на те, що основним метаболітом є нордилтіазем. Але більшість авторів констатує в основному утворення дезацетилдилтіазему, яке, ймовірно, відбувається під дією кислого середовища шлунково-кишкового тракту [1, 4, 5, 7]. Тому для отримання цього похідного нами було проведено кислотний гідроліз нативного препарату.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Гідроліз проводили при температурі 100 °С на водяній бані в середовищі 4 М кислоти хлористоводневої зі зворотним холодильником протягом 1 год. Після охолодження тричі виконували екстракцію порціями хлороформу по 5 мл. Далі водну фазу підлугували 20 % розчином натрію гідроксиду до рН 8-9 і тричі екстрагували порціями хлороформу по 5 мл. Отримані хлороформні екстракти висушували на повітрі й досліджували. Дослідження хлороформних екстрактів показали, що речовина, отримана в результаті гідролізу, як і нативна речовина, потрапляє і до "кислої", і до "лужної" витяжки.

Для аналізу дилтіазему та отриманої сполуки, крім методу тонкошарової хроматографії (ТШХ), також було застосовано такий високочутливий та сучасний метод, як ВЕРХ. Хроматографічний аналіз проводили на рідинному

хроматографі “Hewlett Packard” HP 1100 (США) з УФ-детектором. Використовували колонку хроматографічну обернено-фазну Supelcosil ABZ (сорбент – октадецилсилікагель з привитою фазою  $C_{18}$ ) розміром 250x4,6 мм, розмір пор – 5 мкм. Рухому фазу, яка складалася з розчину А (ацетонітрил) та розчину Б (фосфатний буфер з рН 3,0), подавали в градієнтному режимі – від 10 до 50 % і потім знову до 10 % ацетонітрилу, об’ємна швидкість рухомої фази – 2000 мкл/хв. Температура термостата колонки – 30 °С, детектування проводили при довжині хвилі 240 нм. Відбір проб автоматичний, програмований, забезпечувався автосамплером.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** При аналізі за допомогою методу ТШХ з використаних систем розчинників оптимальною виявилася система “хлороформ – діоксан – ацетон – 25 % розчин аміаку” (47,5:45:5:2,5), при застосуванні якої метаболіт залишається на лінії старту, а  $R_f$  дилтіазему складає близько 0,39, як проявник використовували реактиви Лібермана Драгендорфа. Розрізнити плями дилтіазему та отриманої сполуки було також можливо за допомогою УФ-світла. При цьому плями метаболіту мають в УФ-світлі блакитну флуоресценцію, а виявити таким чином плями нативного препарату неможливо. Відрізнити дилтіазем та отриманий продукт гідролізу за допомогою

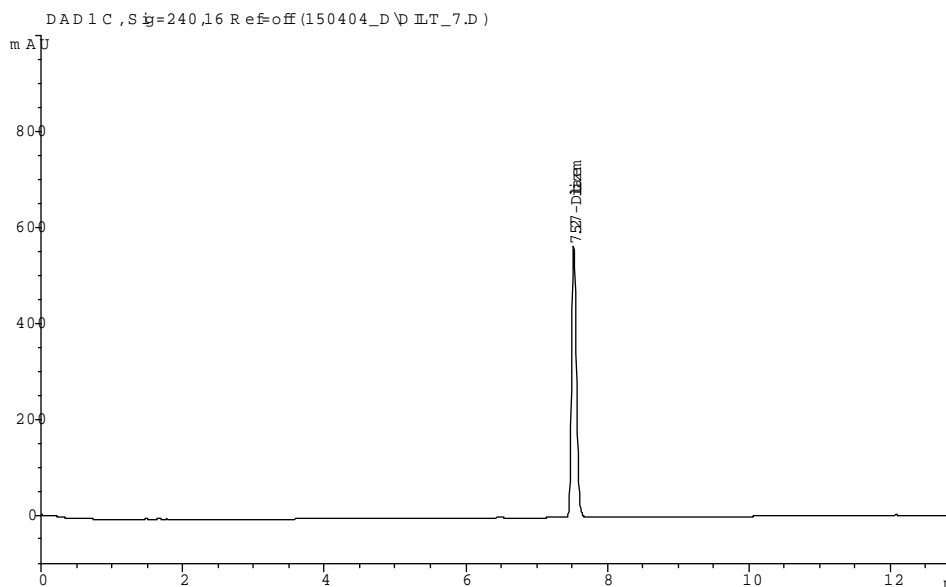


Рис. 1. Хроматограма дилтіазему.

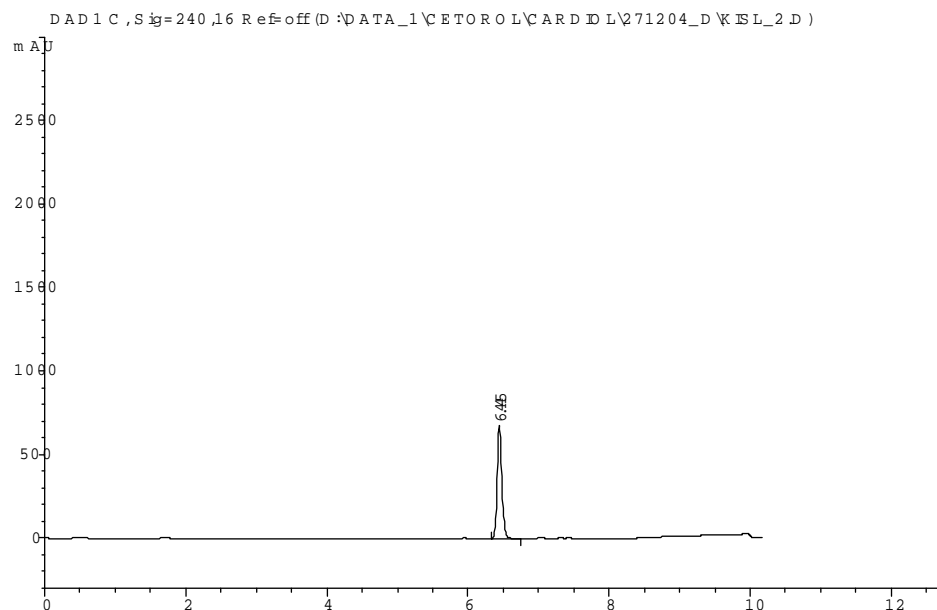


Рис. 2. Хроматограма отриманого продукту кислотного гідролізу дилтіазему.

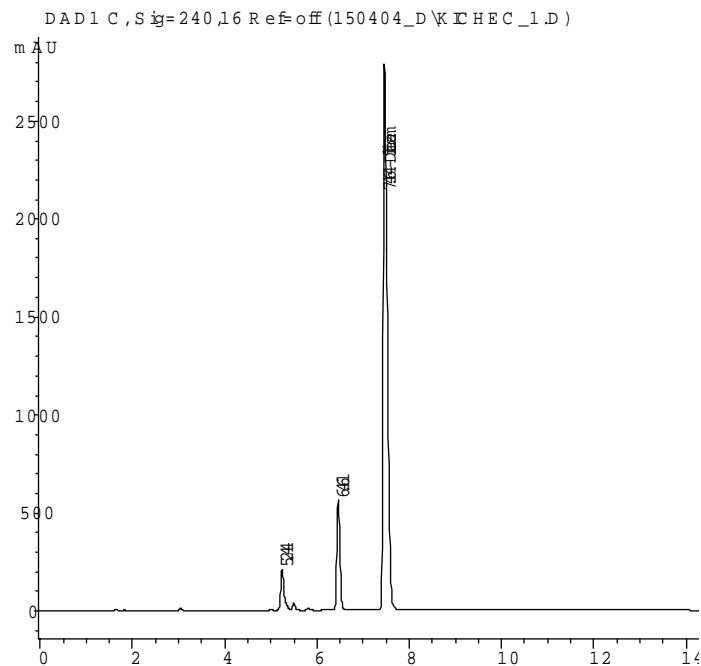


Рис. 3. ВЕРХ хроматограма витяжки, отриманої з кишечника отруєних дилтіаземом щурів.

реакцій забарвлення на пластинках неможливо, оскільки він дає аналогічне до нативного препарату забарвлення з усіма проявниками, з якими реагує дилтіазем.

При застосуванні описаних умов ВЕРХ – хроматографування спостерігалось задовільне розділення дилтіазему та продукту гідролізу. Отримані хроматограми наведено на рисунках 1 і 2. Абсолютний час утримування для сполуки, одержаної в результаті проведення кислотного гідролізу препарату та метаболіту, який було виявлено в екстракті з кишечника отруєних дилтіаземом щурів, збігався і складав 6,461 хв, що дало нам змогу ідентифікувати

отриману сполуку як один з основних метаболітів дилтіазему (рис. 3).

**ВИСНОВКИ.** 1. Отримано продукт кислотного гідролізу дилтіазему в середовищі 4 М кислоти хлористоводневої.

2. Проведено порівняльне дослідження дилтіазему і отриманого продукту гідролізу за допомогою методу ТШХ та визначено умови їх ідентифікації.

3. Розроблено умови для ідентифікації дилтіазему та продукту його гідролізу за допомогою методу ВЕРХ.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Малая Л.Т., Бровкович В.М., Андриевский Г.В. Сочетание ВЭЖХ и масс-спектрометрии при изучении дилтиазема и его метаболитов // Хим.-фарм. журн. – 1990. – **24**, № 8. – С. 11-13.
2. Hedge M. Calcium Channel Blocker Toxicology // Journal of Pharmacy Practice. – 2005. – **18**, № 3. – P. 169-174.
3. Isbister G.K. Delayed asystolic cardiac arrest after diltiazem overdose; resuscitation with high dose intravenous calcium // Emerg. Med.J. – 2002. – **19**. – P. 355-357.
4. Morris R.G., Jones T.E. Diltiazem disposition and

metabolism in recipients of renal transplants // Ther. Drug Monit. – 1998. – **20**, № 4. – P. 365-370.

5. Randal C. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man // Chemical Toxicology Institute, Forest City – California, 2000. – 919 p.

6. Satchithananda D.K., Stone D.L., Chauhan A., Ritchie A.J. Unrecognized accidental overdose with diltiazem // BMJ. – 2000. – **321**. – P. 160-161.

7. Yeung P.K., Feng J.D., Buckley S.J. Pharmacokinetics and hypotensive effect of diltiazem in rabbits: Comparison of diltiazem with its major metabolites // J. Pharm. Pharmacol. – 1998. – **5**, № 1. – P. 1247-1253.

# ПОЛУЧЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ОСНОВНОГО МЕТАБОЛИТА ДИЛТИАЗЕМА

В.С. Бондарь, Ю.П. Медведева  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

## Резюме

Получен продукт кислотного гидролиза дилтиазема в среде 4 М кислоты хлористоводородной. Проведено сравнительное исследование дилтиазема и полученного продукта гидролиза с помощью метода тонкошаровой хроматографии. При этом с использованных систем растворителей оптимальной для разделения нативного препарата и полученного продукта оказалась система "хлороформ – диоксан – ацетон – 25 % раствор аммиака" (47,5:45:5:2,5), при применении которой метаболит остаётся на линии старта, а  $R_f$  дилтиазема составляет около 0,39. Различить пятна дилтиазема и полученного соединения было также возможно с помощью УФ-света.

Нативный препарат и полученное соединение было проанализировано с помощью метода ВЭЖХ. При этом абсолютное время удерживания для соединения полученного в результате проведения кислотного гидролиза препарата и метаболита, обнаруженного в экстракте из кишечника отравленных дилтиаземом крыс, совпадало и составляло 6,461 мин, что дало нам возможность идентифицировать полученное соединение как один из метаболитов дилтиазема.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: дилтиазем, метаболизм, кислотный гидролиз, метаболит, тонкослойная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография.

# OBTAINING AND IDENTIFICATION OF MAIN METABOLITE OF DILTIAZEM

V.S. Bondar, Yu.P. Medvedyeva  
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

## Summary

The product of acid hydrolysis of diltiazem in the 4 M medium of acidum hydrochlorium has been obtained. The comparative investigation of diltiazem and obtained product of hydrolysis has been carried out by the method of TLC. The system of solvents "chlorophorm – diocsan – acetone – 25% solution of ammonia" (47,5:45:5:2,5) has been founded as optimal for division of native substance and obtained product, by chromatographing in it product of hydrolysis retains on the start line and  $R_f$  of diltiazem is near 0,39. It was also possible to distinguish spots of diltiazem and obtained compound with the help of UV-light.

The initial substance and obtained compound have been also investigated by HPLC. The absolute time of retaining for product of hydrolysis and for metabolite, discovering in the extract of intestines of rats, poisoned by diltiazem, coincided and was near 6,461 minutes. This fact gives us possibility to identify this obtained product of acid hydrolysis as one of diltiazem metabolites.

KEY WORDS: diltiazem, metabolism, acid hydrolysis, matabolite, thin-layer chromatography, highly effective liquid chromatography.

Отримано 22.05.2007 р.

Адреса для листування: В.С. Бондар, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна.

## ДОСЛІДЖЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК ВИДІВ РОДУ ЩАВЕЛЬ

А.Р. Грицик

ІВАНО-ФРАНКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

У листках і кореневищах з коренями видів роду щавель виявлено антраценпохідні, вуглеводи, фенольні сполуки (прості феноли та їх глікозиди, флавоноїди, дубильні речовини) та ін. Визначено кількісний вміст суми фенольних сполук, флавоноїдів, дубильних речовин, антраценпохідних в сировині видів роду щавель залежно від фази вегетації та місця зростання. Отримані дані вказують на перспективність використання рослин роду щавель як джерела фенольних сполук.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: види роду щавель, антраценпохідні, дубильні речовини, флавоноїди, сума фенольних сполук.

ВСТУП. Рід щавель належить до родини Гречкові (Polygonaceae), порядку Гречкоцвіті (Polygonales) – одного з найдревніших порядків. В Євразії зустрічається близько 50 видів роду щавель, з них 24 зростає на території України [9, 12, 14, 16, 19].

Види роду щавель (щ.) містять антраценпохідні, серед яких хризофанол, реохризин, емодин, фісціон, дубильні речовини (2-10 %), вуглеводи. Надземна частина видів роду щавель містить гідроксикоричні кислоти, дубильні речовини (4,5-13 %), флавоноїди, антрахінони, аскорбінову кислоту [17].

Корені щ. кінського містять 8-12 % дубильних речовин пірокатехинової та пірогалолової груп, до 4 % похідних антрахінону, серед яких хризофанова кислота й емодин, флавоноїди, ефірна олія, кофейна кислота; плоди – до 1,2 % антрахінонів і дубильні речовини; листки – флавоноїди (гіперозид, рутин), аскорбінову кислоту (782 мг %) і каротин (до 8 мг %). Усі органи містять оксалат кальцію (в коренях і кореневищах до 9 %). Інші види – щ. водяний (*Rumex* (R.) *aquaticus* L.), щ. альпійський (*R. alpinus* L.) і щ. шпінатний (*R. patientia* L.) – можуть застосовуватися нарівні з щ. кінським [3, 13].

Проведено кількісне визначення дубильних речовин у підземних органах і флавоноїдів у листках щавлів пірамідального, красивого і зубчастого. Підтверджено залежність між вмістом мікроелементів та накопиченням вторинних метаболітів – флавоноїдів і дубильних речовин [10].

© А.Р. Грицик, 2007.

З коренів щ. зубчастого виділено хризофанол, фісціон, емодин, хризофанеїн і глюкоемодин. Вміст суми похідних антрахінону в підземних органах щ. красивого становить 0,32 %, щ. зубчастого – 0,34 %, щ. пірамідального – 0,61 % [11].

Кореневища з коренями щ. кучерявого містять антрахінони (2,11 %), дубильні речовини (8,36 %); плоди – флавоноїди (2,5 %). Результати досліджень показали, що щ. кучерявий, який зростає на території України, може бути використаний як джерело отримання біологічно активних речовин [1].

Вміст антраглікозидів залежить від виду щавлю і місця зростання рослини. Для видів роду щавель характерні хризофанова кислота, фісціон, емодин, алое-емодин і реїн; найбільш поширені хризофанова кислота й емодин. З дикорослих видів роду щавель перспективними для одержання хризофанової кислоти є *R. arifolius* L. (2,08 % хризофанової кислоти, 5,96 % суми антраглікозидів), *R. alpinus* L. (1,57 % хризофанової кислоти, 4,58 % суми антраглікозидів). Запаси сировини цих видів значні й можуть забезпечити виготовлення хризаробіну [18].

Препарати "кінських" щавлів у малих дозах проявляють в'яжучу дію (за рахунок дубильних речовин), у великих – послаблюючу (за рахунок антраглікозидів, які стимулюють гладкі м'язи товстої кишки). Поєднання в сировині щавлю проносних і протипроносних речовин дозволяє застосовувати його як ефективний послаблюючий засіб при атонії кишечника, як в'яжучий

при діарейі, спастичних і хронічних колітах [2, 13, 17]. Вивчається можливість використання препаратів щавлю для лікування хворих на псоріаз (наявність хризаробіну, який має кератолітичні й кератопластичні властивості). Препарат "Хризаробін" з коренів щавлю тянь-шанського може бути використаний при лікуванні екзематозного процесу в стадії загострення, порошок з коренів щавлю тянь-шанського – як протизапальний і протисвербіжний засіб [15].

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Метою наших досліджень було виділення і вивчення вмісту фенольних сполук підземних і надземних органів видів роду щавель. Об'єктом досліджень були надземні та підземні органи щ. альпійського, щ. карпатського, щ. кінського, щ. кислого, щ. кучерявого, щ. вузьколистого, які заготовляли в Івано-Франківській, Закарпатській і Львівській областях у 2002-2004 роках.

У досліджуваних зразках виявлено амінокислоти, антраценпохідні, вуглеводи, ліпіди, фосфоліпіди, стероїди, фенольні сполуки (прості феноли та їх глікозиди, гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, дубильні речовини), хлорофіли, органічні кислоти, макро- та мікроелементи.

Для кількісної оцінки суми фенольних сполук нами використана методика, яка ґрунтується на спектрофотометричному методі [6]. Кількісний вміст дубильних речовин в сировині визначали за фармакопейною методикою, вміст антраценпохідних – спектрофотометричним методом в перерахунку на хризофанол [5, 8]. Кількісне визначення суми флавоноїдів проводили методом спектрофотометрії з алюмінію хлоридом. Як стандарт використовували рутин, який міститься і в досліджуваних зразках сировини [4, 7].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Результати кількісного визначення суми фенольних сполук, дубильних речовин, антраценпохідних, флавоноїдів у надземних і підземних органах досліджуваних видів наведено в таблиці 1.

Вміст суми фенольних сполук (див. табл. 1) в надземній та підземній частинах видів роду щавель суттєво не відрізняється залежно від місця зростання. Найбільше фенольних сполук нагромаджується у підземній та надземній частинах щ. альпійського (12,0 та 10,7 % відповідно), найменше – у щ. кучерявого (7,7 та 7,2 % відповідно). У сировині, заготовленій у Львівській області, найбільший вміст суми фенольних сполук у листках та коренях щ. кінського, який в 1,3-1,4 раза вищий, ніж у сировині

щ. кучерявого, в 1,2 раза – щ. кислого та в 1,1 раза – щ. вузьколистого. Найбільший вміст суми фенольних сполук у сировині, заготовленій в Івано-Франківській області, нагромаджується у щ. альпійському, найменший – у щ. кучерявому. Вміст суми фенольних сполук у підземній частині щ. альпійського не залежить від місця зростання і перебуває в межах від 11,4 до 12,0 % залежно від фази вегетації.

У ході досліджень було встановлено, що вміст дубильних речовин в підземних органах видів роду щавель становить 4,7-8,5 %; в листках – 4,0-7,8 %. Аналіз отриманих результатів показав, що кількість дубильних речовин в різних видах роду щавель не залежить від місця їх зростання. Найбільший вміст дубильних речовин накопичується в коренях (7,8-8,5 %) та листках (7,3-7,8 %) щ. кінського, найменший вміст досліджуваних речовин у сировині щ. кислого (4,7 та 4,0 % відповідно). Вміст дубильних речовин у коренях щ. кінського переважає в 1,8 раза вміст дубильних речовин у коренях щ. кислого, в 1,6 раза – щ. кучерявого та щ. карпатського, в 1,4 раза – щ. альпійського. Кількісний вміст досліджуваних речовин у листках щ. кінського в 1,9 раза більший, ніж у листках щ. кислого, в 1,7 раза – щ. кучерявого, в 1,4 раза – щ. альпійського, в 1,6 раза – щ. карпатського. За вмістом дубильних речовин сировина щ. кінського та щ. вузьколистого суттєво не відрізняється (7,0-7,8 % – в листках, 7,8-8,5 % – в коренях).

У результаті проведених досліджень встановлено, що вміст антраценпохідних в підземних органах видів роду щавель становить 1,2-3,1 %; в листках – 0,4-0,9 %. Найбільший вміст антраценпохідних нагромаджується у підземній та надземній частинах щ. альпійського (2,7-3,1 % у кореневищах з коренями та 0,7-0,9 % у листках залежно від місця зростання). У сировині щ. кінського вміст антраценпохідних зменшується із збільшенням висоти місця зростання. Так, у листках щ. кінського, заготовлених в околиці м. Ворохти Івано-Франківської області, вміст антраценпохідних в 1,6-1,8 раза менший, ніж в листках щ. кінського, заготовлених в низинних районах; в коренях – в 1,1 раза менший, ніж у відповідній сировині щ. кінського. У сировині щ. кучерявого, заготовленій в Івано-Франківській області, вміст антраценпохідних в 1,4 раза більший у коренях та в 1,8 раза більший у листках, ніж в сировині, заготовленій у Львівській області. Сировина щ. карпатського та щ. вузьколистого за вмістом антраценпохідних суттєво не відрізняється і становить 0,5-0,7 % у листках та 1,8-2,6 % у коренях залежно від місця

Таблиця 1 – Вміст біологічно активних речовин в надземних і підземних органах видів роду щавель

Місце і рік заготівлі сировини	Рослина	Сировина	Фаза вегетації	Вміст БАР, %, $\bar{x} \pm \Delta x$ , n = 9				
				Сума фенольних сполук	Дубильні речовини	Антрацен-похідні	Флавоноїди	
1	2	3	4	5	6	7	8	
Львівська область, Яворівський район, окол. с. Рокитно, 2002 рік	Щ. кінський	Листки	Масова вегетація	9,8±0,1	7,3±0,1	0,9±0,05	2,2±0,05	
		Корені	Початок вегетації	10,3±0,1	8,4±0,1	2,5±0,05	сліди	
	Щ. кислий	Листки	Масова вегетація	8,0±0,1	4,0±0,1	0,4±0,05	1,6±0,05	
		Корені	Початок вегетації	8,4±0,1	4,7±0,1	1,2±0,05	сліди	
	Щ. кучерявий	Листки	Масова вегетація	7,2±0,1	4,5±0,1	0,4±0,05	1,8±0,05	
		Корені	Початок вегетації	7,7±0,1	5,1±0,1	1,4±0,05	сліди	
	Щ. вузьколистий	Листки	Масова вегетація	8,9±0,1	7,0±0,1	0,5±0,05	2,0±0,05	
		Корені	Початок вегетації	9,3±0,1	7,9±0,1	2,2±0,05	сліди	
	Івано-Франківська область, Надвірнянський район, пол. Пожижевська, 2002 рік	Щ. альпійський	Листки	Масова вегетація	10,5±0,1	6,1±0,1	0,9±0,05	2,7±0,05
			Кореневища з коренями		12,0±0,1	7,0±0,1	3,1±0,05	сліди
		Щ. альпійський	Листки	Цвітіння	10,7±0,1	5,0±0,1	0,7±0,05	2,9±0,05
			Кореневища з коренями		11,4±0,1	5,6±0,1	3,0±0,05	сліди
Щ. карпатський		Листки	Цвітіння	8,6±0,1	4,2±0,1	0,5±0,05	2,1±0,05	
		Корені	Масова вегетація	9,8±0,1	5,3±0,1	2,6±0,05	сліди	
Івано-Франківська область, Надвірнянський район, пол. Пожижевська, 2004 рік	Щ. карпатський	Листки	Цвітіння	9,0±0,1	5,0±0,1	0,7±0,05	2,4±0,05	
		Корені	Масова вегетація	9,4±0,1	5,3±0,1	1,8±0,05	сліди	
Околиці м. Івано-Франківська, 2002 рік	Щ. кінський	Листки	Масова вегетація	10,0±0,1	7,8±0,1	0,8±0,05	2,0±0,05	
		Корені		10,4±0,1	8,5±0,1	2,6±0,05	сліди	
	Щ. кучерявий	Листки	Масова вегетація	7,8±0,1	4,1±0,1	0,7±0,05	1,9±0,05	
		Корені		8,6±0,1	5,3±0,1	2,0±0,05	сліди	
Івано-Франківська область, Надвірнянський район, окол. м. Ворохти, 2002 рік	Щ. кінський	Листки	Масова вегетація	10,2±0,1	7,5±0,1	0,5±0,05	2,4±0,05	
		Корені		10,9±0,1	7,8±0,1	2,3±0,05	сліди	
Закарпатська область, Рахівський район, г. Шешул, 2002 рік	Щ. альпійський	Кореневища з коренями	Цвітіння	11,6±0,1	6,4±0,1	3,0±0,05	сліди	
Закарпатська обл., Рахівський район, г. Шешул, 2004 рSR	Щ. альпійський	Кореневища з коренями	Цвітіння	12,0±0,1	5,8±0,1	2,7±0,05	сліди	

зростання. Найнижчий вміст антраценпохідних в листках та коренях щ. кислого (0,4 та 1,2 % відповідно).

Як свідчать дані, наведені в таблиці 1, кількість флавоноїдів у надземних органах видів роду щавель становить 1,6-2,9 %. Найбільша

кількість флавоноїдів міститься у листках щ. альпійського (2,9 %), найменша – у листках щ. кислого (1,6 %). Місце зростання не впливає на нагромадження флавоноїдів в окремих видах роду щавель. Вміст флавоноїдів у листках щ. альпійського в 1,2 раза більший, ніж у лист-



ках щ. кінського, в 1,3 раза – щ. карпатського, в 1,4 раза – щ. вузьколистого, в 1,5 раза – щ. кучерявого і в 1,8 раза – щ. кислого. У підземних органах усіх видів роду щавель вміст флавоноїдів незначний.

**ВИСНОВКИ.** 1. Виявлено амінокислоти, антраценпохідні, вуглеводи, ліпіди, фосфоліпіди, стероїди, фенольні сполуки (прості феноли та їх глікозиди, гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, дубильні речовини), хлорофіли, органічні кислоти, макро- та мікроелементи в досліджуваних зразках сировини.

2. У досліджуваних об'єктах визначено кількісний вміст суми фенольних сполук, флавоноїдів, дубильних речовин, антраценпохідних. У сировині видів роду щавель максимальний вміст фенольних сполук нагромаджується в кореневищах з коренями щавлю альпійського (12,0 %). Вміст дубильних речовин в підземних органах видів роду щавель становить 4,7-8,5 %; в листках – 4,0-7,8 %; антраценпохідних – 1,2-3,1 і 0,4-0,9 % відповідно. Кількість флавоноїдів у надземних органах видів роду щавель складає 1,6-2,9 %; найбільше їх у листках щавлю альпійського – 2,9 %.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Абу Захер Кхалед, Журавлев Н.С. Фитохимическое изучение *Rumex Crispus* L. флоры Украины // Провизор. – 2002. – № 1. – С. 40-41.

2. Антосяк В.М. Географическое распространение и биологические особенности щавля альпийского // Тр. VIII конф. мол. ученых ВНИИ лекарств. раст. – М., 1988. – С. 10-12. – Деп. в ВИНТИ 25.01.88, № 627 – 1388.

3. Бензель Л.В., Роговська Л.Я., Витрикуш Л.І. та ін. Види роду щавель – перспективні джерела біологічно активних речовин // Тези доповідей III Української конференції з медичної ботаніки. – К., 1992. – С. 18-22.

4. Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений. – Новосибирск: Наука, сиб. отд-е, 1990. – 333 с.

5. Государственная Фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1989. – 400 с.

6. Грицик Л.М., Бензель Л.В. Стандартизація листків кремені гібридної // Ліки України. – 2005. – № 9 (додаток). – С. 110-111.

7. Грицик А.Р., Бензель Л.В., Роговська Л.Я. Дослідження щавлю альпійського флори Карпат // Фармац. журн. – 1997. – № 1. – С. 106-109.

8. Данилова Н.А., Беляков К.В., Попов Д.М. Идентификация и количественное определение антраценпроизводных в корнях щавеля конского // Фармация. – 2000. – № 5-6. – С. 26-28.

9. Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні у 2006 р. – К.: АЛЕФА, 2006. – 229 с.

10. Журавльов М.С., Абу Захер Кхалед, Ковальов С.В. Вивчення біологічно активних речовин представників роду щавель // Вісник фармації. – 2000. – № 4 (24). – С. 14-17.

11. Журавльов М.С., Ковальов В.М., Абу Захер Кхалед. Антрахінони деяких видів роду щавель // Фізіологічно активні речовини. – 2000. – № 1 (29). – С. 79-81.

12. Лебеда А.П. Інвентаризація флори України (Лікарські рослини – носії антраценпохідних). – К.: Академперіодика, 2003. – 56 с.

13. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. А.М. Гродзінський. – К.: Голов. ред. УРЕ, 1990. – 544 с.

14. Малиновський К.А. Рослинність високогір'я Українських Карпат. – К.: Наукова думка, 1980. – С. 249-251.

15. Противовоспалительное и противозудное средство "Хризаробин": А.с. 704619 СССР, А 61 К35/78 / Т.К. Чумбалов, Р.А. Музычкина, О.Ж. Сейкетова. – № 1222096/28.13; Заявл. 23.02.68; Опубл. 25.12.79. – 2 с.

16. Растительные ресурсы России и сопредельных государств: Часть I – Семейства Lycopodiaceae – Ephemeraeae, часть II – Дополнения к 1-7-му томам. – С.Пб.: Мир и семья – 95, 1996. – 571 с.

17. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их хим. состав, использование; Семейство Magnoliaceae – Liliaceae. – Л.: Наука, 1984. – 460 с.

18. Романова А.С., Баньковский А.И. Об изыскании природных источников получения хризаробина // Мед. пром-сть СССР. – 1961. – № 1. – С. 16-21.

19. Флора УРСР. – К.: АН УРСР, 1952. – Т. 4. – С. 233-257.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ВИДОВ РОДА ЩАВЕЛЬ

**А.Р. Грицык**

ИВАНО-ФРАНКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

### Резюме

В листьях и корневищах с корнями видов рода щавель выявлено антраценпроизводные, углеводы, фенольные соединения (простые фенолы и их гликозиды, флавоноиды, дубильные вещества) и др. Определено количественное содержание суммы фенольных соединений, флавоноидов, дубильных веществ, антраценпроизводных в сырье видов рода щавель в зависимости от фазы вегетации и места произрастания. Полученные результаты указывают на перспективность использования растений рода щавель как источника фенольных соединений.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** виды рода щавель, антраценпроизводные, дубильные вещества, флавоноиды, сумма фенольных соединений.

## INVESTIGATION OF PHENOLIC COMPOUNDS OF RUMEX FAMILY SPECIES

**A.R. Hrytsyk**

IVANO-FRANKIVSK STATE MEDICAL UNIVERSITY

### Summary

It was identified the presence of the antracene derivatives, carbohydrates phenolic compounds (simple phenols and their glycosides, flavonoids, tannins) and others in the Rumex family species leaves and roots with rhizomes. Depending on the vegetation phase and growing places there was estimated the quantitative content of sum of the phenolic compounds, flavonoids, tannins, antracene derivatives in the Rumex species raw material. The results obtained show the perspective use of the Rumex family plants as a source of phenolic compounds.

**KEY WORDS:** Rumex species, antracene derivatives, tannins, flavonoids, sum of phenolic compounds.

Отримано 20.08.2007 р.

**Адреса для листування:** А.Р. Грицик, Івано-Франківський державний медичний університет, вул. Галицька, 2, Івано-Франківськ, 76018, Україна.

**Для отримання оперативної інформації звертайтеся  
до нашої сторінки в Інтернеті:  
[www.tdmu.edu.te.ua](http://www.tdmu.edu.te.ua)**

## ПОРУШЕННЯ ЛІПІДНОГО ТА ВУГЛЕВОДНЕВОГО ОБМІНУ І МЕТОДИ ЇХ КОРЕКЦІЇ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ

**В.М. Мерецький**

*ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО*

*Вивчено вплив нового фітопрепарату "Глюкофїт" на розвиток дексаметазонового цукрового діабету, показники ліпідного обміну в щурів порівняно зі збором "Арфазетин". Показано, що введення фітопрепарату "Глюкофїт" сприяє зниженню рівня глікемії та чинить позитивний вплив на ліпідний обмін, що свідчить про перспективність його застосування для попередження та зменшення проявів цукрового діабету.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** цукровий діабет, лікарські рослини, вуглеводневий, ліпідний обмін.

**ВСТУП.** Цукровий діабет (ЦД) є найбільш розповсюдженим ендокринологічним захворюванням. В останні роки ми спостерігаємо цікаве явище: проблеми цукрового діабету присвячена величезна кількість наукових робіт, проте число хворих на цю тяжку недугу невинно зростає, а сам діабет "молодшає". Незважаючи на успіхи в діагностиці та лікуванні ЦД, гострота проблеми у XXI сторіччі не зменшується, а навпаки, зростає. Прогноз спеціалістів про те, що кількість хворих на ЦД кожні наступні 12-15 років буде подвоюватися, справджується. На цукровий діабет може захворіти кожний п'ятнадцятий житель планети [2, 5, 10]. Драматизм ситуації полягає ще й у тому, що кількість хворих із прихованим перебігом захворювання у 2-3 рази перевищує число пацієнтів із виявленим діабетом.

На значимість проблеми вказує також той факт, що серед причин смерті від соматичних захворювань діабет та його ускладнення посідають третє місце після серцево-судинних та онкологічних захворювань. Отже, як у біологічному і клінічному, так і в соціальному аспектах цукровий діабет – проблема комплексна. Тому розробка нових підходів до фармакотерапії цього захворювання залишається актуальним на сьогодні питанням [3, 12].

Специфічною для ЦД є наявність гіперглікемії. Глюкоза, потрапляючи у хімічні сполуки з компонентами крові та стінок судин, здатна посилювати атерогенні властивості класичних факторів ризику атерогенезу. Зокрема, дове-

дено, що гіперглікемія, беручи участь у процесі неферментного глікозилювання ліпідів сироватки крові, підвищує атерогенність фракцій холестерину (ХС) і тригліцеридів (ТГ) за умов ЦД [4, 9]. Уже при порушенні толерантності до глюкози, коли її рівень у крові тільки незначно підвищений, спостерігається підвищення ризику виникнення ішемічної хвороби серця, цереброваскулярних порушень, ураження периферичних судин більше ніж вдвічі [1, 11].

Для медикаментозного лікування ЦД на сьогодні існує арсенал препаратів, що мають різні механізми дії і можуть використовуватися як у вигляді монотерапії, так і в різних комбінаціях.

У пошуках нових можливостей лікування ЦД лікарі все частіше застосовують лікарські рослини та фітопрепарати. Відомо понад 150 видів рослин з цукрознижувальними властивостями [3, 6]. Використання фітотерапії, яка звичайно не є заміною спеціальної терапії, дозволяє спеціалісту вирішити певні завдання: частково відтворити або посилити ефекти ряду пероральних протидіабетичних препаратів з можливим зниженням їх дози і побічних ефектів; активізувати синтез інсуліну, посилюючи його дію на рівні тканин; стимулювати процеси регенерації бета-клітин підшлункової залози; покращити роботу всіх ланцюгів імунної системи організму; відновити вторинні порушення обміну речовин в цілому та гормонів зокрема; забезпечити профілактику ускладнень з боку серцево-судинної, нервової, опорно-рухової, сечовидільної систем організму хворого та ін.

Метою роботи стало вивчення гіпоглікемічної дії комплексного фітопрепарату “Глюкофiт” та його впливу на показники ліпідного обміну. Препарат “Глюкофiт” виготовлений за новою оригінальною технологією, до його складу входять трава материнки, листя чорниці й мучниці, квіти нагідок та інші лікарські рослини, що здавна використовуються в народній медицині для зниження рівня цукру в крові як окремо, так і у вигляді різноманітних зборів, а також комплекс мікроелементів (цинк, мідь, селен та ін.).

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Досліди виконували на статевозрілих щурах масою 200-250 г. Їх утримували в стандартних умовах віварію на повноцінному харчовому раціоні з вільним доступом до води. Дослідження проводили відповідно до національних Загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Україна, 2001). Щурів було поділено на такі групи: 1-ша – інтактний контроль, 2-га – контрольна патологія (тварини, в яких викликали експериментальний ЦД шляхом підшкірного введення розчину дексаметазону в дозі 0,125 мг/кг протягом 13 діб). Розвиток ЦД під впливом дексаметазону оцінювали, визначаючи концентрацію глюкози в крові щурів, отриманої з хвостової вени. Діабетиками вважали тварин, у яких рівень глікемії становив більше 12 ммоль/л. До 3-ї групи ввійшли щури, яким на фоні введення дексаметазону у вказаній дозі вводили 1 раз на день препарат “Глюкофiт” внутрішньошлунково за допомогою металевого зонда в дозі 10 мл/кг маси тіла впродовж 13 діб. Як препарат порівняння було обрано антидіабетичний збір “Арфазетин”. Тварини 4-ї групи на фоні введення дексаметазону в зазначеній дозі отримували збір “Арфазетин” внутрішньошлунково в дозі 10 мл/кг маси тіла протягом 13 діб. До 5-ї і 6-ї груп ввійшли щури, які отримували після діагностованого ЦД препарат “Глюкофiт” та збір “Арфазетин” відповідно у вищевказаних дозах за наведеними методиками протягом 15 діб. До 7-ї групи – тварини, які слугували контролем для 5-ї і 6-ї дослідних груп, їм вводили фізіологічний розчин вищевказаним способом протягом 15 діб після діагностованого ЦД.

Стан глюкозного гомеостазу оцінювали за вмістом глюкози у венозній крові. У сироватці крові експериментальних тварин визначали вміст загального холестерину та тригліцеридів. Усі дослідження виконано за допомогою напівавтоматичного біохімічного аналізатора Humalyser-2000 з використанням наборів реактивів “Human” (Німеччина). Статистичну

обробку отриманих даних проводили із застосуванням параметричного критерію Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Як свідчать результати експерименту (табл. 1), у тварин контрольної патології через 13 діб після введення дексаметазону розвивалася виражена гіперглікемія – концентрація глюкози в них у 3,6 раза перевищувала значення інтактного контролю. Така ж тенденція спостерігається відносно загального холестерину та тригліцеридів, рівень яких перевищував аналогічні показники інтактних тварин у 2,1 і 3,3 раза відповідно.

У групах тварин, яким на фоні введення дексаметазону призначали фітопрепарат “Глюкофiт” та збір “Арфазетин” впродовж 13 діб, спостерігалось вірогідне зниження досліджуваних біохімічних показників порівняно з контрольною патологією. Так, кількість глюкози в крові зменшилась на 38,8 %, загального холестерину – на 37,3 %, тригліцеридів – на 41,9 % у 3-й експериментальній групі та на 36, 32,7 і 37,1 % відповідно у 4-й. Паралельне призначення збору “Арфазетин” і препарату “Глюкофiт” (застосування у профілактичному режимі) сприяло менш вираженій маніфестації ЦД, викликаного дексаметазоном, причому ефективність останнього була більшою.

Дані, отримані у групах тварин, яким досліджували препарати вводили після діагностованого ЦД у лікувальному режимі (5-та і 6-та групи), свідчать про зниження концентрації глюкози, загального холестерину та ліпідів, вірогідне відносно контрольної патології, проте менш виражене, ніж у щурів 3-ї та 4-ї груп. Так, 15-денне призначення фітопрепарату “Глюкофiт” призводило до зниження глікемії на 33,8 %, рівень холестерину зменшувався на 25,7 %, тригліцеридів – на 31,4 %. В експериментальних тварин, які отримували збір “Арфазетин” протягом 15 днів, вказані показники зменшились на 33,1, 25,1 і 29,5 % відповідно.

У щурів 7-ї групи, яким після розвитку ЦД 15 днів вводили фізіологічний розчин внутрішньошлунково у вищевказаній дозі, також спостерігалось зниження рівня глюкози, холестерину та тригліцеридів – на 8,5, 2,2 і 3,9 % відповідно, проте ці зміни були недостовірними відносно показників групи контрольної патології. Це незначне покращання біохімічних даних, ймовірно, пояснюється адаптивними можливостями організму експериментальних тварин.

З огляду на отримані результати, можна стверджувати, що призначення фітопрепарату “Глюкофiт” на фоні введення дексаметазону (тварини 3-ї групи) має найкращий корегу-

Таблиця 1 – Вплив досліджуваних препаратів на біохімічні показники експериментальних тварин за умов дексаметазонового діабету ( $M \pm m$ )

Група тварин	Показник		
	Глюкоза, ммоль/л	Загальний холестерин, ммоль/л	Тригліцериди, ммоль/л
Інтактний контроль	3,52±0,29	2,37±0,19	0,32±0,04
Контрольна патологія	12,79±0,36*	5,02±0,25*	1,05±0,12*
3-тя група	7,83±0,26**	3,15±0,31**	0,61±0,07**
4-та група	8,18±0,31**	3,38±0,39**	0,66±0,09**
5-та група	8,47±0,28**	3,73±0,23**	0,72±0,04**
6-та група	8,56±0,30**	3,76±0,26**	0,74±0,07**
7-ма група	11,71±0,38	4,91±0,31	1,01±0,09

Примітка. n=8 – кількість тварин у кожній групі; \* – вірогідно відносно інтактного контролю ( $p < 0,05$ ); \*\* – вірогідно відносно контрольної патології ( $p < 0,05$ ).

вальний вплив на показники вуглеводного та ліпідного обміну серед усіх наведених груп. На наш погляд, гіпоглікемічні та гіполіпідемічні властивості препарату можуть бути зумовлені декількома чинниками. Перш за все, це багатий склад фітопрепарату за вмістом лікарських рослин порівняно зі збором “Арфазетин”, адже глюкофіт містить 12 рослинних середників. Окрім традиційних гіпоглікемізуючих рослин, до його складу ввійшли нагідки, ортосифон, звіробій, шавлія та ін., які проявляють комплексну дію на організм, впливають на неспецифічну реактивність та координують метаболізм.

До переваг глюкофіту слід також віднести наявність макро- та мікроелементів (мідь, цинк, марганець, хром та ін.), оскільки відомо, що ЦД є складним мікроелементозом, у розвитку і перебізі якого велику роль відіграє дисбаланс макро- та мікроелементів. Так, наприклад, хром бере участь у регуляції вуглеводного обміну та рівня глюкози в крові, оскільки є компонентом низькомолекулярного органічного комплексу – фактора толерантності до глюкози. Він нормалізує використання її клітинами і депонування, функціонує в одному напрямку з інсуліном [8]. Хром також збільшує чутливість клітинних рецепторів тканин до інсуліну, полегшуючи їх взаємодію та зменшуючи потребу організму в ньому. Відомо, що дефіцит хрому призводить до підвищення рівня тригліцеридів і холестерину в плазмі крові [6], тому включення цього мікро-

елемента до складу фітопрепарату “Глюкофіт” є одним із чинників поліпшення ліпідного обміну за умов експериментального ЦД.

Окремої уваги заслуговує структура фітопрепарату “Глюкофіт”. Даний засіб виготовлений на основі унікальної технології з використанням структурновпорядкованої води. Відомо, що така вода є ідентичною до внутрішньоклітинної рідини організму. Тому фітопрепарати, створені на її основі, є ліотропними природними рідкими кристалами, що, у свою чергу, забезпечує кращу сумісність з організмом людини, проникність через клітинну оболонку всередину клітини, а це суттєво підсилює їх терапевтичний ефект [7].

**ВИСНОВКИ.** Застосування комбінованих рослинних препаратів зменшує маніфестацію індукованого дексаметазоном цукрового діабету за основними показниками вуглеводного та ліпідного обміну в експериментальних тварин. Фітопрепарат “Глюкофіт” перевищує властивості збору “Арфазетин” за гіпоглікемічною та гіполіпідемічною діями в умовах експерименту і є перспективним засобом щодо попередження та зменшення проявів цукрового діабету. Незважаючи на різноманітність сучасної фармакотерапії, яка пропонує численні засоби, поява нових ефективних комбінованих препаратів на основі лікарських рослин є доцільною відносно адекватності, економічності й доступності для застосування з профілактичною та лікувальною метою.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Братусь В.В., Талаева Т.В. Диабет и атеросклероз. 2. Роль нарушения толерантности к глюкозе и гипергликемии в патогенезе атеросклероза // Укр. кардіол. журн. – 2001. – № 2. – С. 126-132.
2. Зиммет П. Быстрый рост распространенности

сахарного диабета II типа и угроза эпидемии этого заболевания в будущем // Укр. мед. часопис. – 2002. – № 3 (29). – С. 5.

3. Моисеев В.С. Современные подходы к лечению нарушенной углеводного обмена в общей прак-

тике // Фарматека. – 2005. – № 10. – С. 16-20.

4. Наумчик Н.С., Єфімов А.С. Лабораторна діагностика цукрового діабету та його ускладнень // Лаб. діагностика. – 2002. – № 3. – С. 3-6.

5. Тронько Н.Д. Современные проблемы диабетологии // Журн. АМН України. – 2000. – 6, № 3. – С. 460-470.

6. Чекман І.С. Клінічна фітотерапія. – К.: Вид-во А.С.К., 2003. – 552 с.

7. Штрубе Ю., Штольц П. Электромагнитные структурные отображения (EMSA) как действие принципа передачи информации при потенцировании лекарств // Биол. терапия. – 2001. – № 1. – С. 5-13.

8. Щербак С.О., Бірюкова Л.М., Кирієнко Д.В. Про доцільність застосування сполук хрому при лікуванні цукрового діабету // Фармац. журн. – 2002. – № 4. –

С. 93-97.

9. Яфасов К.М., Дубянская Н.В. Дислипидемия при сахарном диабете II типа: патогенез и лечение // Кардиология. – 2001. – № 9. – С. 74-77.

10. American Diabetes Association. Diabetes and classification of diabetes mellitus // Diabetes Care. – 2004. – 27 (suppl. 1). – P. 5-10.

11. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) // JAMA. – 2001. – 285. – P. 2486-2497.

12. Wild S., Roglic G., Green A. et al. Global prevalence of diabetes. Estimates for the year 2000 and projections for 2030 // Diabetes Care. – 2004. – 27. – P. 1047-1053.

## НАРУШЕНИЯ ЛИПИДНОГО И УГЛЕВОДОРОДНОГО ОБМЕНА И МЕТОДЫ ИХ КОРРЕКЦИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

**В.М. Мерецкий**

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

### Резюме

*Изучено влияние нового фитопрепарата “Глюкофит” на развитие дексаметазонового сахарного диабета, показатели липидного обмена у крыс по сравнению со сбором “Арфазетин”. Показано, что введение фитопрепарата “Глюкофит” способствует снижению уровня гликемии и оказывает положительное влияние на липидный обмен, что свидетельствует о перспективности его применения для предупреждения и уменьшения проявлений сахарного диабета.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** сахарный диабет, лекарственные растения, углеводородный, липидный обмен.

## DISTURBANCES OF LIPID AND CARBOHYDRATE EXCHANGE AND METHODS OF THEIR CORRECTION AT THE EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

**V.M. Meretsky**

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I. YA. HORBACHEVSKY

### Summary

*The influence of new agent “Glucofit” on development of dexamethason diabetes mellitus, indexes of lipid exchange at rats in comparison with “Arfazetin” collection has been researched. It has been shown that “Glucofit” using promotes the decrease of glycemia and renders the positive effect on lipid exchange, that testifies to the perspectiveness of its application for prevention and reduction of diabetes mellitus sings.*

**KEY WORDS:** diabetes mellitus, medical plants, carbohydrate, lipid exchange.

Отримано 17.09.2007 р.

**Адреса для листування:** В.М. Мерецький, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м.Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

УДК [616.33-008.3: 616.33-002.44- -22:579.835.12: 616-056.52]-092

**ВПЛИВ ЕКЗОГЕННОГО МЕЛАТОНІНУ НА ЕКСКРЕЦІЮ  
6-СУЛЬФАТОКСИМЕЛАТОНІНУ ТА РІВНІ ЛЕПТИНУ І ГРЕЛІНУ У ХВОРИХ  
НА ФУНКЦІОНАЛЬНУ ДИСПЕПСІЮ З НАДЛИШКОВОЮ МАСОЮ ТІЛА**

**О.Г. Гапонова, І.В. Шуть**  
*ДУ "ІНСТИТУТ ТЕРАПІЇ ІМ. Л.Т. МАЛОЇ АМН УКРАЇНИ", ХАРКІВ*

*Обстежено 62 хворих на функціональну диспепсію з надлишковою масою тіла. Встановлено, що екзогенний мелатонін (в дозі 3 мг на ніч протягом 3 тижнів) проявляє нормалізуючий ефект на вміст 6-сульфатоксимелатоніну в сечі та сироватковий рівень греліну, а також вірогідно знижує рівень лептину в сироватці крові.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** мелатонін, лептин, грелін, надлишкова маса тіла, функціональна диспепсія, нейроендокринна регуляція.

ВСТУП. Основним клінічним проявом функціональних розладів верхніх відділів шлунково-кишкового тракту (ШКТ) є диспепсія (порушення травлення), виникнення якої більшою чи меншою мірою пов'язане з прийманням їжі. Нейроендокринній системі належить важлива роль в реалізації механізмів харчової поведінки та підтримування енергетичного гомеостазу в організмі людини [4]. Порушення рівноваги антагоністичного впливу гормонів на споживання їжі та процеси ліпостазу призводять до збільшення маси тіла (МТ) і розвитку ожиріння, при нарощуванні якого посилюється ступінь тяжкості ураження органів ШКТ. З даних літератури відомо, що такою парою гормонів можуть бути лептин (адипоцитокін, що найінтенсивніше секретується до крові підшкірною жировою клітковиною) та грелін (пептид, виділений з епітеліальних клітин дна шлунка), які справляють свій вплив як через рецептори в нейронах гіпоталамуса (основний орган-мішень) та екстрагіпоталамічних структурах мозку, так і в периферичних тканинах (наприклад, у функціонально активних APUD-клітинах органів ШКТ) [3, 6]. Якщо лептин знижує апетит, зменшує накопичення жиру, збільшує швидкість ліполізу (при нарощуванні маси тіла його концентрація підвищується, при ожирінні спостерігається лептинорезистент-

ність [2]), то грелін діє прямо протилежно [9]. Відомості про вплив греліну на шлункову секрецію і перистальтику суперечливі [1, 8].

Результати досліджень, виконаних на експериментальних тваринах, дозволяють припустити, що мелатонін (основний епіфізарний гормон), який має численні регуляторні властивості, може справляти нормалізуючий вплив на патологічні процеси, що виникають внаслідок дисбалансу гормональної регуляції, в тому числі й вищезазначених гормонів [5, 7].

У зв'язку з цим, метою роботи стало з'ясування впливу екзогенного мелатоніну на зміни концентрації лептину та греліну у хворих з функціональною диспепсією (ФД) і надлишковою масою тіла (НМТ).

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Обстежено 94 хворих на *Helicobacter pylori*-негативну ФД, з них 71 жінку та 23 чоловіка. Для вивчення впливу НМТ на вміст мелатоніну, лептину, греліну й розвиток основного захворювання їх було поділено на 2 групи за індексом маси тіла (ІМТ). До 1-ї групи ввійшли 32 особи з нормальною МТ й ІМТ 18-24, 9 кг/м<sup>2</sup>, до 2-ї – 62 хворих з НМТ та ІМТ 25-29,9 кг/м<sup>2</sup>. Контрольну групу склали 31 практично здорова особа з нормальною МТ. У відсотковому співвідношенні кількість чоловіків (25,0 %) та жінок (75,0 %) по групах була однаковою. Середній вік осіб контрольної групи та хворих на ФД з нормальною МТ прак-

© О.Г. Гапонова, І.В. Шуть, 2007.

тично не відрізнявся – (24,3±1,1) років; у групі хворих на ФД з НМТ середній вік був достовірно вищим – (31,8±1,2) років. Вміст мелатоніну в організмі оцінювали за величиною добової екскреції метаболіту мелатоніну – 6-сульфатоксимелатоніну (6-COM) – в ранковій сечі методом імуноферментного аналізу (ІФА) за допомогою стандартного набору реактивів фірми “Buhlmann” (Швейцарія). Враховуючи варіабельність рівня мелатоніну в жінок залежно від фази менструального циклу, забір сечі здійснювали в першу фазу менструального циклу, коли його коливання мінімальні. У сироватці крові методом ІФА визначали рівень лептину за допомогою стандартного набору реактивів фірми “DRG” (Німеччина) та рівень загального греліну – набору реактивів фірми “DSL” (США) на імуноферментному фотометричному аналізаторі HUMAREADER (HUMAN, Німеччина).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням пакета прикладних програм “SPSS 13.0 for Windows”. Для груп вираховували середні значення показників та їх стандартні помилки ( $M \pm m$ , де  $M$  – середня величина,  $m$  – її стандартна помилка). Для порівняння середніх величин використовували непараметричні критерії Манна-Уїтні та Краскела-Уоллеса для незалежних вибірок. Кореляційні зв'язки оцінювали за коефіцієнтом кореляції Спірмена ( $\rho$ ). Вірогідними вважали результати, для яких рівень значущості ( $p$ ) не перевищував 0,05.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Групи хворих на ФД вірогідно відрізнялися за ІМТ: в групі з НМТ середній ІМТ склав (26,9±0,2) кг/м<sup>2</sup>, в групі з нормальною МТ – (20,7±0,4) кг/м<sup>2</sup>. У

контрольній групі середній ІМТ становив (20,7±0,5) кг/м<sup>2</sup>. Визначення рівня гормонів в осіб вказаних груп, результати якого наведено в таблиці 1, виявило вірогідні відмінності показників між групами.

Зокрема, як видно з таблиці, рівень екскреції 6-COM в сечі вірогідно нижчий у хворих на ФД порівняно з контролем, причому в пацієнтів з ФД і НМТ він вірогідно нижчий відносно хворих на ФД з нормальною МТ. У хворих на ФД з нормальною МТ рівень лептину достовірно не відрізнявся від такого у здорових осіб. Концентрація лептину в сироватці крові вірогідно підвищена у хворих на ФД з НМТ порівнян з особами, які мають нормальну МТ, як із симптомами ФД, так і практично здоровими. Щодо концентрації греліну в сироватці крові, то спостерігалися її різноспрямовані зміни у хворих на ФД залежно від МТ: у пацієнтів з нормальною МТ установлено вірогідне підвищення рівня греліну порівняно з контролем, а у хворих на ФД з НМТ концентрація греліну вірогідно нижча порівняно зі здоровими особами.

Виявлене більш виражене зниження екскреції 6-COM у хворих на ФД з НМТ, що корелює з більш вираженими змінами рівнів лептину та греліну, стало підставою для того, щоб до початку лікування хворих на ФД з НМТ поділити на дві групи по 31 пацієнту в кожній: одна група отримувала стандартне лікування згідно з Римським консенсусом III, 2006 (антисекреторні засоби, прокінетики, вісцеральні анальгетики, психотропні засоби - анксиолітики та антидепресанти – в малих дозах) відповідно до клінічного варіанта ФД (виразкоподібний, дисмоторний, змішаний); інша група до-

Таблиця 1 – Характеристика вихідних показників по групах

Показник	Контроль	Норм. МТ з ФД	НМТ з ФД	Вірогідність відмінностей, $p$
Кількість обстежених, %	31 (24,8 %)	32 (25,6 %)	62 (49,6 %)	
6-COM, нг/мл	30,5±2,9	19,1±1,3	14,4±0,8	$p_{1-3} < 0,001$ ; $p_{1-2} < 0,01$ ; $p_{2-3} < 0,01$
лептин, нг/мл	9,9±1,3	7,9±1,0	25,1±2,1	$p_{1-3} < 0,001$ ; $p_{1-2} = 0,402$ ; $p_{2-3} < 0,001$
грелін, пг/мл	159,2±23,5	225,8±21,6	103,0±5,4	$p_{1-3} < 0,001$ ; $p_{2-3} < 0,05$ ; $p_{1-3} < 0,05$

Таблиця 2 – Динаміка змін рівнів гормонів у процесі лікування

Показник	Група	До лікування	Після лікування	Рівень значущості
6-COM, нг/мл	контроль	30,5±2,9		
	стандартна схема лікування	14,6±1,2	16,5±0,9	$p=0,051$
	станд. лікування+мелатонін	14,5±1,1	37,4±2,7	$p < 0,001$
лептин, нг/мл	контроль	9,9±1,3		
	стандартна схема лікування	22,6±2,0	22,2±1,3	$p=0,746$
	станд. лікування+мелатонін	27,7±3,7	16,9±1,8	$p < 0,001$
грелін, пг/мл	контроль	159,2±23,5		
	стандартна схема лікування	97,6±7,4	111,6±5,6	$p=0,055$
	станд. лікування+мелатонін	108,3±8,0	143,5±8,2	$p < 0,05$



датково одержувала препарат "Віта-мелатонін" (ЗАТ "Київський вітамінний завод") в дозі 3 мг на ніч протягом 3 тижнів.

Рівні гормонів, що вивчалися визначали через 1 місяць від початку лікування. Результати досліджень наведено в таблиці 2.

Як видно з цієї таблиці, до лікування рівень гормонів в обох групах достовірно не відрізнявся. У 2-й групі після лікування з додаванням препарату "Віта-мелатонін" відбулись вірогідні зміни: підвищення рівнів 6-сульфатоксимелатоніну та греліну, зниження рівня лептину. Рівень 6-COM і греліну в пацієнтів 2-ї групи після лікування вірогідно не відрізнявся від показників контрольної групи ( $p=0,090$  і  $p=0,559$  відповідно). Рівень лептину після лікування з додаванням препарату "Віта-мелатонін" залишався достовірно вищим порівняно зі здоровими особами ( $p<0,01$ ), що можна пояснити сильним прямим кореляційним зв'язком концентрації лептину в сироватці крові з індексом маси тіла.

Тобто при лікуванні з додаванням препарату "Віта-мелатонін" лептин і 6-COM змінювались вірогідно більшою мірою ( $p<0,001$  та  $p<0,01$  відповідно), різниця в зміні греліну не була вірогідною, що можна пояснити впливом на рівень греліну, крім "Віта-мелатоніну", препаратів з прокінетичною дією, що входять до стандартної схеми лікування ФД.

**ВИСНОВКИ.** 1. У хворих на ФД виникає дисбаланс гормональної регуляторної системи "мелатонін-лептин-грелін", ступінь вираження якого корелює зі збільшенням маси тіла.

2. Стандартна схема лікування хворих на ФД з НМТ не впливає на змінені рівні 6-COM, лептину та греліну.

3. Включення в схему лікування екзогенного мелатоніну (в дозі 3 мг за 30 хв до засинання) призводить до відновлення рівня контрольних цифр вмісту 6-COM і греліну та чіткої тенденції до нормалізації рівня лептину в сироватці крові.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Василюкова О.В., Витебская А.В. Грелин: биологическое значение и перспективы применения в эндокринологии // Пробл. эндокринологии. – 2006. – **52**, № 2. – С. 3-7.

2. Глоба Є.В. Сучасні уявлення про гормони жирової тканини та інші біоактивні речовини як чинник розвитку підвищеної маси тіла і цукрового діабету 2 типу // Ендокринологія. – 2004. – **9**, № 1. – С. 78-88.

3. Панков Ю.А. Роль лептина и его белковых медиаторов в нейрофизиологии // Вест. РАМН. – 2005. – № 2. – С. 44-48.

4. Резников А.Г. Нейроэндокринные механизмы и экспериментальные модели ожирения (обзор литературы и собственных исследований) // Журн. АМН України – 2003. – **9**, № 3. – С. 423-437.

5. Bubenik G.A. Localization, physiological significance and possible clinical implication of gastrointestinal

melatonin // Biol. Signals Recept. – 2001. – № 10. – P. 350-366.

6. Flier J.S., Maratos-Flier E. The stomach Speaks – Ghrelin and Weight Regulation // N. Engl. J. Med. – 2002. – **346**, № 21. – P. 1662-1663.

7. Mustonen A.M., Nieminen P., Asikainen J. et al. Continuous melatonin treatment and fasting in the raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*) - vernal body weight regulation and reproduction // Zoolog. Sci. – 2004. – **21**, № 2. – P. 163-172.

8. Nishizawa T., Suzuki H., Nomoto Y. et al. Enhanced plasma ghrelin levels in patients with functional dyspepsia // Aliment. Pharmacol. Ther. – 2006. – № 24 (Suppl. 4). – P. 104-110.

9. Wren A.M., Seal L.J., Cohen M.A. et al. Ghrelin enhances appetite and increases food intake in human // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2001. – № 86. – P. 5992-5995.

# ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО МЕЛАТОНИНА НА ЭКСКРЕЦИЮ 6-СУЛЬФАТОКСИМЕЛАТОНИНА И УРОВНИ ЛЕПТИНА И ГРЕЛИНА У БОЛЬНЫХ С ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ДИСПЕПСИЕЙ И ИЗБЫТОЧНОЙ МАССОЙ ТЕЛА

О.Г. Гапонова, И.В. Шуть

ГУ "ИНСТИТУТ ТЕРАПИИ ИМ. Л.Т. МАЛОЙ АМН УКРАИНЫ", ХАРЬКОВ

## Резюме

Обследовано 62 больных с функциональной диспепсией и избыточной массой тела. Установлено, что экзогенный мелатонин (в дозе 3 мг на ночь в течение 3 недель) оказывает нормализующий эффект на содержание 6-сульфатоксимелатонина в моче и сывороточный уровень грелина, а также достоверно снижает уровень лептина в сыворотке крови.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** мелатонин, лептин, грелин, избыточная масса тела, функциональная диспепсия, нейроэндокринная регуляция.

## THE INFLUENCE OF EXOGENOUS MELATONIN ON EXCRETION OF 6-SULFATOXYMELATONIN AND LEVELS OF LEPTIN AND GHRELIN IN PATIENTS WITH FUNCTIONAL DYSPEPSIA AND OVERWEIGHT

O.H. Haponova, I.V. Shut

INSTITUTE OF THERAPY BY L. T. MALA OF AMS OF UKRAINE, KHARKIV

## Summary

62 overweight patients with functional dyspepsia were examined. It was determined that exogenous melatonin (in the dose 3 mg taken 30 minutes prior to sleep time during 3 weeks) showed the normalizing effect on the urinary 6-sulfatoximelatonin and serum ghrelin concentration and significantly decreased the leptin level in blood serum.

Отримано 26.06.2007 р.

Адреса для листування: О.Г. Гапонова, ДУ "Інститут терапії ім. Л.Т. Малої АМН України", Харків, 61002, Україна.

**Для отримання оперативної інформації звертайтеся до нашої сторінки в Інтернеті:  
[www.tdmu.edu.te.ua](http://www.tdmu.edu.te.ua)**

## 5-МЕТИЛ-4-(2-МЕТОКСИФЕНІЛ)-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ІЛТІО-АЦЕТАТНА КИСЛОТА ТА ЇЇ СОЛІ ЯК БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ СПОЛУКИ

А.С. Гоцуля, О.І. Панасенко, Є.Г. Книш  
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

*Здійснено синтез нової 5-метил-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтїо-ацетатної кислоти та її солей. Будову отриманих сполук підтверджено за допомогою елементного аналізу та УФ-, ІЧ-спектроскопії, а їх індивідуальність – тонкошарової хроматографії. Вивчено протимікробну, протигрибкову та протизапальну активність синтезованих сполук.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **1,2,4-триазоли, солі, біологічна активність.**

**ВСТУП.** Останнім часом серед 1,2,4-триазол-3-тіоацетатних кислот та їх похідних (солі, естери, аміди) знайдено сполуки, які проявляють діуретичну, протимікробну, протигрибкову, протизапальну, анальгетичну, антишемічну, нейролептичну та інші види активності [2-5]. Раніше відзначалось [3, 4], що солі 5-R-1,2,4-триазоліл-3-тіокарбовоних кислот проявляють протимікробну активність, причому на силу дії цих сполук впливають компоненти як катіона, так і аніона. Метою даного дослідження був пошук нових біологічно активних сполук серед солей 5-метил-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтїо-ацетатної кислоти для вивчення їх біологічної активності.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Як вихідну речовину для синтезу 5-метил-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтїо-ацетатної кислоти використовували 5-метил-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-тіон, при взаємодії якого з монохлорацетатною кислотою в присутності лугу було отримано відповідну тіоацетатну кислоту (I, табл. 1).

5-метил-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтїо-ацетатна кислота (I, див. табл. 1) є кристалічною речовиною білого кольору, вона важкорозчинна у воді, розчинна в розчинах мінеральних кислот та органічних розчинниках, а також у розчинах лугів і карбонатів лужних металів.

Солі кислоти (I) одержано шляхом взаємодії 5-метил-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтїо-ацетатної кислоти з натрію гідроксидом (II а), калію гідрокарбонатом (II б), кальцію карбонатом (II в), магнію оксидом (II г), розчином аміаку (II д) у водному середовищі; з

діетиламіном (II є), моноетаноламіном (II ж), діетаноламіном (II з), морфоліном (II і) та трибутиламіном (II к) в середовищі етанолу.

Отримані таким чином солі (II а-к, див. табл. 1) являють собою білі (II а-II є) чи білі з бурим відтінком (II ж, з) кристалічні речовини, легко або важкорозчинні у воді й органічних розчинниках. Для аналізу сполуку (I) перекристалізовано з діоксану, сполуку (II б) – з ізопропанолу, сполуку (II в) – з ізобутанолу, сполуку (II г) – з води, сполуку (II д) – з ацетону, сполуки (II а, II є-к) – з етанолу.

5-метил-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтїо-ацетатна кислота (I, див. табл. 1)

До розчину 0,01 М NaOH у 25 мл води додають 0,01 М 5-метил-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтїо-тіону і 0,01 М монохлороцетової кислоти. Суміш кип'ятять 2 год, осад відфільтровують.

Натрієва сіль 5-метил-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтїо-ацетатної кислоти (II а)

До розчину 0,01 М NaOH у 30 мл води додають 0,01 М 5-метил-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтїо-ацетатної кислоти. Суміш підігривають до утворення розчину, охолоджують, розчинник випаровують.

Калієва сіль 5-метил-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтїо-ацетатної кислоти (II б)

До розчину 0,01 М КОН у 30 мл води додають 0,01 М 5-метил-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтїо-ацетатної кислоти. Суміш підігривають до утворення розчину, охолоджують, розчинник випаровують.

Кальцієва сіль 5-метил-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтїо-ацетатної кислоти (II в)

До розчину 0,01 М CaCO<sub>3</sub> у 60 мл води додають 0,01 М 5-метил-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтїо-ацетатної кислоти. Суміш ки-

п'ять 2 год, охолоджують, розчинник випаровують.

Магнієва сіль 5-метил-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо-ацетатної кислоти (II г)

До розчину 0,01 М MgO у 60 мл води додають 0,01 М 5-метил-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо-ацетатної кислоти. Суміш кип'яють 2 год, охолоджують, розчинник випаровують.

Амонієва сіль 5-метил-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо-ацетатної кислоти (II д)

До розчину 0,01 М 25 % NH<sub>4</sub>OH у 15 мл води додають 0,01 М 5-метил-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо-ацетатної кислоти. Суміш підігрівують до утворення розчину, охолоджують, розчинник випаровують.

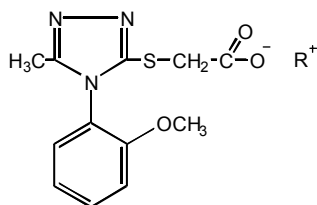
Солі 5-метил-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо-ацетатної кислоти з органічними основами (II є-к)

До розчину 0,01 М 5-метил-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо-ацетатної кислоти у 30 мл етанолу додають 0,01 М органічної (II є-к) сполуки. Суміш підігрівують до утворення розчину, залишають на 24 год. Сполуки II (є-к) відфільтровують.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Будова синтезованих сполук підтверджена нами за допомогою елементного аналізу, УФ-, ІЧ-спектроскопії, а їх індивідуальність – тонкошаровою хроматографії. В ІЧ-спектрах сполук (I, II а-к) наявні смуги поглинання СО-груп у межах 1750-1720 см<sup>-1</sup>, С-О-С-груп – 1270-1250 см<sup>-1</sup>. Для солей карбонових кислот характерні смуги поглинання СОО-груп у межах 1410-1390 см<sup>-1</sup> та С<sub>6</sub>Н<sub>5</sub>-груп у межах 1620-1560 см<sup>-1</sup> [1].

Нами вивчено протимікробну та протигрибкову активність отриманих солей (II а-к) на окремих тест-мікробах (представниках грам-позитивних і грамнегативних бактерій). Для вирощування грибків використовували середовище Сабуро (рН-6,6-6,8). Навантаження їх становило 500 000 репродуктивних тілець в 1 мл. Антимікробну активність оцінювали за мінімальною бактеріостатичною (МБСК) або мінімальною мікостатичною (ММСК) концентрацією хімічної сполуки (мкг/мл). При цьому було встановлено, що вказані сполуки проявляють слабку або помірну протимікробну дію щодо індикаторних культур.

Таблиця 1 – 5-метил-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо-ацетатна кислота (I) та її солі (II а-к)



Сполука	R <sup>+</sup>	Температура топлення, °С	Брутто-формула
I	H	205-207	C <sub>12</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S
II а	Na	>309 розкл.	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> N <sub>3</sub> NaO <sub>3</sub> S
II б	K	>276 розкл.	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> N <sub>3</sub> KO <sub>3</sub> S
II в	Ca	184-187	C <sub>24</sub> H <sub>26</sub> CaN <sub>6</sub> O <sub>6</sub> S <sub>2</sub>
II г	Mg	228-231	C <sub>24</sub> H <sub>26</sub> MgN <sub>6</sub> O <sub>6</sub> S <sub>2</sub>
II д	NH <sub>4</sub>	207-210	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> S
II є	діетиламоній	154-156	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> S
II ж	моноетаноламоній	>203 розкл.	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> S
II з	діетаноламоній	225-227	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> S
II і	морфоліній	198-200	C <sub>16</sub> H <sub>21</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> S
II к	трибутиламоній	199-202	C <sub>24</sub> H <sub>40</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> S

Продовження табл. 1

Сполука	Обчислено, %		Знайдено, %		Вихід, %
	N	S	N	S	
I	15,04	11,48	15,07	11,49	79,6
II а	13,95	10,64	13,94	10,67	31,2
II б	13,24	10,10	13,26	10,07	36,31
II в	13,16	10,04	13,19	10,05	55,94
II г	14,47	11,04	14,47	11,05	77,6
II д	18,91	10,82	18,93	10,81	43,51
II є	15,90	9,10	15,93	9,11	38,5
II ж	16,56	9,48	16,57	9,50	44,79
II з	14,57	8,34	14,55	8,33	58,5
II і	15,33	8,77	15,36	8,75	94,8
II к	12,06	6,90	12,04	6,89	46,47

Протизапальну активність синтезованих сполук вивчали на білих щурах-самцях масою 120-150 г. Запалення викликали шляхом внутрішньом'язово введення в одну з кінцівок 0,1 мл 2,5 % розчину формаліну за методом [6]. Вивчення антифлогогенної дії проводили порівняно з індометацином та вольтареном. Як свідчать результати вивчення протизапальної дії, 5-метил-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо-ацетатна кислота проявляє виражену активність, яка перевищує активність індометацину та вольтарену. Натрієва (II а) та

калієва (II б) солі за своєю протизапальною активністю перевищують активність вольтарену та індометацину. Інші солі за своєю протизапальною активністю перевищують активність вольтарену.

**ВИСНОВКИ.** Здійснено синтез нової 5-метил-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо-ацетатної кислоти та її солей. Будову отриманих сполук підтверджено за допомогою елементного аналізу, УФ-, ІЧ-спектроскопії. Вивчено протимікробну, протигрибкову та протизапальну активність синтезованих сполук.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Казицына Л.А., Куплетская Н.Б. Применение УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии в органической химии. – М.: Высшая школа, 1971. – 264 с.
2. Каплаушенко А.Г., Книш Е.Г., Панасенко О.І. Синтез, перетворення і біологічна активність в ряду 5-[2-, (3-, 4-) нітрофеніл]-2,4-дигідро-1,2,4-триазол-3-іонів // Мед. хімія. – 2005. – 7, № 3. – С. 98-100.
3. Панасенко О.І. Синтез, перетворення, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних 1,2,4-триазолу: Дис. ... д-ра фармац. наук. – К., 2005. – 396 с.
4. Парченко В.В., Панасенко А.И., Книш Е.Г. Синтез и биологическая активность некоторых производных 5-фуран-2-ил-4-фенил-2,4-дигидро-1,2,4-триазол-3-тионов // Актуальні питання фармац.

та мед. науки та практики. – Запоріжжя, 2005. – Вип. XIV. – С. 263-266.

5. Парченко В.В., Маковик Ю.В., Книш Е.Г. и др. Изучение противомикробной и противогрибковой активности некоторых производных 5-гетарил-2,4-дигидро-1,2,4-триазол-3-тионов, 2-бензилиден-1,2,4-триазоло-(3,4-В)-тиазол-3-(2Н)-онов и бензилиденгидразидов-5-гетарил-2,4-дигидро-1,2,4-триазол-3-меркаптоуксусных кислот // Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики. – Запоріжжя, 2004. – Вип. XII. – С. 72-76.

6. Стрельников Ю. Сравнительная характеристика противовоспалительного действия некоторых пиримидиновых производных // Фармакология и токсикология. – 1960. – 23, № 7. – С. 526-531.

## 5-МЕТИЛ-4-(2-МЕТОКСИФЕНИЛ)-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ИЛТИО-УКСУСНАЯ КИСЛОТА И ЕЕ СОЛИ КАК БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

А.С. Гоцуля, А.И. Панасенко, Е.Г. Книш  
ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

#### Резюме

Осуществлен синтез новой 5-метил-4-(2-метоксифенил)-1,2,4-триазол-3-илтио-ацетатной кислоты и ее солей. Строение полученных соединений подтверждено при помощи элементного анализа, УФ-, ИК-спектроскопии, а их индивидуальность – тонкослойной хроматографии. Изучено противомикробную, противогрибковую и противовоспалительную активность синтезированных соединений.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: 1,2,4-триазолы, соли, биологическая активность.

## 5-METHYL-4-(2-METHOXYPHENYL)-1,2,4-TRIAZOL-3-ILTHIO)-ACETIC ACID AND ITS SALTS AS BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS

A.S. Hotsulya, O.I. Panasenko, Ye.H. knysh  
ZAPORIZHYAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

#### Summary

The synthesis of new 5-methyl-4-(2-methoxyphenyl)-1,2,4-triazol-3-ilthio-acetic acid and its salts has been carried out. The structure of received substances has been confirmed by means of element analyses, UV-, IR-spectroscopy. The antimicrobe, antifungus and anti-inflammatory activities have been investigated.

KEY WORDS: 1,2,4-triazols, salts, biological activity.

Отримано 5.10.2006 р.

Адреса для листування: А. С. Гоцуля, вул. Товарищеська, 64, кв. 77, Запоріжжя, 69121, Україна.

Історія літератури – 9, № 3, 2007

## ВИВЧЕННЯ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ КОРИ, ЛИСТЯ ТА СУПЛІДЬ РОСЛИН РОДУ *DUSCHEKIA* ORIZ

М.А. Кулагіна, А.Г. Сербін, О.В. Радько, Л.М. Сіра  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

З кори, листя і суплідь *Duschekia viridis*, *Duschekia maximowiczii* та *Duschekia fruticosa* отримано ліпофільні фракції та вивчено їх жирнокислотний склад. Встановлено, що з 12 визначених жирних кислот переважають пальмітинова, лінолева та ліноленова.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **душекія зелена, душекія Максимовича, душекія чагарникова, ліпофільні фракції, жирні кислоти.**

ВСТУП. В останні роки все більшої популярності набувають лікарські рослини та препарати рослинного походження. Від синтетичних препаратів їх відрізняють низька токсичність, обмежений спектр побічної дії, висока біодоступність, можливість застосування при хронічних захворюваннях, у дитячій практиці та геронтології тощо. Перевагою препаратів рослинного походження є і те, що їх фармакологічний ефект зумовлений не однією речовиною, а комплексом сполук різної природи.

До перспективних джерел лікарської рослинної сировини для виробництва препаратів антимікробної, протизапальної, імуностимулювальної та діуретичної дій належать види роду *Duschekia* Oriz, які характеризуються наявністю ряду біологічно активних речовин (БАР) і використовуються в народній медицині як ранозагоювальні, бактерицидні, протизапальні та інші засоби [2, 6]. Душекію зелену – *Duschekia viridis* (Chaix) Oriz відносять до секції *Alnobetula* родини *Betulaceae*. Розповсюджена вона в Західній Україні, де займає від 4 до 6 % загальної площі високогір'я Українських Карпат [3]. Також до цього роду належать душекія Максимовича – *Duschekia maximowiczii* (Call.) Rouzar і душекія чагарникова – *Duschekia fruticosa* (Rupr.) Rouzar, які у дикому стані зростають поза межами України [2].

Жирні кислоти – одна з груп БАР, що міститься у сировині та впливає на фармакологічну активність, але не екстрагується водою або водними розчинами спирту. Відомо, що ненасичені жирні кислоти проявляють антихо-

лестеричну дію, активують жовчовиділення та перистальтику [1, 5]. Жирні кислоти зумовлюють перебудову жирнокислотного складу клітинних мембран шляхом посилення синтезу простагландинів, які мають протизапальні й антиагрегаційні властивості, зменшують вазоконстрикцію, покращують мікроциркуляцію, підвищують еластичність клітинної мембрани [8, 10]. Існують препарати поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) класу  $\omega$ -3, наприклад епадол, які сприяють нормалізації функції печінки, у зв'язку з чим їх можна призначати хворим з ознаками її ураження [9].

За літературними даними, жирні кислоти вивчали лише у пагонах душекії зеленої [4, 7]. Тому метою нашого дослідження було порівняльне вивчення ліпофільної фракції, отриманої з кори, листя та суплідь душекії зеленої, душекії Максимовича і душекії чагарникової.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єкти для дослідження збирали в ботанічному саду ХНУ ім. В.Н. Каразіна та в Українських Карпатах у 2002-2005 роках: кору – на початку сокоруху, листя – після повного розгортання листової пластинки, супліддя – на початку розвитку (зелені) й у фазу повного дозрівання (стиглі).

Жирнокислотний склад ліпофільної фракції кори, листя та суплідь видів роду *Duschekia* аналізували методом газорідинної хроматографії за допомогою газорідинного хроматографа Хром-5. Параметри хроматографічного розподілення: детектор – полум'яно-іонізаційний, газ-носіє – азот високої чистоти, потік газу-носія – 350 мл/хв, водню – 35 мл/хв, повітря – 350 мл/хв. Температура розподілен-

ня – 186 °С, температура інжектора – 230 °С, температура детектора – 220 °С. Як твердофазовий носій використовували інертон-AW із зернінням 0,16-0,20 мм. Для пригнічення каталітичної активності носій обробляли диметилдихлорсиланом. Як рідку фазу використовували діетиленглікольсукцинат у кількості 10 % від маси носія.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Нами вивчено якісний та кількісний вміст вільних жирних кислот в корі, листі та супліддях душекії зеленої, душекії Максимовича та душекії чагарникової. Для цього суму ліпофільних сполук вилучали із сухоповітряної сировини шляхом екстракції хлороформ-метанольною сумішшю (1:2), звільняли від неліпідних речовин та метилювали 5 % метанольним розчином кислоти сірчаної. Отримані ефіри жирних кислот екстрагували гексаном та аналізували на хроматографі Хром-5. Ідентифікацію метилових ефірів здійснювали за часом утримування піків порівняно зі стандартною сумішшю [5]. Вміст жирних кислот визначали у мг% від суми. Результати визначення кислот в корі, листі та супліддях рослин роду *Duschekia* наведено на рисунку 1.

Діаграма (див. рис. 1) демонструє, що із 12 визначених жирних кислот переважають пальмітинова, ліолева та ліноленова, які розподіляються у душекії зеленій, душекії Максимовича, душекії чагарникової таким чином:

- пальмітинова в корі (36,02 мг%, 32,72 мг%, 34,67 мг%), листі (35,13 мг%, 33,74 мг%, 33,65 мг%), супліддях (37,80 мг%, 35,45 мг%, 35,04 мг%) відповідно;
- ліолева в корі (20,25 мг%, 21,16 мг%, 22,18 мг%), листі (20,01 мг%, 20,27 мг%, 20,00 мг%), супліддях (20,23 мг%, 20,03 мг%, 20,53 мг%) відповідно;
- ліноленова в корі (11,57 мг%, 10,27 мг%, 9,37 мг%), листі (11,56 мг%, 10,04 мг%, 12,46 мг%), супліддях (11,57 мг%, 10,45 мг%, 12,04 мг%) відповідно.

Відмічено, що вміст жирних кислот в супліддях більший, ніж в корі та листі.

**ВИСНОВКИ.** 1. У корі, листі та супліддях *Duschekia viridis*, *Duschekia maximowiczii* та *Duschekia fruticosa* визначено 12 жирних кислот: стеаринову, олеїнову, пальмітинову, ліолеву, ліноленову, арахісову, пальмітолеїнову, гептадеканову, пентадеканову, міристинову, лауринову та каприлову.

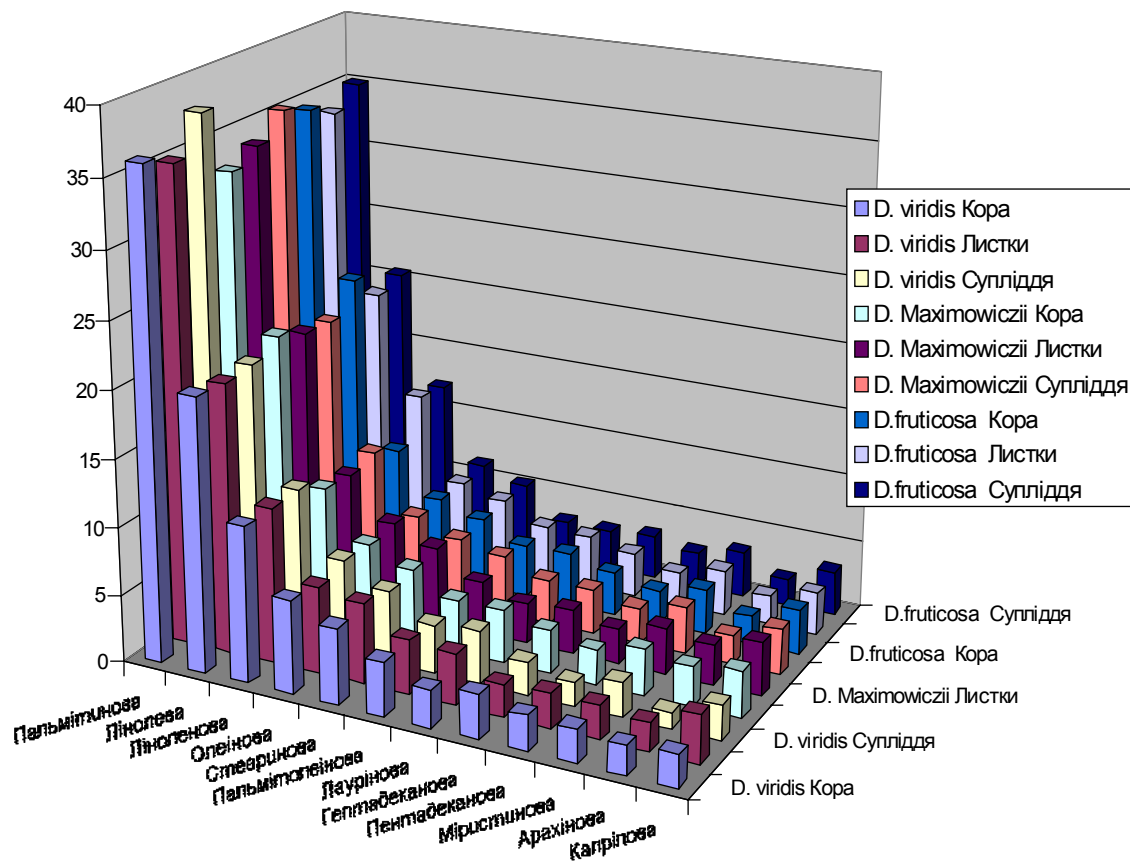


Рис. 1. Жирнокислотний склад ліпофільної фракції кори, листя та суплідь видів роду *Duschekia*.

2. Встановлено, що з 12 визначених жирних кислот переважають пальмітинова, ліолева та ліноленова.

3. Відмічено, що вміст жирних кислот в сопліддях рослин вивчених видів більший, ніж в корі та листі.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Виноградова Т.А., Гажев Б.Н. Практическая фитотерапия. – М.: ОЛМА-ПРЕСС, 1998. – 640 с.
2. Дикорастущие полезные растения России / Отв. ред. А.Л. Буданцев, Е.Е. Лесновская. – С.Пб.: Изд-во СПХФА, 2001. – 663 с.
3. Малиновський К.А., Крічфалушій В.В. Рослинні угруповання високогір'я Українських Карпат. – Ужгород: Карпатська вежа, 2002. – 243 с.
4. Мінарченко В.М., Тимченко І.А. Атлас лікарських рослин України. – К.: Фітосоціоцентр, 2002. – 172 с.
5. Прокопенко Т.С., Комиссаренко Н.Ф., Деркач А.И. и др. Липиды корней *Symphytum officinale* и *S. asperum* // Фармаком. – 1994. – № 8-9. – С. 30-31.
6. Растительные ресурсы России и сопредельных государств: Часть 1. – С.Пб.: Мир и семья, 1995. – 571 с.
7. Соколов С.Я. Фитотерапия и фитотерапевтика: Руководство для врачей. – М.: Мед. информ. агенство, 2000. – 976 с.
8. Фитотерапия / Сост. В.М. Дьякова. – М., 1992. – Вып. 5-6. – 96 с.
9. Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: Results the GISSI-prevenzione trial // Lancet. – 1999. – **354**, № 9177. – P. 477-455.
10. Mirek Z., Pikkosr-Mirkowa H., ZajNec A. Vascular plant of Poland a checklist. – Krakow: Szafer Institute of Botany, 1995. – № 15. – 308 p.

## ИЗУЧЕНИЕ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА КОРЫ, ЛИСТЬЕВ И СОПЛОДИЙ РАСТЕНИЙ РОДА *DUSCHEKIA OPIZ*

**М.А. Кулагина, А.Г. Сербин, О.В. Радько, Л.М. Сира**  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

#### Резюме

Из коры, листьев и соплодий *Duschekia viridis*, *Duschekia maximowiczii* и *Duschekia fruticosa* получены липофильные фракции и изучен их жирнокислотный состав. Установлено, что из 12 определенных жирных кислот преобладают пальмитиновая, линолевая и линоленовая.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **душекия зеленая, душекия Максимовича, душекия кустарниковая, липофильные фракции, жирные кислоты.**

## STUDU OF FATTY-ACID COMPOSITION OF BARK, LEAVES AND FLOSCULES OF PLANTS OF *DUSCHEKIA OPIZ* FAMILY

**M.A. Kulahina, A.H. Serbin, O.V. Radko, L.M. Sira**  
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

#### Summary

Lipophilic fractions from the bark, leaves and floscules of *Duschekia viridis*, *Duschekia maximowiczii* and *Duschekia fruticosa* have been isolated and fatty-acid composition have been studied. Among 12 defined fatty acids prevail palmitic, linoleic and linolenic ones.

KEY WORDS: ***Duschekia viridis*, *Duschekia maximowiczii*, *Duschekia fruticosa*, lipophilic fractions, fatty acids.**

Отримано 29.05.2007 р.

Адреса для листування: М.А. Кулагіна, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна.



## ВСТАНОВЛЕННЯ АМІНОКИСЛОТНОГО ТА МІНЕРАЛЬНОГО СКЛАДУ ПЛОДІВ ЕХІНАЦЕЇ БЛІДОЇ

**Я.В. Дьяконова, В.С. Кисличенко, В.М. Самородов, С.В. Поспелов**  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ  
ПОЛТАВСЬКА ДЕРЖАВНА АГРАРНА АКАДЕМІЯ

*Досліджено амінокислотний склад плодів ехінацеї блідої, ідентифіковано 17 вільних та 17 зв'язаних амінокислот, визначено їх вміст. Вивчено елементний склад плодів ехінацеї блідої, визначено наявність 15 елементів та встановлено їх кількість.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** ехінацея бліда, амінокислоти, макро- та мікроелементи.

**ВСТУП.** Високомолекулярні природні органічні речовини – білки складаються з амінокислот і є основою структури й функції живих організмів. Біологічна цінність білків залежить від співвідношення в їх складі незамінних амінокислот. Відомо, що амінокислоти беруть участь у процесах нервової, судинної регуляції різних функцій організму [6]. Особливе значення для організму людини мають незамінні амінокислоти, які не синтезуються тваринними організмами, але синтезуються у вищих рослинах і потрапляють в організм людини з їжею або у вигляді лікарських препаратів та біологічно активних добавок – спеціальних харчових продуктів. Наприклад, незамінна амінокислота гістидин декарбоксилюється в організмі з утворенням гістаміну. Останній є одним із медіаторів, який бере участь в процесах життєдіяльності організму.

Лікарські рослини є найкращими природними джерелами макро- та мікроелементів.

Макро- і мікроелементи суттєво впливають на обмін речовин, серцево-судинну систему, а також є складовою частиною ферментів. Так, молекула церулоплазміну містить 16 атомів Си, які зумовлюють оксидазну активність цього білка – захисного компонента крові від токсичної дії активних форм кисню. Крім того, Си міститься в супероксиддисмутазі, дофамін-β-гідроксилазі, цитохром-с-оксидазі та аміноксидазі. Mg – обов'язковий учасник синтезу всіх нейропептидів у головному мозку, він входить до складу 13 металопротеїнів, більш ніж 300 ферментів [1, 3].

Відомо також, що макро- та мікроелементи утворюють в рослинах металоорганічні спо-

луки, що сприяє їх кращому засвоюванню організмом людини.

Крім того, вивчення елементного складу є актуальним у зв'язку з впливом техногенних факторів забруднення навколишнього середовища [2].

За впливом на організм людини елементи поділяються на чотири групи: 10 найбільш важливих (Ca, Mg, P, Fe, Mn, Cu, Zn, Co, Cr, Mo), 5 умовно-важливих (B, Si, V, Ni, As), 7 токсичних (Al, Sb, Mg, Ba, Bi, Cd, Pb), та 6 потенційно токсичних (La, Sn, Ag, Sr, Ti, Zr) [4]. Тому важливо мати уявлення про вміст макро- та мікроелементів у рослинній сировині, яку використовують для медичних потреб.

Метою даної роботи було вивчення амінокислотного та мінерального складу плодів ехінацеї блідої. Дослідження, проведені нами, використовуватимуться при стандартизації нової лікарської сировини для України – плодів ехінацеї блідої та розробці на неї аналітичної нормативної документації.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Сировиною для нашого дослідження були плоди ехінацеї блідої сорту "Красуня прерій". Сировина заготовлена співробітниками Полтавської державної аграрної академії восени 2006 року.

**Амінокислотний аналіз.** Якісний та кількісний аналіз вільних і зв'язаних амінокислот у досліджуваній сировині здійснювали за допомогою амінокислотного аналізатора T339M Mikro-techna–Praha. Для цього наважки (100 мг) розчиняли у спирті та вміщували у реакційну посудину об'ємом 50 мл, додавали рівну кількість концентрованої хлористоводневої кислоти, продуваючи азотом для видалення повітря, закривали герметично притертою пробкою та

ставили у термостат з температурою нагрівання 120 °С на 24 год.

Потім пробу фільтрували, переносили у фарфорову чашку, в якій розчин упарювали у струмі азоту до видалення хлористоводневої кислоти та встановлення рН розчину в межах 1,6-2,0.

Після цього пробу ще раз фільтрували крізь паперовий фільтр і доводили розчином їдкою натру до рН 2,2. В амінокислотний аналізатор вводили 50 мкл проби.

Якісний аналіз проводили шляхом порівнювання часу виходу відомих стандартних амінокислот з амінокислотами у пробі. Кількісне визначення амінокислот ( $C_1$ , мкг) у пробах проводили за формулою:  $C = \frac{C_1 \cdot S}{S_1}$ , де  $C_1$  – концентрація амінокислот у стандарті;  $S$  – площа піку амінокислоти в пробі;  $S_1$  – площа піку амінокислоти в стандарті.

Результати вивчення амінокислотного складу наведено в таблиці 1.

**Мінеральний склад.** Для вивчення елементного складу плодів ехінацеї блідої був використаний атомно-емісійний спектрографічний метод з фотографічною реєстрацією [5].

Підготовка проби для аналізу полягала в обережному обвуглюванні сировини при нагріванні в муфельній печі (температура не більша 500 °С) з попередньою обробкою проб розведеною сірчаною кислотою. Випаровування проб проводили з кратерів графітових електродів у розряді дуги перемінного струму (джерело збудження спектрів типу ИВС-28) при силі струму 16 А й експозиції 60 с. Для одержання спектрів та їх реєстрації на фотопластинках використовували спектрограф ДФС-8 з дифракційною решіткою 600 штр/мм і трилінзовою системою висвітлення щілини. Інтенсивність ліній у спектрах аналізованих проб і градувальних зразків (ГЗ) визначали за допомогою мікрофотометра МФ-1.

Дотримувалися таких умов фотографування спектрів: сила струму дуги перемінного струму – 16 А, фаза підпалу – 60°, частота підпалювальних імпульсів – 100 розрядів за секунду; аналітичний проміжок – 2 мм; ширина щілини спектрографа – 0,015 мм; експозиція – 60 с. Спектри фотографували в межах 230-330 нм.

Фотопластинки проявляли, сушили, потім фотометрували наступні лінії (нм) у спектрах проб і ГЗ, а також фон біля них.

Для кожного елемента, за результатами фотометрування, розраховували різницю почорніння лінії і фону ( $S = S_{л+ф} - S_ф$ ) для спектрів проб ( $S_{ин}$ ) і ГЗ ( $S_{гз}$ ). Потім будували градувальний графік у координатах: середнє зна-

чення різниці почорніння лінії і фону ( $S_{гз}$ ) – логарифм вмісту елемента в ГЗ ( $\lg C$ ), де  $C$  виражено у відсотках до основи.

За цим графіком визначали вміст елемента в золі ( $a$ , %). Вміст елемента в рослинному матеріалі ( $x$ , %) визначали за формулою:

$x = \frac{a \cdot m}{M}$ , де  $m$  – маса золи (г);  $M$  – маса сировини (г);  $a$  – вміст елемента в золі (%).

При аналізі враховували нижні межі вмісту домішок, які складають: для  $Cu$  –  $1 \cdot 10^{-4}$ ;  $Co$ ,  $Cr$ ,  $Mo$ ,  $Mn$ ,  $V$  –  $2 \cdot 10^{-4}$ ;  $Ag$ ,  $Ga$ ,  $Ge$ ,  $Ni$ ,  $Pb$ ,  $Sn$ ,  $Ti$  –  $5 \cdot 10^{-4}$ ;  $Sr$ ,  $Zn$  –  $1 \cdot 10^{-2}$  %. Результати аналізу мінерального складу наведено в таблиці 2.

Таблиця 1 – Вміст вільних та зв'язаних амінокислот в плодах ехінацеї блідої

Назва амінокислоти	Вміст амінокислот, мкг/100 мг	
	Вільна амінокислота	Зв'язана амінокислота
Аспарагінова кислота	1530	1175
Треонін	475	450
Серин	607	653
Глутамінова кислота	6245	2310
Пролін	615	765
Гліцин	805	796
Аланін	635	636
Цистеїн	235	150
Валін	465	735
Метіонін	305	330
Ізолейцин	540	485
Лейцин	707	760
Тирозин	223	360
Фенілаланін	585	500
Гістидин	507	320
Лізін	580	440
Аргінін	350	630

Таблиця 2 – Результати аналізу мінерального складу плодів ехінацеї блідої

Назва елемента	Вміст елемента, мг/100 г
Fe	10,00
Si	330,00
P	100,00
Mn	2,00
Al	35,00
Pb	0,04
Sr	1,20
Mg	160,00
Zn	1,40
Ni	0,20
Ca	330,00
Mo	0,08
Cu	1,60
Na	60,00
K	1430,00

Примітка. В усіх зразках:  $Co < 0,03$  мг/100 г;  $Cd < 0,01$  мг/100 г;  $As < 0,01$  мг/100 г;  $Hg < 0,01$  мг/100 г.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У результаті дослідження амінокислотного складу плодів ехінацеї блідої встановлено наявність 17 вільних та 17 зв'язаних амінокислот (див. табл. 1), з яких 7 є незамінними (треонін, валін, ізолейцин, гістидин, метіонін, фенілаланін і аргінін). Визначено, що в амінокислотному складі домінують аспарагінова та глутамінова кислоти.

У результаті вивчення мінерального складу плодів ехінацеї блідої встановлено наявність 15 елементів, з яких 6 є макроелементами та 9 – мікроелементами (див. табл. 2).

При вивченні елементного складу плодів ехінацеї блідої відмічено, що її плоди є концентратором таких елементів, як кальцій, калій, фосфор, магній, марганець та кремній.

**ВИСНОВКИ.** 1. Вперше досліджено амінокислотний та мінеральний склад плодів ехінацеї блідої, культивованої в Україні.

2. Ідентифіковано 17 вільних і 17 зв'язаних амінокислот та встановлено їх вміст.

3. Визначено наявність 15 елементів і встановлено їх кількість.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А. и др. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология. – М.: Медицина, 1991. – 130 с.

2. Вельма В.В., Кисличенко В.С. Вивчення елементного складу рослинної сировини *Sambucus nigra* // Матер. наук.-практ. конференції з міжнародною участю "Створення, виробництво, стандартизація, фармакоекономіка лікарських засобів та біологічно активних добавок". – Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – С. 87-89.

3. Ноздрюхина Л.Р., Гринкевич Н.И. Нарушение микроэлементного обмена и пути его коррекции. –

М.: Наука, 1980. – 155 с.

4. Рыбак О.В. Аминокислотный состав рудбекии раздельнолистной // Матер. Междунар. науч. конф. Полтава, 2003. – С. 133.

5. Тарасевич Н.И., Семенко К.А., Хлыстова А.Д. Методы спектрального и химико-спектрального анализа. – М.: МГУ, 1973. – 170 с.

6. Шилова И.В., Краснов Е.А., Барановская Н.В. и др. Аминокислотный и минеральный состав надземной части *Atrageae speciosa* Weinm // Химико-фармацевтический журнал. – 2002. – **36**, № 11. – С. 36-38.

## УСТАНОВЛЕНИЕ АМИНОКИСЛОТНОГО И МИНЕРАЛЬНОГО СОСТАВА ПЛОДОВ ЭХИНАЦЕИ БЛЕДНОЙ

**Я.В. Дьяконова, В.С. Кисличенко, В.Н. Самородов, С.В. Поспелов**  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ  
ПОЛТАВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ АГРАРНАЯ АКАДЕМИЯ

#### Резюме

Исследовано аминокислотный состав плодов эхинацеи бледной, идентифицировано 17 свободных и 17 связанных аминокислот, определено их содержание. Изучено элементный состав плодов эхинацеи бледной, определено наличие 15 элементов и установлено их количество.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** эхинацея бледная, аминокислоты, макро- и микроэлементы.

## DEFINITION OF AMINOACID AND MENIRAL COMPOSITION OF ECHINACEA PALLIDA FRUCTUS

**Ya.V. Dyakonova, V.S. Kyslychenko, V.M. Samorodov, S.V. Pospelov**  
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV  
POLTAVA STATE AGRARIAN ACADEMY

#### Summary

Aminoacid composition of *Echinacea pallida* fructus has been studied. As a result of the experiment 17 free and 17 linked aminoacids have been identified and their contents has been defined. Element composition of *Echinacea pallida* fructus has been studied. 15 elements have been identified and their quantities have been determined.

**KEY WORDS:** *Echinacea pallida*, aminoacids, macro- and microelements.

Отримано 25.05.2007 р.

Адреса для листування: Я.В. Дьяконова, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна.

## ВИВЧЕННЯ ПОЛІСАХАРИДІВ ТРАВИ БОЛИГОЛОВА ПЛЯМИСТОГО

Ю.Ю. Малиновський, В.М. Чушенко, В.С. Бондар  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

*Метою проведених досліджень було вивчення полісахаридного комплексу болиголова. Об'єктом досліджень стала сухоповітряна, подрібнена надземна частина рослини. У результаті з надземної частини болиголова плямистого виділено полісахаридний комплекс, який належить до групи глюкуроногліканів. Також було встановлено якісний моносахаридний склад та кількісне співвідношення моносахаридів, серед яких переважали галактоза та арабіноза, а також галактуронова та глюкуронова кислоти. Визначено вміст кислих моносахаридів та суми відновлених моносахаридів. Вивчений полісахаридний комплекс може бути використаний для створення препаратів протипухлинної, імуномодулюючої, протівірусної, протиалергічної та цукрознижуючої дій.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** болиголов плямистий, моносахариди, полісахаридний комплекс, глюкуроноглікани, галактоза, арабіноза, галактуронова і глюкуронова кислоти.

**ВСТУП.** Останнім часом біологічно активні полісахариди рослин застосовують в медичній практиці для профілактики та лікування захворювань, у патогенезі яких велику роль відіграє рівень функціонального стану імунної системи. [4]. У цьому відношенні трава болиголова плямистого не є винятком, хоча її вуглеводну частину досі не вивчено.

Болиголов плямистий народна медицина застосовує як болезаспокійливий, протисудомний та кровоспинний засіб, а також для лікування раку молочної залози і фіброми матки, для регуляції менструального циклу, при недокрив'ї, судомному кашлі, сильному болю в шлунку та кишечнику, закрепах, затриманні сечі та полюціях.

Зовні болиголов використовують при ревматизмі та подагрі. У гомеопатії – для лікування дienceфальних явищ, а також як засіб, що сприяє розсмоктуванню доброякісних пухлин [1, 3].

Метою досліджень було вивчення полісахаридного комплексу болиголова. Об'єктом досліджень стала сухоповітряна, подрібнена надземна частина рослини. Сировину було заготовлено в червні 2006 року у Вовчанському районі Харківської області.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Для отримання полісахаридів сировину обробляли водою

© Ю.Ю. Малиновський, В.М. Чушенко, В.С. Бондар, 2007.

(нагріваючи до 95 °С протягом 1 год при постійному перемішуванні). Повторне витягання полісахаридів проводили двічі при співвідношенні сировина-екстрагент 1:1. Рослинний матеріал відокремлювали шляхом центрифугування, а об'єднані екстракти упарювали до 1/5 первинного об'єму.

Полісахаридний комплекс осаджували триразовим (відносно витягання) об'ємом 96 % етанолу при кімнатній температурі. Твердий осад, який випав, відфільтровували, промивали 96 % етанолом, ацетоном, потім висушували та зважували. Полісахаридний комплекс являє собою аморфний порошок темно-коричневого кольору; при розчиненні у воді утворюється опалесцентний розчин. Полісахаридний комплекс дає позитивні реакції осадження зі спиртом та ацетоном, з розчином Фелінга у кислому середовищі. Кількісний вміст полісахаридів визначали гравіметричним методом після фракціонування 95 % спиртом [2].

Для встановлення моносахаридного складу проводили гідроліз полісахаридів кислотою сульфатною (1 моль/л) при температурі (100±2,5) °С. Кінетику гідролізу вивчали експериментально.

Ідентифікацію моносахаридів у гідролізатах проводили методами хроматографії на папері у системах "бутанол-піридин-вода" (6:4:3) та "етилацетат-кислота оцтова-кислота

мурашина-вода” (18:3:1:4), хроматографії у тонкому шарі сорбенту на силікагелі у системі “етил-ацетат-піридин-вода-спирт бутиловий-кислота оцтова” (5:4:4:10:2) паралельно з достовірними зразками. Хроматограми після висушування на повітрі обробляли анілінфталатним реактивом та нагрівали у сухоповітряній шафі при температурі (100±2,5) °С. Через 15 хв спостерігали плями моносахаридів: глюкози, галактози, рамнози, які були забарвлені у коричневий колір, та ксилози й арабінози, забарвлених у рожевий колір.

Результати дослідження мономірного складу методом хроматографії у тонкому шарі сорбенту дозволили підтвердити дані, отримані методом хроматографії на папері.

Методами хроматографії на папері та у тонкому шарі сорбенту паралельно з достовірними зразками моносахаридів у гідролізатах полісахаридного комплексу болиголова нами були ідентифіковані в нейтральній фракції такі моносахариди: глюкоза, галактоза, арабіноза, ксилоза, рамноза, а в кислотній фракції – галактуронова та глюкуронова кислоти. За величиною плям на хроматограмах та інтенсивністю їх забарвлення, за попередньою оцінкою, основними щодо вмісту є арабіноза та галактоза, а також галактуронова та глюкуронова кислоти.

Викликало інтерес визначити співвідношення моносахаридів у досліджуваних гідролізатах нейтральної фракції. З цією метою нами були отримані ацетати поліолів достовірних зразків моносахаридів (глюкоза, галактоза, арабіноза, ксилоза та рамноза) та ацетати поліолів моносахаридів у досліджуваних гідролізатах [5]. Ці сполуки ідентифіковано методом газорідинної хроматографії [5]. Результати дослідження представлено у таблиці 1.

Проведено визначення мінеральної частки комплексу. Вміст її складає близько 29,8 %, і вона представлена такими катіонами та аніонами, як кальцій, магній, марганець, цинк, фосфат, хлорид, сульфат.

Вміст суми відновних моносахаридів визначали спектрофотометричним методом з пікриновою кислотою у лужному середовищі. Як стандартний зразок використовували галактозу [5].

Кількісний вміст кислих моносахаридів визначали спектрофотометричним методом, в основу якого покладено карабазольний метод. Як стандартний зразок використовували галактуронову кислоту [5].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Як видно з таблиці 1, з надземної частини болиголова плямистого виділено та охарактеризовано водорозчинний полісахаридний комплекс, який складається в основному з галактуронової кислоти, галактози, арабінози з окремими включеннями глюкози, рамнози та ксилози. Це дозволяє віднести досліджуваний полісахаридний комплекс до групи глюкуроногліканів, які останнім часом як природні біополімери стали об’єктом дослідження у всьому світі завдяки своїм протипухлинним, імуномодулюючим, протівірусним, протиалергічним, цукрознижуючим та іншим цінним лікувальним ефектам.

**ВИСНОВКИ.** 1. З надземної частини болиголова плямистого виділено полісахаридний комплекс, який належить до групи глюкуроногліканів. Вихід складає близько 17,2 % полісахаридного комплексу.

2. Методами паперової, тонкошарової та газорідинної хроматографії встановлено якісний моносахаридний склад та кількісне співвідношення моносахаридів. Переважали арабіноза та галактоза, а також галактуронова та глюкуронова кислоти.

3. Поряд з вуглеводною частиною виявлено мінеральну частку, яка складає близько 30 %. До її складу входять катіони кальцію, магнію, цинку, марганцю та ін.

4. Визначено вміст кислих моносахаридів (8,15 %) та суми відновлених моносахаридів (10,21 %).

5. На підставі результатів проведених досліджень полісахаридний комплекс можна віднести до групи глюкуроногліканів.

6. Досліджуваний полісахаридний комплекс може бути використаний для створення препаратів з протипухлинною, імуномодулюючою, протівірусною, протиалергічною та цукрознижуючою діями.

Таблиця 1 – Результати дослідження полісахаридного комплексу болиголова плямистого

Полісахаридний комплекс болиголова	Вихід, %	Співвідношення моносахаридів, моль%					Вміст кислих моносахаридів, %	Вміст суми відновних моносахаридів, %
		Glu	Gal	Ar	Kc	Rha		
	17,15±0,34	15	43	23	10	9	8,15±0,16	10,21±0,25

## ЛІТЕРАТУРА

1. Балицкий К.П., Воронцова А.Л. Лекарственные растения и рак. – Киев: Наук.думка, 1982. – 376 с.
2. ГФ СССР. – 11 изд. – М.: Медицина, 1989. – С. 264-267.
3. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. А.М. Гродзінський. – К.: Видавництво “Українська Енциклопедія” ім. М.П. Бажана, Український виробничо-комерційний центр “Олімп”, 1992. – 544 с.
4. Хохкенкова Н.В., Чушенко В.М., Ярних Т.Г. Перспективи застосування полісахаридів природного походження у фармації // Фармац. журн. – 2006. – № 4. – С. 41-49.
5. Чушенко В.Н. Исследование в области анализа полисахаридов: Дис. ... канд. фармац. наук: 15.00.02. – 1980. – 154 с.

## ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИСАХАРИДОВ ТРАВЫ БОЛИГОЛОВА ПЯТНИСТОГО

**Ю.Ю. Малиновский, В.Н. Чушенко, В.С. Бондарь**  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

### Резюме

Целью проведенных исследований было изучение полисахаридного комплекса болиголова. Объектом исследований стала суховоздушная, измельченная надземная часть растения. В результате из надземной части болиголова пятнистого выделен полисахаридный комплекс, который относится к группе глюкуроногликанов. Также был установлен качественный моносахаридный состав и количественное соотношение моносахаридов, среди которых преобладали арабиноза и галактоза, а также галактуроновая и глюкуроновая кислоты. Определено содержание кислых моносахаридов и суммы восстановленных моносахаридов. Изученный полисахаридный комплекс может быть использован для создания препаратов противоопухолевого, иммуномодулирующего, противовирусного, противоаллергического и сахароснижающего действия.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** болиголов пятнистый, моносахариды, полисахаридный комплекс, глюкуроногликаны, галактоза, арабиноза, галактуроновая и глюкуроновая кислоты.

## STUDY OF POLYSACCHARIDES OF HEMLOCK HERB

**Y.Y. Malynovsky, V.M. Chushenko, V.S. Bondar**  
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

### Summary

The study of polysaccharide complex of hemlock was the purpose of the conducted researches. The object of researches was air-dry over-ground part of a plant. As a result, from over ground part of hemlock a polysaccharide complex, which belongs to the group of glucuronoglycanes, was abstracted. High-quality monosaccharide composition and quantitative correlation of monosaccharides were also established, among them prevailing ones are arabinose and galactose, and also galacturonic and glucuronic acids. Maintenance of sour monosaccharides and sum of recovered monosaccharides was determined. Studied polysaccharide complex can be used for creation of preparations of antitumoral, immunomodulatory, antiviral, antiallergic and sugar-lowering actions.

**KEY WORDS:** poison-hemlock, monosaccharides, polysaccharide complex, glucuronoglycanes, galactose, arabinose, galacturonic and glucuronic acids.

Отримано 12.03.2007 р.

Адреса для листування: Ю.Ю. Малиновський, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна.

## ПОРІВНЯЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ АКТИВНОСТІ ФЛАВОНОЇДІВ НА НАТИВНИХ І ЗАМОРОЖЕНИХ ДО -196 °С МІКРОСОМАХ

А.Д. Гордієнко, Л.В. Яковлева, О.В. Кудокоцева  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Проведено порівняльне дослідження антиоксидантної активності флавоноїдних субстанцій флакуміну і силібору за інгібуванням ферментативного й аскорбатзалежного перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) на нативних і заморожених до -196 °С мікросомах у системі *in vitro*. Показано, що досліджувані субстанції однаковою мірою інгібували ПОЛ як на нативних, так і заморожених до -196 °С мікросомах. У скринінзі на антиоксидантну активність витримані при +2÷+4 °С мікросоми можна використовувати протягом 5 год, а заморожені до -196 °С – в зручний для роботи час.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: флавоноїдні субстанції, нативні й заморожені мікросоми, антиоксидантна активність, ферментативне й аскорбатзалежне перекисне окиснення ліпідів.

ВСТУП. Ізольована фракція мембран ER-мікросоми є зручним об'єктом в скринінзі на антиоксидантну активність БАР, оскільки в них перебігають реакції ферментативного і неферментативного перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), самі є субстратом окиснення ліпідів, мембрани їх більш ніж на 60,0 % вміщують ненасичені жирні кислоти. Раніше ми вивчали за розробленим нами полярографічним експрес-методом антиоксидантну активність рослинних флавоноїдів за пригніченням швидкості поглинання кисню при ферментативному і аскорбатзалежному ПОЛ інтактних мікросом [3, 4].

Відомо, що виділені субклітинні органели і клітини перед їх використанням в експерименті витримують в гіпотермічних умовах (при низькій позитивній температурі +2÷+4 °С) [5, 9]. Хоча гіпотермія і є сприятливим фактором, який забезпечує збереження клітинних суспензій і органел, їх експозиція при такій температурі обмежена в основному не більше ніж 24-48 годинами, після чого зберігання мікросом супроводжується розвитком феномена "старіння", при якому здійснюється поступовий їх лізис. Для довгострокового зберігання біооб'єктів зі збереженням функціональної активності їх піддають заморожуванню до -196 °С [2,6].

У літературі не зустрічаються роботи про можливість використання витриманих при

© А.Д. Гордієнко, Л.В. Яковлева, О.В. Кудокоцева, 2007.

+2÷+4 °С, а також заморожених до -196 °С мікросом в скринінзі на антиоксидантну активність БАР.

Метою даної роботи було вивчення гіпотермічного впливу (+2÷+4 °С) та заморожування до -196 °С мікросом з печінки щурів на активність їх ферментативного й аскорбатзалежного ПОЛ, а також впливу стандартизованих флавоноїдних субстанцій силібору і флакуміну, одержаних в ДНЦЛЗ, на ферментативне й аскорбатзалежне ПОЛ мікросом в системі *in vitro* після зберігання їх в описаних умовах.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Мікросоми з печінки білих щурів-самців масою 200-240 г виділяли за методом Kamath [7]. Вміст білка мікросом визначали за методом Lowry [8].

При вивченні гіпотермічного впливу мікросоми витримували в холодильнику при температурі +2÷+4 °С. До -196 °С мембрани ER заморожували зі швидкістю 300-400 град. за 1 хв у середовищі суспендування шляхом занурювання ампули з 1,0 мл суспензії в рідкий азот. Відігрів суспензій мікросом проводили на водяній бані при температурі +37 °С.

Активність ферментативного й аскорбатзалежного ПОЛ мікросом і антиоксидантну активність флакуміну та силібору оцінювали полярографічним експрес-методом шляхом визначення антиоксидантної активності речовин при

+30 °C зі стандартним закритим платиновим електродом типу Кларка в системі *in vitro* [3, 4]. Антиоксидантну активність субстанцій – за величиною  $ID_{50}$ , яка характеризує концентрацію речовин в мкг/мл та інгібує ПОЛ мікросом на 50 %. Вірогідність отриманих результатів оцінювали за допомогою критерію Стьюдента [1].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Результати експериментів, наведені в таблиці 1, показали, що при зберіганні мікросом (+2÷+4 °C) протягом однієї доби спостерігалось вірогідне зменшення швидкості поглинання кисню мікросомами як за ферментативного, так і аскорбатзалежного ПОЛ мікросом порівняно з активністю свіжовиділених мікросом. У мікросом, витриманих при +2÷+4 °C протягом 5 год, заморожених до -196 °C і відігрітих, поглинання кисню не змінювалось порівняно з контрольними (свіжовиділеними) мікросомами.

Оскільки активність ферментативного й аскорбатзалежного ПОЛ в мікросомах, витриманих при +2÷+4 °C протягом 5 год і заморожених до -196 °C, не змінювалась порівняно зі свіжовиділеними, в подальшому вивчали вплив субстанцій на ПОЛ мікросом, які зберігали в указаних умовах.

Дані, наведені в таблиці 2, свідчать про те, що антиоксидантна активність силібору і флакуміну на моделі заморожених до -196 °C

мікросом, порівняно з нативними мікросомами (витриманими не більше 5 год при +2÷+4 °C), була однаковою в системі як ферментативного, так і аскорбатзалежного ПОЛ і відповідала антиоксидантній активності досліджуваних субстанцій, коли як об'єкт дослідження використовували свіжовиділені мікросоми.

Таким чином, результатом цих досліджень є новий метод зберігання мікросом (без зміни активності ПОЛ мембран), який пов'язаний із заморожуванням їх до -196 °C. Скринінг лікарських субстанцій на антиоксидантну активність на заморожених до -196 °C і відігрітих мікросомах дозволить скоротити кількість лабораторних тварин в експерименті та використовувати експериментальний матеріал в зручний для роботи час. Це узгоджується з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментів та інших наукових цілей (Страсбург, 1985).

**ВИСНОВКИ.** Ферментативне й аскорбатзалежне ПОЛ свіжовиділених мікросом не змінюється протягом 5 год їх зберігання при +2÷+4 °C, заморожуванні до -196 °C та відігріванні. Флакумін і силібор однаковою мірою проявляють антиоксидантний ефект як на нативних, так і на заморожених до -196 °C мікросомах.

Таблиця 1 – Поглинання кисню мікросомами з печінки щурів при ферментативному та аскорбатзалежному ПОЛ в нормі та після дії низьких температур (в нмоль  $O_2 \cdot xv^{-1} \cdot мг^{-1}$  білка), n=6

Умови експерименту	ПОЛ	
	ферментативне	аскорбатзалежне
Контроль, свіжовиділені мікросоми	36,5±3,4	126,41±8,9
Зберігання мікросом при +2÷+4 °C протягом 5 год	36,3±3,3	126,24±8,5
Зберігання мікросом при +2÷+4 °C протягом однієї доби	19,6±1,6* p<0,001	87,8±5,6* p<0,01
Заморожування мікросом до -196 °C і відігрівання	36,4±3,3	126,5±8,5
Заморожування мікросом до -196 °C, відігрівання і зберігання їх при +2÷+4 °C протягом 5 год	35,8±3,4	125,4±8,6

Примітка. \* – відмінності вірогідні порівняно з контролем; n – кількість спостережень.

Таблиця 2 – Вплив флавоноїдних субстанцій на ПОЛ витриманих при +2÷+4 °C і заморожених до -196 °C мікросом з печінки щурів у системі *in vitro*, n=6

Субстанції	$ID_{50}$ , мкг/мл			
	Мікросоми нативні (витримані при +2÷+4 °C протягом 5 год)		Мікросоми, заморожені до -196 °C і потім відігріті при +37 °C	
	Ферментативне ПОЛ	Аскорбатзалежне ПОЛ	Ферментативне ПОЛ	Аскорбатзалежне ПОЛ
Силібор	62,0±6,5	61,0±6,0	63,0±6,0	63,0±6,0
Флакумін	50,0±4,5	48,0±4,5	50,0±5,0	49,0±4,5

Примітка. n – кількість спостережень.



## ЛІТЕРАТУРА

1. Ашмарин И.П., Васильев Н.Н., Амбросов В.А. Быстрые методы статистической обработки и планирование экспериментов. –Л.: Изд-во Ленинградского университета, 1975. – 77 с.
2. Белоус А.М., Грищенко В.И. Кробиология. – К.: Наукова думка, 1994. – 428 с.
3. Гордиенко А.Д. Влияние растительных гепатопротекторных субстанций на мембрано-метаболическую активность органелл клеток печени при экспериментальных токсических гепатитах // Журн. АМН України. – 6, № 3. – С. 587-592.
4. Гордиенко А.Д., Комиссаренко Н.Ф., Левченко В.В., Хаджай Я.И. Экспресс-метод определения антиоксидантной активности фенольных соединений // Хим. фарм. журн. – 1988. – № 1. – С. 121-123.
5. Кравченко Л.П., Шанина И.В., Белоус А.М. Эффективность силибора при гипотермическом хранении изолированных гепатоцитов // Пробл. кробиологии. – 1996. – № 13. – С. 41-44.
6. Таныныка Л.Н. Перекисное окисление липидов в фрагментах печени новорожденных и половозрелых свиней при различных условиях криоконсервирования // Пробл. кробиологии. – 2000. – № 1. – С. 64-70.
7. Kamath S.A., Narayan K.A. Interaction of Ca<sup>2+</sup> with endoplasmic reticulum of rat liver: a standardised procedure for the isolation of rat liver microsomes // Analyt. Biochem. – 1972. – 48, № 1. – P. 53-61.
8. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L. et al. Protein measurement with the folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – 193, № 1. – P. 265-275.
9. Marsh D.C., Belzer F.O., Southard J.H. Hypothermic preservation of hepatocytes. 11. Importance of Ca<sup>2+</sup> and amino acids // Cryobiology. – 1990. – 27. – P.1-8.

## СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ФЛАВОНОИДОВ НА НАТИВНЫХ И ЗАМОРОЖЕННЫХ ДО -196 °С МИКРОСОМАХ

А.Д. Гордиенко, Л.В. Яковлева, Е.В. Кудокоцева  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

### Резюме

Проведено сравнительное исследование антиоксидантной активности флавоноидных субстанций флакумина и силибора по ингибированию ферментативного и аскорбатзависимого перекисного окисления липидов (ПОЛ) на нативных и замороженных до -196 °С микросомах в системе *in vitro*. Показано, что исследуемые субстанции в одинаковой степени ингибировали ПОЛ как на нативных, так и замороженных до -196 °С микросомах. В скрининге на антиоксидантную активность выдержанные при +2÷+4 °С микросомы можно использовать в течение 5 часов, а замороженные до -196 °С – в удобное для работы время.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: флавоноидные субстанции, нативные и замороженные микросомы, антиоксидантная активность, ферментативное и аскорбатзависимое перекисное окисление липидов.

## COMPARATIVE RESEARCH OF FLAVONOID ANTIOXIDANT EFFECT ON NATIVE AND FROZEN TO -196 °C MICROSOMES

A.D. Hordiyenko, L.V. Yakovleva, O.V. Kudokotseva  
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

### Summary

Comparative *in vitro* research of antioxidant effect of flakumin and silibor flavonoid substances by inhibition of fermentative and ascorbate-dependent lipid peroxidation on native and cryoconserved to -196 °C microsomes has been carried out. It is shown that the researched substances produced similar lipid peroxidation inhibiting effect related to both microsome types. Microsomes after preservation at +2÷+4 °C can be used in antioxidant effect screening during the period not exceeding 5 hours, whereas those cryoconserved to -196 °C can be used during convenient working hours.

KEY WORDS: flavonoid substances, native and cryoconserved microsomes, antioxidant effect, fermentative and ascorbate-dependent lipid peroxidation.

Отримано 20.08.2007 р.

Адреса для листування: А.Д. Гордієнко, просп. Перемоги, 78, кв. 65, Харків, 61004, Україна.

Історія літератури – 9, № 3, 2007

## РЕТРОСПЕКТИВНИЙ АНАЛІЗ ПОКАЗНИКІВ СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ У ХВОРИХ НА РАК ГОРТАНІ З МЕТОЮ ПРОГНОЗУВАННЯ ПОДАЛЬШОГО ПЕРЕБІГУ ЗАХВОРЮВАННЯ

Л.Л. Воронцова

ЗАПОРІЗЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ

*Проведено ретроспективний аналіз вмісту ферменту iNOs і продуктів метаболізму системи NO – NO<sub>2</sub> у хворих на рак гортані з безрецидивним перебігом захворювання та з перебігом, ускладненим метастазами, рецидивами, або летальним кінцем. У хворих на рак гортані з ускладненим перебігом захворювання отримано дані, що побічно свідчать про утворення пероксинітриту, що і є однією з причин індукції неоплазій. У разі безрецидивного перебігу захворювання утворення пероксинітриту не спостерігалось. Результати досліджень несуть корисну діагностичну й прогностичну інформацію.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** рак гортані, метаболізм, система оксиду азоту.

**ВСТУП.** Доведено, що iNOs відіграє надзвичайно важливу роль у патогенезі розвитку великої кількості захворювань, у тому числі онкологічних. Інтенсивність і тривалість активації iNOs при онкопатології супроводжуються збільшенням синтезу NO.

Відомо, що NO є вільним радикалом і за несприятливих умов метаболізму здатен викликати окиснювальний стрес. Реакція NO з киснем супроводжується утворенням стабільних кінцевих продуктів (нітритів і нітратів), які є непрямими маркерами концентрації NO в організмі, а при взаємодії із супероксидрадикалом утворюється надзвичайно токсичний радикал (пероксинітрит-аніон) [1, 2, 3, 4].

Пероксинітрит-аніон (ONOO<sup>-</sup>) здатен ушкоджувати ДНК і призводити до генетичних мутацій в організмі [5, 6, 7], а також брати участь у реалізації окиснювального стресу.

Метою роботи було проведення ретроспективного аналізу активності iNOs і продукту метаболізму азоту – NO<sub>2</sub> у хворих на рак гортані протягом 6 міс. з моменту виконання операції залежно від типу перебігу захворювання (ускладненого й неускладненого).

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Проведено обстеження 90 пацієнтів з раком гортані. Контрольну групу склали 40 донорів (1-ша група). До 2-ї групи ввійшли хворі, які перебували на до-

© Л.Л. Воронцова, 2007.

операційному етапі. Залежно від проведеного лікування пацієнтів поділили на групи: 3-тя група (30 чоловік) – хворі, яким, крім оперативного, було призначено променеве лікування; 4-та група (30 чоловік) – хворі, які отримували оперативне, променеве й активаційне лікування антигомотоксичними препаратами; 5-та група (30 чоловік) – хворі, які отримували операційне й активаційне лікування антигомотоксичними препаратами.

У пацієнтів усіх груп було проаналізовано дані, одержані в процесі дослідження: на доопераційному етапі, через 1 і 6 міс. після операції. Ретроспективно хворих з безрецидивним перебігом захворювання виділили в окремі підгрупи (3а, 4а й 5а), а хворих з ускладненим післяопераційним перебігом захворювання (метастази, рецидиви або летальний кінець протягом 1 року) – у підгрупи 3б, 4б і 5б.

Показники системи оксиду азоту (iNOs і стабільний метаболіт NO<sub>2</sub>) визначали за методом Грісса.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У хворих 3а підгрупи (табл. 1) на доопераційному етапі виявлено тенденцію до зниження активності iNOs. Вміст NO<sub>2</sub> був меншим показників донорів на 17 %. Через 1 міс. після проведення операції відзначено різке підвищення як активності iNOs, так і вмісту NO<sub>2</sub> (на 103 і 70 % відповідно). Через 6 міс. зберігалася та ж динаміка показ-

ників як iNOs, так і NO<sub>2</sub> (на 64 і 41 % вище показників донорів).

У хворих 4а підгрупи на доопераційному етапі показники системи оксиду азоту (як iNOs, так і NO<sub>2</sub>) були знижені на 25 і 61 % відповідно стосовно групи донорів. Через 1 міс. після операції відзначено збільшення активності iNOs на 56 % і тенденцію до зростання рівня NO<sub>2</sub> на 13 %. При дослідженні через 6 міс. показники перевищували значення донорів на 102 і 85 % відповідно.

У хворих 5а підгрупи на доопераційному етапі відзначено зростання активності iNOs на 19 %, тоді як вміст NO<sub>2</sub> відповідав нормальним значенням. Через 1 міс. активність iNOs перевищувала значення донорів на 23 %, а вміст

NO<sub>2</sub> – на 14 %. Через 6 міс. активність iNOs була вищою показників донорів на 23 %, тоді як вміст NO<sub>2</sub> знизився на 24 %, що дало можливість припустити утворення пероксинітриту.

У хворих 3б підгрупи (табл. 2) на доопераційному етапі було відзначено підвищення активності iNOs на 23 %, тоді як рівень NO<sub>2</sub> відповідав значенням донорів. Через 1 міс. після операції виявлено тенденцію до зростання активності iNOs (на 10 %) і зниження вмісту NO<sub>2</sub> стосовно показників донорів. Через 6 міс. відзначено підвищення активності iNOs на 19 % і зменшення вмісту NO<sub>2</sub> на 71 %.

Таким чином, у хворих 3б підгрупи на всіх етапах дослідження динаміка показників свідчила про утворення ONOO<sup>-</sup>.

Таблиця 1 – Показники iNOS і NO<sub>2</sub> у хворих на рак гортані з безрецидивним перебігом захворювання з урахуванням отриманої терапії

Показники	Донори	Променева терапія			Променева + антигомотоксична терапія			Антигомотоксична терапія		
		доопер.	1 міс.	6 міс.	доопер.	1 міс.	6 міс.	доопер.	1 міс.	6 міс.
iNOs	18,2±0,3	17,8±1,1	37,0±2,4*	30,1±2,0	13,7±2,3*	28,5±1,7*	36,9±2,3*	21,7±3,2	22,4±0,9	21,7±1,4
NO <sub>2</sub>	16,4±0,6	13,6±1,8	27,9±1,9*	23,2±1,5	6,4±0,8*	18,6±0,9	30,5±2,0*	16,0±1,8	18,8±1,0	12,6±0,3

Примітка. Тут і в наступній таблиці: \* – p<0,05 достовірна різниця щодо донорів.

Таблиця 2 – Показники iNOS і NO<sub>2</sub> у хворих на рак гортані з ускладненим перебігом захворювання з урахуванням отриманої терапії

Показники	Донори	Променева терапія			Променева + антигомотоксична терапія			Антигомотоксична терапія		
		доопер.	1 міс.	6 міс.	доопер.	1 міс.	6 міс.	доопер.	1 міс.	6 міс.
iNOs	18,2±0,3	22,4±0,3	20,1±1,7	21,8±0,9	24,3±0,9*	11,4±0,7	18,9±0,2	22,7±0,9	22,8±1,0	24,6±1,7*
NO <sub>2</sub>	16,4±0,6	16,4±0,6	15,7±0,4	4,8±0,1*	17,2±0,8	3,0±0,1*	14,8±0,4	16,4±0,5	16,0±0,3	14,8±0,5

У хворих 4б підгрупи на доопераційному етапі виявлено тенденцію до зниження активності iNOs і вмісту NO<sub>2</sub> на 30 % стосовно показників донорів. Через 1 міс. активність iNOs була знижена на 38 %, а рівень NO<sub>2</sub> – на 98 %. Через 6 міс. активність iNOs відповідала нормальним значенням, тоді як щодо вмісту NO<sub>2</sub> намітилася тенденція до зменшення, що, ймовірно, свідчило про утворення ONOO<sup>-</sup>.

У хворих 5б підгрупи, починаючи з доопераційного етапу, а також через 1 і 6 міс. показники активності iNOs перевищували значення донорів у середньому на 23 %, тоді як вміст NO<sub>2</sub> відповідав значенням донорів (лише через 6 міс. його вміст був нижчим значень донорів на 10 %). Отримані дані свідчили про утворення ONOO<sup>-</sup> на всіх етапах дослідження.

**ВИСНОВКИ.** 1. У хворих на рак гортані з ускладненим перебігом захворювання спостерігаються розрегулювання синтезу NO (зумовлене окиснювальним стресом) і перетворення його в пероксинітрит, що і є однією з причин індукції неоплазій.

2. У хворих на рак гортані, які одержували променево або комбіновану післяопераційну терапію, при безрецидивному перебізі захворювання пероксинітриту не виявлено.

3. У хворих на рак гортані, які отримували антигомотоксичну терапію, при безрецидивному перебізі захворювання відзначено утворення пероксинітриту, що свідчить про захисний ефект NO і, ймовірно, прямо залежить від одержуваної післяопераційної терапії.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Беленічев І.Ф., Дмитряков В.А., Беллева О.О. Роль оксиду азоту в регулюванні фізіологічних фун-

кцій в нормі та при ішемічній патології // Військова медицина України. – 2002. – 2, № 3. – С. 48-54.

2. Ивашкин В.Т., Драпкин О.М. Оксид азота в регуляции функциональной активности физиологических систем // Росс. журн. гастроэнтер., гепат., колопрокт. – 2000. – № 4. – С. 16-21.

3. Раевский К.С. Оксид азота – новый физиологический мессенджер: возможная роль при патологии центральной нервной системы // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1997. – **123**, № 5. – С. 484-490.

4. Топчий И.И. Роль оксида азота в регуляции функции почек при прогрессирующих гломеруло-нефропатиях // Укр. тер. журн. – 2002. – **4**, № 2. –

С. 72-77.

5. Kuo P.C., Abe K.Y. Nitric oxide-associated regulation of hepatocyte glutathione synthesis is a guanylyl cyclase – independent event // Surgery. – 1996. – **120**. – P. 309-314.

6. Meller S.T., Yebhort Y.F. Nitric oxide (NO) and nociceptive processing in the spinal cord // Pain. – 1993. – **52**. – P. 127-136.

7. Yarthwaite J. Glutamate, nitric oxide and cell-cell signaling in the nervous system // Trends Neurosci. – 1999. – **14**. – P. 60-71.

## РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМЫ ОКСИДА АЗОТА У БОЛЬНЫХ РАКОМ ГОРТАНИ С ЦЕЛЬЮ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ДАЛЬНЕЙШЕГО ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Л.Л. Воронцова

ЗАПОРІЖСЬКА МЕДИЦИНСКА АКАДЕМІЯ ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ

### Резюме

Проведён ретроспективный анализ содержания фермента  $iNO_3$  и продуктов метаболизма системы  $NO - NO_2$  у больных раком гортани с бесрецидивным течением заболевания и с течением, осложнённым метастазами, рецидивами, или летальным концом. У больных раком гортани с осложнённым течением заболевания получены данные, которые побочно свидетельствуют об образовании пероксинитрита, что и является одной из причин индукции неоплазий. В случае бесрецидивного течения заболевания образования пероксинитрита не наблюдалось. Результаты исследований несут полезную диагностическую и прогностическую информацию.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: рак гортани, метаболизм, система оксида азота.

## RETROSPECTIVE ANALYSIS OF INDEXES OF NITRIC OXIDE SYSTEM AT PATIENTS WITH LARYNX CANCER WITH THE PURPOSE OF PROGNOSIS OF FURTHER DISEASE COURSE

L.L. Vorontsova

ZAPORIZHYAN MEDICAL ACADEMY OF POST-GRADUATE EDUCATION

### Summary

The retrospective analysis of  $iNOs$  enzyme contents and metabolism products of  $NO - NO_2$  system has been carried out at patients with larynx cancer when the disease takes its course without relapses or with complications by metastases, relapses or fatal outcomes. At patients with larynx cancer with complicated course of the disease the information was obtained indirectly testifying to formation of peroxynitrite, what is one of the reasons of neoplasia induction. In case of diseases when relapses did not occur the formation of peroxynitrite was not observed. The results of researches carry useful diagnostic and prognostic information.

KEY WORDS: larynx cancer, metabolism, system of oxide nitrite.

Отримано 16.05.2007 р.

Адреса для листування: Л.Л. Воронцова, Запорізька медична академія післядипломної освіти, Запоріжжя, Україна.

## АМІНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД ЕКСТРАКТУ ХУДІЇ ТА БУЛЬБОКОРЕНІВ ЗОЗУЛИНЦЮ

**В.С. Кисличенко, І.В. Ярошенко, В.Ю. Кузнєцова**  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Представлено результати вивчення якісного складу та кількісного вмісту вільних і зв'язаних амінокислот в екстракті з м'якоті худії (*Hoodia gordonii*) та бульбокоренів зозулинцю шоломоносного (*Orchis militaris*).

КЛЮЧОВІ СЛОВА: амінокислоти, худія, зозулинець.

**ВСТУП.** Відомо, що амінокислоти є вихідним матеріалом для біосинтезу в рослинах ауксинів, ферментів, алкалоїдів, поліфенолів, вітамінів та інших груп біологічно активних речовин. Завдяки широкому спектру фармакологічної дії, здатності посилювати нешкідливість і засвоєння інших речовин з одночасним потенціюванням ефекту, амінокислоти привертають до себе все більшу увагу дослідників як цінні харчові компоненти і потенційні лікарські засоби. Результати біохімічних досліджень, проведених вітчизняними і зарубіжними вченими, свідчать про важливу роль амінокислот у функціонуванні різних систем і органів людини. Амінокислоти як складові частини білків беруть участь у всіх життєво важливих процесах поряд з нуклеїновими кислотами, вуглеводами і ліпідами. Вони перебувають у динамічній рівновазі при численних реакціях обміну. Глутамінова й аспарагінова кислоти займають центральне місце у процесах зв'язування, транспорту і виведення з організму біологічно активних форм нітрогену, сприяють підтриманню азотистого балансу. Метіонін здатен стимулювати послаблену серцеву діяльність. Гліцин і його похідні проявляють виражену гіполіпідемічну дію; деякі амінокислоти стимулюють секрецію інсуліну клітинами підшлункової залози [1, 2, 3].

Метою нашої роботи було вивчення якісного складу та кількісного вмісту вільних і зв'язаних амінокислот в екстракті з м'якоті худії (*Hoodia gordonii*) та бульбокоренів зозулинцю шоломоносного (*Orchis militaris*), що входять до складу препаратів, які нормалізують обмін речовин і використовуються для лікування ожиріння [5, 6, 7].

© В.С. Кисличенко, І.В. Ярошенко, В.Ю. Кузнєцова, 2007.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Повний амінокислотний аналіз у досліджуваній сировині проводили за допомогою амінокислотного аналізатора LKB 4151 "Альфа Плюс" (Швеція) на колонці, заповненій іонообмінною смолою марки DCGA. Для виконання дослідження сировину попередньо витримували у сушильній шафі при температурі 100 °С протягом 2-3 год до постійної маси [4].

Потім близько 0,1 г (точна наважка) висушеної сировини вносили в ампулу (скло Пірекс), заливали 200-кратним надлишком 6 М розчину кислоти хлористоводневої, відкачували повітря, запаювали, поміщали у термостат при температурі +80 °С і гідролізували протягом 20 год. Після цього ампулу розкривали, надлишок кислоти хлористоводневої відганяли і проводили нейтралізацію проб в ексикаторі над натрію гідроксидом протягом 2 діб. Потім пробу розбавляли 10 мл цитратного буферного розчину (рН-2,2), ретельно перемішували і фільтрували. Одержаний фільтрат вносили у колонку, заповнену іонообмінною смолою, і крізь колонку за допомогою насоса пропускали цитратні буферні розчини від 2,2-7,8 рН з різною іонною силою, що сприяло розділенню амінокислот.

Елюат, який виходив із колонки, змішувався з нінгідриним реагентом у реакторі при температурі 135 °С, де проходила реакція між нінгідрином і амінокислотами з утворенням забарвлених сполук. Потім суміш надходила до спектрофотометра, де визначали інтенсивність поглинання забарвленої сполуки. УФ-спектр поглинання отримували при довжині хвилі 440 нм для проліну та при довжині хвилі 570 нм для інших амінокислот. Вихідний сигнал фото-

Таблиця 1 – Кількісний вміст вільних і зв'язаних амінокислот у екстракті з м'якоті худії та бульбокоренів зозулинцю шоломоносного

Назва амінокислоти	Кількісний вміст, мкг/100 мг			
	худія		бульбокорені зозулинцю шоломоносного	
	вільні амінокислоти	зв'язані амінокислоти	вільні амінокислоти	зв'язані амінокислоти
Аспарагінова кислота	119	49	380	364
Треонін	30	1,5	22	35
Серин	32	21	58,5	50
Глутамінова кислота	112	102	106	217
Пролін	49	31	47	75
Гліцин	17	23	34	55
Аланін	28	24	45	73
Валін	39	31	83	37
Метіонін	53	29	90	35
Ізолейцин	34	21	60	52
Лейцин	26	37	31	88
Тирозин	83	34	158	41
Фенілаланін	23	56	200	89
Гістидин	60	25	70	60
Лізін	1	26	607	118
Аргінін	43	368	396	233

метра надходив на двоканальний самописець, який реєстрував концентрації амінокислот на хроматограмі у вигляді серії піків. Час утримування піку, який визначали за хроматограмою, характеризував кожну індивідуальну амінокислоту. Площа піку відповідала кількості присутньої амінокислоти. Електричний сигнал самописця також надходив на інтегратор, який автоматично обчислював площу кожного піку. Для калібрування амінокислотного аналізатора крізь катіоніт пропускали стандартну суміш амінокислот [4]. Результати визначення якісного та кількісного складу амінокислот наведено в таблиці 1.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ Як видно з таблиці, специфічний спектр вільних і зв'язаних

амінокислот худії та бульбокоренів зозулинцю включає 16 компонентів. Для нас також було цікавим виявлення незамінної амінокислоти гістидину, що в організмі піддається декарбоксілюванню з утворенням гістаміну. Останній є одним з ендогенних факторів, що бере участь в регуляції життєво важливих функцій організму.

ВИСНОВКИ. 1. Вперше визначено якісний склад та кількісний вміст вільних і зв'язаних амінокислот в екстракті з м'якоті худії та бульбокоренів зозулинцю шоломоносного.

2. Визначення вмісту амінокислот в об'єктах, що досліджувалися, дає більш повне уявлення про склад препаратів для нормалізації обміну речовин та лікування ожиріння.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Бубенчикова В.Н., Сухомлинов Ю.А. Лабазник шестилепестной: аминокислотный и минеральный состав // Фармация. – 2005. – № 3. – С. 9-11.
2. Копытько Я.Ф. Аминокислоты и жирные кислоты настоек парнасия (белозора болотного) гомеопатических матричных // Химико-фармац. журн. – 2003. – **37**, № 7. – С. 12-14.
3. Урманова Ф.Ф. Аминокислотный состав ханделии волосистой // Вісник фармації. – 2002. – № 1. – С. 28-29.
4. Черонис Н.Д. Микро- и полумикрометоды

органического анализа. – М.: Химия, 1973. – 576 с.

5. Drenick E.J., Bales G.S., Seltzer F. Excessive mortality and causes of death morbidly obese man // JAMA. – 1980. – **243** – P. 443-445.

6. Trease and Evans. Pharmacognosy. – Saunders: Edinburge, London, New York, Oxford, Philadelphia, St. Louis, Sydney, Toronto, 2000. – 586 p.

7. Seidell J.S. The worldwide epidemic obesity. In: Progress in obesity research. 8<sup>th</sup> International congress on obesity. B. Guy-Grand, G.Aihaud. London: John Libbey and company Ltd. – 1999. – P. 661-668.

## АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ЭКСТРАКТА ХУДИИ И КЛУБНЕКОРНЕЙ ЯТРЫШНИКА

**В.С. Кисличенко, И.В. Ярошенко, В.Ю. Кузнецова**  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

### Резюме

Представлены результаты изучения качественного состава и количественного содержания свободных и связанных аминокислот экстракта мякоти худии (*Hoodia gordonii*) и клубнекорней ятрышника шлемоносного (*Orchis militaris*).

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **аминокислоты, худия, ятрышник.**

## THE AMINOACID COMPOSITION OF HOODIA GORDONII AND ORCHID MILITARIS EXTRACT

**V.S. Kyslychenko, I.V. Yaroshenko, V.Yu. Kuznetsova**  
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

### Summary

The results of investigation of qualitative composition and quantitative contents of free and linked aminoacids in extract of hoodia pulp and military orchid are presented in this article.

KEY WORDS: **aminoacids, Hoodia gordonii, Orchis militaris.**

Отримано 25.05.2007 р.

Адреса для листування: В.С. Кисличенко, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна.

**Для отримання оперативної інформації звертайтеся  
до нашої сторінки в Інтернеті:  
[www.tdmu.edu.te.ua](http://www.tdmu.edu.te.ua)**

## ЕКОТОКСИКОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ВПЛИВУ КАДМІЮ НА ОРГАНІЗМ ЛЮДИНИ І ТВАРИН

Г.Л. Антоняк<sup>1</sup>, Н.Є. Панас<sup>2</sup>, Ю.В. Жилищич<sup>2</sup>, Л.П. Білецька<sup>2</sup>  
 ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ІВАНА ФРАНКА<sup>1</sup>  
 ЛЬВІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ<sup>2</sup>

*У статті проаналізовано нові наукові дані щодо впливу кадмію на організм людини і тварин. Вказано на поширення цього важкого металу в природі та забруднення кадмієм навколишнього середовища. Розглянуто шляхи надходження кадмію в організм людини і тварин, процеси абсорбції елемента й токсичні ефекти кадмію в організмі. Приділено увагу екологічним та біохімічним аспектам цих проблем.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** кадмій, важкі метали, навколишнє середовище, організм, метаболізм, гемопоєз.

Кадмій (Cd) – важкий метал атомною масою 112,41, що міститься в 2-й побічній групі періодичної системи і належить до 10 хімічних елементів, визнаних пріоритетними забруднювачами біосфери. Сполуки кадмію інтенсивно використовуються в промисловому виробництві та нагромаджуються в складі промислових відходів [39, 40, 54, 59]. Водночас істотним джерелом забруднення повітря кадмієм є цигарковий дим [11, 37]. Накопичення цього важкого металу в компонентах природного середовища збільшує небезпеку надходження його в організм та становить загрозу для здоров'я людини і тварин.

Результати багатьох експериментальних робіт свідчать про те, що в організмі ссавців кадмій проявляє токсичний вплив на низку органів (нирки, печінка, легені, статеві залози, кістки) і систем (видільна, серцево-судинна, кровотворна, імунна) [13, 19, 26, 53]. До найнебезпечніших належать мутагенні й канцерогенні ефекти цього елемента – в інгалаційній формі кадмій вважається канцерогеном людини [35, 64, 65]. Однак багато аспектів цієї проблеми повністю не з'ясовано. Незважаючи на те, що на даний час відомо про високу спорідненість кадмію до біологічних структур, які містять SH-групи, його здатність зумов-

лювати розвиток оксидативного стресу та замінювати іони інших металів (головним чином  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  і  $Ca^{2+}$ ) в молекулах металоферментів [25, 62], значний інтерес становить вивчення механізмів надходження кадмію в організм людини і тварин та його токсичного впливу на функціонування органів і систем. У зв'язку з цим, метою даної оглядової статті було узагальнити нові наукові дані щодо екотоксикологічних аспектів забруднення довкілля кадмієм, надходження токсиканта та живі організми та його впливу на життєво важливі процеси в організмі тварин і людини.

**ПОШИРЕННЯ КАДМІЮ В ПРИРОДІ.** За фізичними і хімічними властивостями подібний до цинку і тісно зв'язаний з його сполуками в літосфері (сфалерит, каломін) [18]. Цинкові руди є основним промисловим джерелом кадмію, а співвідношення між рівнями кадмію і цинку в них перебуває в межах 1:100-1:1000 [45]. Кадмій виявляють також у свинцевій руді. З природних порід найбільше кадмію містять базальт (0,19-0,22 мг/кг), сланці (0,30 мг/кг), граніт (0,10 мг/кг) [6].

Кадмій надходить у навколишнє середовище, головним чином, у результаті гірничодобувних робіт і таких виробничих процесів, як добування і переробка цинкових руд, виплавка сталі й сплавів, гальванічне покриття металів, виробництво фосфатних добрив, аку-

© Г.Л. Антоняк, Н.Є. Панас, Ю.В. Жилищич, Л.П. Білецька, 2007.



муляторів, пластмас, спалювання вугілля і відходів [14, 41, 45]. Високі концентрації кадмію виявляють у повітрі промислових міст (до 0,06 мкг/м<sup>3</sup>) та поблизу металоплавильних заводів [14, 41]. За відсутності підприємств, що викидають кадмій у навколишнє середовище, вміст елемента в повітрі становить ~0,001 мкг/м<sup>3</sup>. Це призводить до вдихання його дорослими особами в середньому 0,02-0,03 мкг на добу [33, 45]. Істотним джерелом надходження кадмію в повітря є цигарковий дим [11, 37]. Це зумовлено не лише забрудненням кадмієм ґрунтів, де вирощують тютюн, але й схильністю рослин роду *Nicotiana* L. концентрувати у своїх тканинах кадмій незалежно від вмісту його в ґрунті. Таким чином, кадмій є складовою частиною тютюну, що зумовлює шкідливий вплив цигаркового диму на організм людини.

Вміст кадмію в ґрунтах, де переважають його рухомі форми, коливається в широких межах і є найбільшим у верхніх шарах ґрунтового профілю. Значною мірою цей показник залежить від рН, структури ґрунту та інтенсивності використання добрив, зокрема суперфосфату [30, 33]. Вміст кадмію високий у ґрунтах поблизу гірничодобувних і металургійних підприємств, автомобільних доріг, а також за умов застосування стічних вод для зрошення земель [16, 58].

У водоймах кадмій виявляють, головним чином, у донних відкладах, звідки цей елемент може переходити у водну фазу [24, 58]. Розподілений він між трьома основними геохімічними фазами донних осадових порід (карбонати, оксиди Fe-Mn, органічні форми вуглецю) [38]. Останні відіграють найважливішу роль у зв'язуванні кадмію. Зв'язування кадмію з органічними та неорганічними формами вуглецю зумовлює значну мобільність і біологічну доступність елемента – здатність легко включатися в харчові ланцюги.

Що стосується розчинних форм кадмію, то в прісноводних водоймах концентрація Cd<sup>2+</sup> може змінюватися в широких межах. У воді океанів та відкритих морів вміст кадмію становить 0,5-10 нг/л, однак у закритих морях і, особливо, в прибережних зонах цей показник вищий [24, 51]. У гирлах річок відбуваються змішування річкової та морської води й утворення комплексів кадмію з хлоридами і сульфатами, внаслідок чого вміст Cd<sup>2+</sup> зменшується і стає близьким до такого в морській воді. Гідробіонти (риби, ракоподібні, молюски) біоконцентрують цей елемент і можуть передавати його по харчових ланцюгах до інших організмів, у тому числі й людини [12, 24, 51].

**НАДХОДЖЕННЯ КАДМІЮ В ОРГАНІЗМ ЛЮДИНИ І ТВАРИН ТА АБСОРБЦІЯ ЕЛЕМЕНТА.** Кадмій є кумулятивним елементом з напівтерміном біологічного існування більш ніж 25 років [22, 26, 54]. У новонародженому організмі кадмій майже відсутній, але з віком вміст елемента зростає і становить у тілі 50-річної людини 5-20 мг. У населення більшості країн Європи та в США цей показник становить ~10 мг, у мешканців Японії він досягає ~20 мг і більше [45].

В організм людини кадмій надходить у складі атмосферного повітря, з питною водою та харчовими продуктами і нагромаджується в клітинах органів і тканин, де зв'язується з низькомолекулярним, багатим на залишки цистеїну білком металотіонеїном [44, 52, 55]. Акумуляція кадмію в організмі значною мірою залежить від взаємодії з двовалентними біометалами (Zn, Fe, Cu, Ca), що може відбуватися на різних стадіях абсорбції, розподілу в органах і тканинах, а також на рівні біологічних функцій клітин [10, 18, 20, 43].

Рівень надходження кадмію з продуктами харчування та питною водою в організм людини в середньому становить 30-38 мкг на добу, однак існують значні відмінності в інтенсивності надходження його в організм мешканців різних регіонів земної кулі [17, 65]. У деяких європейських країнах, Новій Зеландії, США цей показник становить ~15-20 мкг на добу, а в Японії він у декілька разів вищий [45]. Що стосується рівня надходження кадмію інгаляційним шляхом, то, за винятком курців, які вдихають приблизно 3-5 мкг Cd на добу, даний показник (0,02-0,03 мкг на добу) незначний порівняно з кількістю елемента, яка потрапляє в організм через шлунково-кишковий тракт [33]. Однак підвищений рівень надходження кадмію інгаляційним шляхом та збільшений вміст елемента в крові спостерігаються в населення, яке проживає поблизу металоплавильних заводів [41]. Рівень абсорбції кадмію з повітря, яке вдихається, може досягати 90 %.

Інтенсивність нагромадження кадмію в тілі людини і тварин залежить від біологічної доступності та рівня абсорбції елемента. Біологічна доступність неорганічних сполук кадмію нижча, ніж доступність елемента, що надходить у складі харчових продуктів, зокрема тваринного походження [26].

Кадмій, що надходить у шлунково-кишковий тракт, абсорбується у тонкій кишці за допомогою тих самих механізмів, що й незамінні елементи, такі, як Ca, Fe, Zn, Cu [8, 17]. Рівень абсорбції кадмію у травному тракті ста-

новить лише ~5 % [65] і залежить від багатьох чинників, наприклад від вмісту білка, вітамінів (аскорбінова кислота, піридоксин, вітамін D) та інших металів (Zn, Fe, Cu, Se, Ca) у кормі [17, 19, 20]. Зокрема, істотно впливає на цей процес взаємодія  $Cd^{2+}$  з катіонами цинку, які пригнічують процес абсорбції кадмію [18, 20]. Тому низький вміст  $Zn^{2+}$  в кормі посилює абсорбцію кадмію та затримання його в тканинах. Водночас важливим чинником, що впливає на абсорбцію кадмію, є вміст іонів заліза в кормі та рівень забезпечення даним елементом організму [20, 46]. Кадмій має здатність зв'язуватись із залізотранспортним білком трансферіном, що зумовлено подібністю фізико-хімічних властивостей цих металів. Крім того, абсорбція іонів кадмію й заліза опосередковується спільним переносником – транспортером двовалентних металів типу 1 (DMT1, divalent metal transporter-1). Очевидно, тому за умов дефіциту заліза інтенсивність абсорбції кадмію збільшується, а шкідливі ефекти цього елемента в організмі можуть підсилюватись [46]. Іншим чинником, що сприяє процесам абсорбції кадмію, є низький вміст іонів кальцію та вітаміну D у кормі [17, 26].

**АКУМУЛЯЦІЯ В ОРГАНАХ І ТКАНИНАХ ТА ЕКСКРЕЦІЯ КАДМІЮ.** Незалежно від шляху абсорбції, кадмій швидко зникає з крові й концентрується в тканинах організму. Через 5 хв після ін'єкції  $^{109}Cd$  в крові щура залишається лише 10 % радіоактивно позначеного кадмію [34]. Катіони кадмію надходять у різні клітини тими самими шляхами, що й  $Ca^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ . Пригнічення процесу надходження  $Cd^{2+}$  в клітини інгібітором кальцієвих каналів верапамілом (на 76 %) вказує на те, що основна частка кадмію потрапляє у клітини через кальцієві канали плазматичних мембран [47].

Акумулюється кадмій у клітинах внаслідок зв'язування з цитоплазматичними та ядерними структурами. У клітинах тканин кадмій розподіляється, головним чином, між ядром, де виявляється приблизно 20 % елемента, і цитоплазмою, де основна частка елемента зв'язується з металотіонеїном (MT) – цитозольним дводоменним білком молекулярною масою 6-7 kDa, що складається в середньому з 61 залишку амінокислот [27, 44, 52]. Особливостями хімічної структури металотіонеїну є відсутність ароматичних амінокислот і наявність 20 залишків цистеїну. Просторова орієнтація цих залишків зумовлює високу спорідненість молекул MT до цинку і кадмію. Водночас із залишками цистеїну в молекулі металотіонеїну можуть зв'язуватись інші елементи (мідь, ртуть, миш'як), внаслідок чого змен-

шується токсичність останніх щодо біологічних структур [18, 44]. За фізіологічних умов один із доменів MT ( $\alpha$ -домен) зв'язується з чотирма атомами Zn, а другий ( $\beta$ -домен) – з трьома атомами Cu або обидва домени зв'язуються з атомами Zn. За наявності в середовищі кадмію 7 атомів цього елемента можуть зв'язатись із молекулою металотіонеїну. Півперіоди функціонування комплексів Zn-MT і Cd-MT становлять, відповідно, 18-25 год та від 60 год до 3-х діб [44].

Кадмій належить до найпотужніших індукторів синтезу металотіонеїну в печінці, нирках та кишечнику тварин поряд із такими металами, як цинк і мідь [55]. У гепатоцитах інтенсивність синтезу MT у відповідь на надходження кадмію найбільша порівняно з іншими клітинами. Деякі автори вважають, що після включення кадмію до складу молекул MT комплекси Cd-MT можуть поступово виходити з клітин печінки у кров і транспортуватись в інші органи, особливо нирки [45]. У проксимальних ниркових канальцях відбуваються реабсорбція комплексів Cd-MT та їх катаболізм. Вивільнені іони кадмію зв'язуються з новосинтезованими в канальцевих клітинах молекулами MT [26, 53].

У нирках людини концентрація кадмію приблизно в 10-15 разів більша, ніж у печінці, й становить у цих органах, відповідно, 11-28 та 0,5-3,2 мкг/г. Деяко вищий вміст кадмію виявляють у печінці мешканців промислових міст (1,5-5,8 мкг/г). У жителів Японії ці показники значно більші (54-100 і 5-10 мкг/г у нирках і печінці відповідно), а в населення Канади становлять, відповідно, 41 і 1,6 мкг/г [15, 45].

Кадмій нагромаджується і в інших органах і тканинах (селезінка, сім'яники, легені, ендокринні залози, кістки, плацента). Однак рівень акумуляції  $Cd^{2+}$  в цих органах значно менший, ніж у печінці й нирках тварин [3, 4, 43]. За умов гострої інтоксикації катіони кадмію акумулюються в клітинах дванадцятипалої кишки, де інтенсивно відбувається зв'язування елемента з металотіонеїном [46].

Існують видові, статеві та вікові відмінності в інтенсивності акумуляції кадмію в органах і тканинах організму, а також вплив на цей процес фізіологічних чинників [46, 56]. У жінок вміст кадмію в крові та нирках вищий, ніж у чоловіків. За вагітності рівень акумуляції елемента у дванадцятипалій кишці щурів-самок збільшується майже втричі, а в печінці й нирках – у 2 рази [46]. Вміст кадмію в органах ембріона, плода і новонародженого організму на 3 порядки нижчий, ніж у матері. Однак вміст

елемента в організмі після народження зростає, збільшуючись упродовж перших трьох років у нирках і печінці дітей майже у 200 разів [45].

Екскреція кадмію з організму людини і тварин відбувається через видільну систему, травний тракт, з волоссям і шерстю [34, 45]. Вміст кадмію в сечі людини становить 2,4 мкг/г креатиніну, але в забруднених кадмієм регіонах може досягати 4,8-14,5 мкг/г креатиніну [54], у волоссі – 0,25-1,0 мкг/г. Концентрація кадмію у волоссі дітей більша і зменшується з віком [45].

#### ТОКСИЧНІ ЕФЕКТИ КАДМІЮ В ОРГАНІЗМІ.

Згідно з даними наукових досліджень, кадмій не відіграє фізіологічної ролі в організмі людини і тварин [10, 35, 36]. Цей важкий метал проявляє токсичний вплив практично на всі життєві системи організму ссавців і, незалежно від шляху надходження (ін'єкція, вдихання, споживання з кормом чи питною водою), викликає широкий спектр порушень стану здоров'я, включаючи ракові захворювання [26, 35, 39, 60]. Шкідливі ефекти кадмію зумовлені патологічними змінами в багатьох органах і тканинах (нирки, статеві залози, легені, печінка, залози внутрішньої секреції) [19, 39, 40, 53]. Проте спостерігаються істотні відмінності в метаболічних ефектах одноразових високих доз і тривалого впливу малих доз кадмію.

Одноразові ін'єкції високих доз кадмію експериментальним тваринам негативно впливають перш за все на статеву та нервову системи [23, 45]. Тканини репродуктивних органів (статеві залози, матка) інтенсивно поглинають кадмій та виявляють високу чутливість до дії цього токсиканта. Показано, що некроз сім'яників може зумовлюватись одноразовими низькими дозами кадмію, які не викликають ураження інших органів [54]. Одноразове парентеральне введення сполук кадмію призводить до руйнування плаценти на пізніх стадіях та порушення процесів імплантації ембріона на ранніх стадіях вагітності [23, 45]. Водночас характерним проявом гострої токсичності кадмію в організмі тварин є шкідливий вплив на функціональний стан печінки внаслідок морфологічних і біохімічних змін у гепатоцитах після одноразових ін'єкцій сполук елемента в дозах, що перевищують 0,5-1,0 мг/кг маси тіла [40, 45].

Що стосується одноразового надходження кадмію пероральним шляхом, то в організмі людини перш за все виявляють шлунково-кишкові реакції на інтоксикацію цим важким металом. Симптоми отруєння (нудота, блювання, червоні судоми, головний біль) з'явля-

ються через декілька хвилин після вживання забруднених кадмієм харчових продуктів чи за наявності токсиканта в питній воді у концентрації 15 мг/л [54]. В організмі щура високі концентрації кадмію не викликають шлунково-кишкових реакцій, але можуть зумовлювати ураження печінки та інших органів [45].

За умов тривалого надходження кадмію в організм людини і тварин мають місце ураження нирок та порушення їх функції [19, 39, 40, 54]. Ще в 50-х роках ХХ ст. було встановлено, що внаслідок порушення діяльності ниркових каналців кадмій викликає протеїнурію особливого типу, яка проявляється збільшенням виділення із сечею низькомолекулярних білків, таких, як  $\alpha_1$ - і  $\beta_2$ -мікроглобуліни, N-ацетил- $\beta$ -D-глюкозамінідаза [26, 40]. Зі збільшенням тривалості періоду інтоксикації пошкоджуються ниркові клубочки та зменшується швидкість клубочкової фільтрації, внаслідок чого розвиваються глюкозурія, аміноацидурія, гіперфосфатурія, гіперкальціурія, поліурія та знижується буферна здатність [39]. Такі ефекти переважно виявляють тоді, коли концентрація кадмію в кірковому шарі нирок досягає 200-300 мкг/г сирової маси [45], однак загалом ознаки дисфункції ниркових каналців у експериментальних тварин спостерігаються за широкого діапазону концентрацій кадмію в кірковому шарі нирок (10-200 мкг/г сирової маси) [40]. За умов надходження в організм кадмію в дозі ~30 мкг/добу пошкодження ниркових каналців має місце в 1 % осіб, а в дозі 70 мкг/добу захворювання нирок можуть виявляти у 7-17 % людей [40]. Необхідно зазначити, що нефротоксичність кадмію виникає незалежно від шляху тривалого надходження елемента в організм (пероральний, багаторазові ін'єкції, інгаляційний) [19, 53, 54].

До найважливіших органів-мішеней токсичної дії кадмію за умов його тривалого надходження в організм людини належать легені [28, 60]. Саме в легенях відбувається акумуляція кадмію із забрудненого поллютантом атмосферного повітря та з цигаркового диму [11]. Після потраплення в організм людини й експериментальних тварин інгаляційним шляхом кадмій викликає запальні процеси в органах дихання, бронхіти, хронічну едему [48]. В робітників, які вдихають забруднене кадмієм повітря робочої зони, виявляють пошкодження структур легень [45]. Вдихання кадмію в концентрації ~1 мг/м<sup>3</sup> впродовж 8 год викликає прояв клінічних симптомів отруєння, а в концентрації ~5 мг/м<sup>3</sup> може бути смертельним. Кадмій токсичний щодо клітин легень *in vitro*:

при культивуванні зрізів легень за присутності в середовищі хлориду кадмію в концентрації 2,5; 5; 10 мкмоль  $\text{CdCl}_2$  впродовж 7 діб рівень виживання клітин становив 85, 40 і 6 % відповідно [48]. На основі багатьох повідомлень про зв'язок між наявністю в навколишньому середовищі кадмію та розвитком раку легень було зроблено висновок, що цей елемент в інгальційній формі вважається канцерогеном людини [35, 64, 65].

До характерних ефектів тривалого впливу малих доз кадмію на організм належать порушення структури кісткової тканини [7, 53]. Шкідливі ефекти малих доз кадмію на структуру кісткової тканини вперше встановлено у мешканців Японії, в яких викликана кадмієм остеомаляція призводила до розвитку захворювання ітай-ітай [26, 32]. В основі спричинених кадмієм остеопатій лежать, з одного боку, порушення мінерального обміну внаслідок дисфункції нирок, а з іншого – безпосередній інгібувальний вплив кадмію на процес мінералізації кісток [7]. Зокрема, однією з причин викликаного кадмієм остеопорозу є інгібувальний вплив елемента на процес гідроксилування вітаміну D у кірковому шарі нирок. Окрім того, кадмій має здатність нагромаджуватись у кістках та безпосередньо впливати на їх будову і функції.

За умов тривалого надходження в організм тварин і людини у високих концентраціях кадмію викликає широкий спектр шкідливих ефектів, таких, як пригнічення росту, ентеропатія, анемія, порушення мінералізації кісток, сильне пошкодження нирок, збільшення серцевого м'яза, підвищення тиску крові, порушення розвитку плода, стоншення стінок дрібних судин матки і яєчників та їх атрофія [32, 40, 45, 47, 54]. Часто шкідливі ефекти кадмію в організмі є вторинними щодо порушень, зумовлених токсичним впливом кадмію на діяльність нирок.

До найшкідливіших ефектів кадмію в організмі людини і тварин належить його канцерогенність, перші докази щодо якої отримано під час дослідів на лабораторних тваринах ще в 1960 р. [35, 64]. Встановлено зв'язок між надходженням кадмію та розвитком лейкомії, ракових захворювань таких органів, як легені, нирки, сечовий міхур, підшлункова і молочна залози, простата [11, 29, 64]. Водночас сполуки цього елемента здатні індукувати морфологічні зміни, хромосомні аберації і генні мутації в культивованих клітинах ссавців [29, 42].

**МЕХАНІЗМИ ТОКСИЧНОГО ВПЛИВУ КАДМІЮ НА ОРГАНІЗМ.** Навіть за низького рівня акумуляції кадмію в клітинах органів і тканин вияв-

ляють біохімічні ефекти цього елемента. Перш за все це вплив на активність деяких ферментів та їх інактивація, пригнічення процесів окиснювального фосфорилування та синтезу цитохрому  $\text{P}_{450}$ , зв'язування з білками та молекулами ДНК, несприятливий вплив на процеси реплікації [26, 29, 54]. Кадмій викликає стресоподібні реакції-відповіді в багатьох сигнальних каскадах, включаючись у регуляцію експресії генів [21, 22, 28].

Як відомо, кадмій діє в організмі як про-оксидант і здатний підвищувати інтенсивність утворення активних форм кисню (АФК) та викликати оксидативний стрес у клітинах [1, 61]. Водночас у механізмах токсичності кадмію важливу роль відіграє безпосереднє зв'язування елемента з клітинними компонентами. Кадмій проявляє високу спорідненість до біологічних структур, які містять SH-групи, а білки, до складу яких входять сульфгідрильні групи, розміщені поруч, є особливо чутливими до інактивації під впливом цього токсиканта [21, 25, 61]. У зв'язку з цим, за умов дії кадмію в клітинах часто зменшується вміст відновленої форми глутатіону та SH-груп білків, що призводить до зниження інтенсивності детоксикації активних форм кисню та їх нагромадження в тканинах [25, 61]. Такі процеси супроводжуються утворенням міжмолекулярних та внутрішньомолекулярних дисульфідів, що зменшує функціональну активність білків. У деяких клітинах підвищується рівень утворення протеїн-глутатіоніл-дисульфідів (протеїн-SSG), що є важливим чинником у процесах інактивації білків, зокрема ферментів (фосфофруктокіназа, протеїнтирозинфосфатаза 1B). Порушення гомеостазу сульфгідрильних груп у клітинах значною мірою пов'язане з інгібувальним впливом кадмію на активність ферментів, що належать до систем тіолтрансфераз і тіоредоксину – каталізаторів процесів відновлення протеїн-SSG та модифікованих сульфідрильних груп [21].

Крім того, негативний вплив кадмію на ферментні системи клітин значною мірою зумовлений заміщенням іонів інших металів, головним чином  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  і  $\text{Ca}^{2+}$ , в молекулах металоферментів [61].

**ВПЛИВ КАДМІЮ НА ГЕМОПОЕЗ.** У низці експериментальних робіт показано, що кадмій токсично впливає на гемопоез та функціональний стан імунної системи в організмі тварин і людини [13, 31, 32, 49, 63]. Інгібувальний вплив кадмію на еритропоез установлено і в наших дослідженнях [2, 5, 9, 57]. Одним із найвідоміших проявів токсичності кадмію щодо системи гемопоезу є розвиток анемії як

одного із симптомів хвороби ітай-ітай, описаної в жителів району Тояма в Японії [26]. У дослідженнях патогенезу захворювання встановлено, що важливу роль у розвитку анемії в даному випадку відіграє пригнічення процесу утворення еритропоєтину внаслідок порушень під впливом кадмію функціональної активності нирок [31, 32].

Як відомо, кадмій здатний акумулюватись в органах гемопоєзу та еритроцитах, де зв'язується з металотіонеїном, який синтезується в клітинах кровотворної тканини [62]. Металотіонеїн відіграє важливу роль у механізмах захисту клітин системи гемопоєзу від токсичного впливу кадмію. Тварини, в яких відсутній ген металотіонеїну, майже в 10 разів чутливіші до впливу кадмію, ніж контрольні, а гемотоксичні ефекти в їх організмі виявляються за умов введення кадмію в дозі 0,1 мг/кг і менше [49].

Необхідно зазначити, що більшість проведених на даний час досліджень спрямована на вивчення ефектів тривалого введення кадмію на систему гемопоєзу. Що стосується впливу на гемопоєз гострого отруєння організму іонами кадмію, то з'ясуванню цієї проблеми присвячена менша кількість експериментальних робіт. Зокрема, в наших дослідженнях встановлено, що одноразове введення хлориду кадмію в дозі 10 мг/кг маси тіла викликає зменшення кількості еритроцитів, відносного вмісту їх молодих форм та концентрації гемоглобіну в периферичній крові лабораторних щурів [57]. Водночас показано, що під впливом токсиканта відбуваються зміни в метаболізмі еритроцитів, які полягають в інгібуванні активності ферментів енергетичного обміну та антиоксидантної системи, змен-

шенні вмісту продуктів гліколізу та активації процесів перекисного окиснення ліпідів [2].

Інгібувальний вплив кадмію на функціональну активність клітин системи гемопоєзу встановлено і в дослідженнях *in vitro*. Показано, що катіони цього важкого металу токсично впливають як на кровотворні, так і на стромальні клітини кісткового мозку, а також на клітини-попередники з пуповинної крові людини [50, 63].

Кадмій є токсичним важким металом, широко розповсюдженим у навколишньому середовищі. Після надходження в організм людини і тварин він нагромаджується, головним чином, у клітинах печінки і нирок, де виявляють його кумулятивні ефекти. Зв'язування кадмію з металотіонеїном у цитоплазмі клітин обмежує його метаболізм в інших клітинних структурах та зменшує токсичність елемента. Кадмій характеризується надзвичайно довгим півперіодом існування в організмі людини і тварин, віковими відмінностями в процесах акумуляції та екскреції, а також взаємодією з іншими двовалентними металами як на рівні абсорбції, так і на рівні метаболізму в тканинах і органах. Токсичний вплив кадмію спостерігається щодо низки тканин, органів (нирки, печінка, легені, статеві залози, кісткова тканина) і систем (видільна, серцево-судинна, кровотворна, імунна). Негативний вплив кадмію на метаболізм клітин значною мірою зумовлюється високою спорідненістю до біологічних структур, які містять SH-групи, здатністю викликати розвиток оксидативного стресу та заміщати іони інших металів (головним чином  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  і  $Ca^{2+}$ ) в молекулах металоферментів.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Антоняк Г.Л., Снітинський В.В., Панас Н.Є. Вплив іонів кадмію на процес енергетичного метаболізму в еритроцитах тварин // Вісник Дніпропетровського державного аграрного університету. – 2006. – № 1. – С. 70-72.  
2. Антоняк Г.Л., Панас Н.Є., Першин О.І., Бершадський В.І. Вплив сполук важких металів на процеси перекисного окиснення ліпідів та функціональну активність ферментів – антиоксидантів в еритроцитах тварин // Теорія та практика сучасного природознавства: Збірник наукових праць. – Херсон: ПП Вишемирський В.С., 2005. – С. 7-11.

3. Мельничук Д.О., Мельникова Н.М., Деркач Є.А. Вікові особливості кумуляції кадмію в органах токсикованих щурів і зміни показників кислотно-лужного стану крові за різних умов антиоксидантного захисту організму // Укр. біохім. журн. – 2004. – **76**, № 6. – С. 95-99.  
4. Панас Н.Є., Антоняк Г.Л., Кондрацький С. Вплив кадмію на процес гемопоєзу та метаболізм в еритроцитах тварин за умов нестачі кисню // Журнал агробіології та екології. – 2005. – **2**, № 1-2. – С. 113-123.  
5. Панас Н.Є., Антоняк Г.Л., Снітинський В.В.,

- Кондрацький С. Акумуляція кадмію в органах білих щурів за умов введення CdCl<sub>2</sub> // Біологія тварин. – 2005. – **7**. – С. 31-50.
6. Хенніг А. Минеральные вещества, витамины, биостимуляторы в кормлении сельскохозяйственных животных. – М.: Колос, 1976. – 559 с.
7. Alfven T., Elinder C.G., Carlsson M.D. et al. Low level cadmium exposure and osteoporosis // J. Bone Mineral Res. – 2000. – **15**. – P. 1579–1586.
8. Andersen O., Nielsen J.B., Sorensen J.A., Scher-rebeck L. Experimental localization of intestinal uptake sites for metals (Cd, Hg, Zn, Se) in vivo in mice // Environ. Health Perspect. – 1994. – **102**, Suppl. 3. – P. 199-206.
9. Antonyak H.L., Kondracki S., Panas N.E. et al. Haematological effects of heavy metals and selenium in animal organism // Журнал агробіології та екології. – 2004. – **1**, № 1-2. – С. 105-111.
10. ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), 1999. Toxicological Profile for Cadmium. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, 1999. – 259 p.
11. Band P.R., Le N.D., Fang R., Deschamps M. Carcinogenic and endocrine disrupting effects of cigarette smoke and risk of breast cancer // Lancet. – 2002. – **360**. – P. 1044-1049.
12. Baudrimont M., Schafer J., Marie V. et al. Geochemical survey and metal bioaccumulation of three bivalve species (*Crassostrea gigas*, *Cerastoderma edule* and *Ruditapes philippinarum*) in the Nord Medoc salt marshes (Gironde estuary, France) // Sci. Total Environ. – 2005. – **337**, № 1-3. – P. 265-280.
13. Baykov B., Gudova M., Stoyanov M. et al. Designing an artificial ecological mesocosm for the study of Cd and Pb impact on the immune system of experimental animals // Toxicol. Lett. – 1996. – **89**. – P. 5-10.
14. Beavington F., Cawse P.A., Wakenshaw A. Comparative studies of atmospheric trace elements: improvements in air quality near a copper smelter // Sci. Total Environ. – 2004. – **332**, № 1-3. – P. 39-49.
15. Benedetti J.L., Samuel O., Dewailly E. et al. Levels of cadmium in kidney and liver tissues among a Canadian population (Province of Quebec) // J. Toxicol. Environ. Health. – 1999. – **56**. – P. 145-163.
16. Bergkvist P., Jarvis N. Modeling organic carbon dynamics and cadmium fate in long-term sludge-amended soil // J. Environ. Qual. – 2004. – **33**. – P. 181-191.
17. Brzóska M.M., Moniuszko-Jakoniuk J. The influence of calcium content in diet on cumulation and toxicity of cadmium in the organism // Arch. Toxicol. – 1998. – **72**. – P. 63-73.
18. Brzóska M.M., Moniuszko-Jakoniuk J. Interactions between cadmium and zinc in the organism // Food Chem. Toxicol. – 2001. – **39**. – P. 967-980.
19. Brzóska M. M., Moniuszko-Jakoniuk J., Pilat-Marcinkiewicz B., Sawicki B. Liver and kidney function and histology in rats exposed to cadmium and ethanol // Alcohol and Alcoholism. – 2003. – **38**, № 1. – P. 2-10.
20. Chmielnicka J., Sowa B. Cadmium interaction with essential metals (Zn, Cu, Fe), metabolism metallothionein, and ceruloplasmin in pregnant rats and fetuses // Ecotoxicol. Environ. Saf. – 1996. – **35**. – P. 277-291.
21. Chrestensen C.A., Starke D.W., Mieyal J.J. Acute cadmium exposure inactivates thioltransferase (glutathionyl-S-transferase), inhibits intracellular reduction of protein-glutathionyl-mixed disulfides, and initiates apoptosis // J. Biol. Chem. – 2000. – **275**, № 34. – P. 26556-26565.
22. Chuang S.-M., Wang I.-C., Yang J.-L. Roles of JNK, p38 and ERK mitogen-activated protein kinases in the growth inhibition and apoptosis induced by cadmium // Carcinogenesis. – 2000. – **21**, № 7. – P. 1423-1432.
23. Clarkson T.W., Nordberg G.F., Sager P.R. (Eds.). Reproductive and Developmental Toxicity of Metals. – New York: Plenum, 1983. – 301 p.
24. De Mora S., Fowler S.W., Wyse E., Azemard S. Distribution of heavy metals in marine bivalves, fish and coastal sediments in the Gulf and Gulf of Oman // Mar. Pollut. Bul. – 2004. – **49**, № 5-6. – P. 410-424.
25. Figueiredo-Pereira M.E., Yakushin S., Cohen G. Disruption of the intracellular sulfhydryl homeostasis by cadmium-induced oxidative stress leads to protein thiolation and ubiquitination in neuronal cells // J. Biol. Chem. – 1998. – **273**. – P. 12703-12709.
26. Friberg L., Elinder C.-G., Kjellstrom T., Norberg G.F. (Eds.). Cadmium and Health: A Toxicological and Epidemiological Appraisal. Vol. 1. FL, Boca Raton: CRC Press, 1986. – P. 103-178.
27. Hamer D. Metallothionein // Annu. Rev. Biochem. – 1986. – **55**. – P. 913-951.
28. Hart B.A., Potts R.J., Watkin R.D. Cadmium adaptation in the lung – a double-edged sword? // Toxicology. – 2001. – **160**. – P. 65-70.
29. Hengstler J.G., Bolm-Audorf U., Faldum A. et al. Occupational exposure to heavy metals: DNA damage induction and DNA repair inhibition prove coexposures to cadmium, cobalt and lead as more dangerous than hitherto expected // Carcinogenesis. – 2003. – **24**, № 1. – P. 63-73.
30. Holm P.E., Rootzajn H., Borggaard O.K. et al. Correlation of cadmium distribution coefficients to soil characteristics // J. Environ. Qual. – 2003. – **32**. – P. 138-145.
31. Horiguchi H., Kayama F., Oguma E. et al. Cadmium and platinum suppression of erythropoietin production in cell culture: clinical implications // Blood. – 2000. – **96**, № 12. – P. 3743-3747.
32. Horiguchi H., Teranishi H., Niiya K. et al. Hypo-production of erythropoietin contributes to anemia in chronic cadmium intoxication: clinical study on Itai-itai disease in Japan // Arch. Toxicol. – 1994. – **68**, № 10. – P. 632-636.
33. Hough R.L., Breward N., Young S.D. et al. Assessing potential risk of heavy metal exposure from consumption of home-produced vegetables by urban populations // Environ. Health Perspect. – 2004. – **112**. – P. 215-221.
34. Hunder G., Javdani J., Elsenhans B., Schumann K. Use of  $\gamma$ -spectrometry for simultaneous determination of <sup>210</sup>Pb, <sup>73</sup>As, <sup>109</sup>Cd, <sup>203</sup>Hg and <sup>59</sup>Fe distribution and excretion in rats at low doses // Toxicology. – 2000. – **150**. – P. 69-82.
35. IARC (International Agency for Research on Cancer). Cadmium and cadmium compounds // In: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol. 58: Cadmium, Mercury, Beryllium and Exposures in the Glass Industry. Lyon: IARC, 1993. – **58**. – P. 119-237.

36. IPCS (International Programme on Chemical Safety). Cadmium. Environmental Health Criteria 134. Geneva: World Health Organization, 1992. – 120 p.
37. Ishido M., Ohtsubo R., Adachi T., Kunimoto M. Source and health implications of high toxic metal concentrations in illicit tobacco products // *Environ. Sci. Technol.* – 2005. – **39**, № 2. – P. 479-488.
38. Jain C.K. Metal fractionation study on bed sediments of River Yamuna, India // *Water Res.* – 2004. – **38**, № 3. – P. 569-578.
39. Järup L. Cadmium overload and toxicity // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2002. – **17**, Suppl. 2. – P. 35-39.
40. Järup L., Berglund M., Elinder C.G. et al. Health effects of cadmium exposure – a review of literature and a risk estimate // *Scand. J. Work Environ. Health.* – 1998. – **24**, Suppl. 11. – P. 1-51.
41. Jin T., Nordberg M., Frech W. et al. Cadmium biomonitoring and renal dysfunction among a population environmentally exposed to cadmium from smelting in China (ChinaCad) // *Biometals.* – 2002. – **15**. – P. 397-410.
42. Jin Y.H., Clark A.B., Slebos R.J.C. et al. Cadmium is a mutagen that acts by inhibiting mismatch repair // *Nat. Genet.* – 2003. – **34**. – P. 326-329.
43. Jurczuk M., Brzóška M.M., Rogalska J., Moniuszko-Jakoniuk J. Iron body status of rats chronically exposed to cadmium and ethanol // *Alcohol and Alcoholism.* – 2003. – **38**, № 3. – P. 202-207.
44. Klaassen C.D., Liu J., Choudhuri S. Metallothionein: An intracellular protein to protect against cadmium toxicity // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 1999. – **39**. – P. 267-294.
45. Kostial K. Cadmium / In: Trace Elements in Human and Animal Nutrition. Vol. 2. W.Mertz (Ed.). Orlando-San Diego-New York-Austin-London-Montreal-Sydney-Tokyo-Toronto: Acad. Press, Inc. 1986. – P. 319-345.
46. Leazer T.M., Liu Y., Klaassen C.D. Cadmium absorption and its relationship to divalent metal transporter-1 in the pregnant rat // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2002. – **185**. – P. 18-24.
47. Limaye D.A., Shaikh Z.A. Cytotoxicity of cadmium and characteristics of its transport in cardiomyocytes // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 1999. – **154**, № 1. – P. 59-66.
48. Lin C.J., Yang P.C., Hsu M.T. et al. Induction of pulmonary fibrosis in organ-cultured rat lung by cadmium chloride and transforming growth factor-beta1 // *Toxicology.* – 1998. – **127**. – P. 157-166.
49. Liu J., Liu Y., Habeebu S.S., Klaassen C.D. Metallothionein-null mice are highly susceptible to the hematotoxic and immunotoxic effects of chronic CdCl<sub>2</sub> exposure // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 1999. – **159**. – P. 98-108.
50. Lutton J.D., Ibrahim N.G., Friedland M., Levere R.D. The toxic effects of heavy metals on rat bone marrow in vitro erythropoiesis: protective role of hemin and zinc // *Environ. Res.* – 1984. – **39**. – P. 86-95.
51. Meador J.P., Ernest D.W., Kagle A.N. A comparison of the non-essential elements cadmium, mercury, and lead found in fish and sediment from Alaska and California // *Sci. Total Environ.* – 2005. – **339**, № 1-3. – P. 189-205.
52. Moffatt P., Denizeau F. Metallothionein in physiological and physiopathological processes // *Drug Metab. Rev.* – 1997. – **29**. – P. 261-307.
53. Nordberg G., Jin T., Bernard A. et al. Low bone density and renal dysfunction following environmental cadmium exposure in China // *AMBIO: J. Hum. Environ.* – 2002. – **31**, № 6. – P. 478-481.
54. Nordberg G.F., Nordberg M. Biological monitoring of cadmium / In: Biological monitoring of toxic metals. T.W.Clarkson, L.Friberg, G.F.Nordberg (Eds.). New York: Plenum Press, 1988. – P. 151-168.
55. Nordberg M., Nordberg G.F. Toxicological aspects of metallothionein // *Cell Mol. Biol.* – 2000. – **46**. – P. 451-463.
56. Olsson I.M., Bensryd I., Lundh T. et al. Cadmium in blood and urine-impact of sex, age, dietary intake, iron status, and former smoking—association with renal effects // *Environ. Health Perspect.* – 2002. – **110**. – P. 1185-1190.
57. Panas N.E., Antonyak H.L., Snitynski V.V. The biochemical effects of iron, cadmium and selenium on the system of haematopoiesis in animal organism // *Біологія тварин.* – 2003. – **5**. – P. 174-179.
58. Pueyo M., Rauret G., Luck D. et al. Certification of the extractable contents of Cd, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn in a freshwater sediment following a collaboratively tested and optimised three-step sequential extraction procedure // *J. Environ. Monitor.* – 2001. – **3**, № 2. – P. 243-250.
59. Satarug S., Baker J.R., Urbenjapol S. et al. A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population // *Toxicol. Lett.* – 2003. – **137**. – P. 65-83.
60. Shin H.-J., Lee B.-H., Yeo M.G. et al. Induction of orphan nuclear receptor Nur77 gene expression and its role in cadmium-induced apoptosis in lung // *Carcinogenesis.* – 2004. – **25**, № 8. – P. 1467-1475.
61. Stohs S.J., Bagchi D. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions // *Free Radic. Biol. Med.* – 1995. – **18**. – P. 321-336.
62. Tanaka K., Min K., Onosaka S., Fukuhara C. Synthesis and degradation of erythrocyte metallothionein in cadmium-administered mice // *Experientia.* – 1987. – **52**. – P. 525-532.
63. Van Den Heuvel R.L., Leppens H., Schoeters G.E. Use of in vitro assays to assess hematotoxic effects of environmental compounds // *Cell Biol. Toxicol.* – 2001. – **17**, № 2. – P. 107-116.
64. Waalkes M. Cadmium carcinogenesis // *Mutat. Res.* – 2003. – **533**. – P. 107-120.
65. WHO, 1993. Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants (Fourth-first Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Technical Report Series № 837. Geneva: World Health Organization.

## ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВЛИЯНИЯ КАДМИЯ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

Г.Л. Антоняк<sup>1</sup>, Н.Е. Панас<sup>2</sup>, Ю.В. Жилищич<sup>2</sup>, Л.П. Билецкая<sup>2</sup>  
ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ИВАНА ФРАНКО<sup>1</sup>  
ЛЬВОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ<sup>2</sup>

### Резюме

В статье проанализированы новые научные сведения относительно влияния кадмия на организм человека и животных. Указано на распространение этого тяжелого металла в природе и загрязнение кадмием окружающей среды. Рассмотрены пути поступления кадмия в организм человека и животных, процессы абсорбции элемента и токсические эффекты кадмия в организме. Уделено внимание экологическим и биохимическим аспектам этих проблем.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кадмий, тяжелые металлы, окружающая среда, организм, метаболизм, гемопоэз.

## ECOTOXICOLOGICAL ASPECTS OF THE EFFECTS OF CADMIUM ON HUMAN AND ANIMAL ORGANISM

H.L. Antonyak<sup>1</sup>, N.E. Panas<sup>2</sup>, Yu.V. Zhylishchych<sup>2</sup>, L.P. Biletska<sup>2</sup>  
LVIV NATIONAL UNIVERSITY BY IVAN FRANKO  
LVIV STATE AGRARIAN UNIVERSITY<sup>2</sup>

### Summary

New scientific data regarding to the influence of cadmium on human and animal organism are presented in the article. The problems of distribution of the heavy metal in natural environment and pollution of environmental components by cadmium are analyzed. The mechanisms of cadmium intake by humans and animals, element absorption into the digestive tract and toxic effects of cadmium in human and animal organism are reviewed. Great attention is paid to biochemical and ecological aspects of these problems.

KEY WORDS: cadmium, heavy metals, environment, organism, metabolism, haemopoiesis.

Отримано 29.01.2007 р.

Адреса для листування: Г.Л. Антоняк, Львівський національний університет ім. Івана Франка, вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна.

Для отримання оперативної інформації звертайтеся  
до нашої сторінки в Інтернеті:  
[www.tdmu.edu.te.ua](http://www.tdmu.edu.te.ua)