

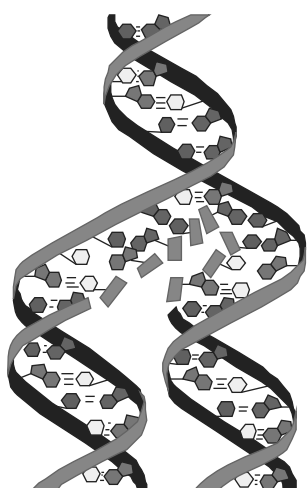
Академія медичних наук України

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця

# 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*

# MEDICAL CHEMISTRY

**SCIENTIFIC JOURNAL**

**3** TOM 10  
2008

- ❖ *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) 43-49-56  
(0352) 52-80-09

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

### І ДЄАІ АЄЇ ² АІ НЄ²АЕАІ І В

Губський Ю.І., Юрженко А.В., Задоріна О.В., Брюзгіна Т.С. (Київ) ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЯ РОТОВОЇ РІДИНИ У ХВОРИХ НА ГЕНЕРАЛІЗОВАНИЙ ПАРОДОНТИТ 5

Тихомиров А.О., Шахнін Д.Б., Тронза О.В., Кошелєва С.С., Андрієвський Г.В. (Київ, Харків) ПРИСКОРЕННЯ ЛІЗИСУ ФІБРИНОВИХ ЗГУСТКІВ ЗА ПРИСУТНОСТІ ПІДРАТОВАНИХ НАНОЧАСТОК ФУЛЛЕРЕНУ С<sub>60</sub> 10

Никитченко Ю.В., Чуб Н.Н., Родіонова В.Л., Черепанов В.В., Леонтєєва Ф.С., Крамар М.І. (Харків) АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ СПЕРМИ ЛЮДИНИ 15

Володькіна А.В., Геращенко І.І. (Запоріжжя, Київ) БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ СТАРІННЯ ШКІРИ ТА СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО ЇХ КОРЕКЦІЇ 19

Кравченко О.О., Дробінська О.В., Остапченко Л.І. (Київ) АКТИВНІСТЬ ПРОТЕЇНАЗ В ЕПІТЕЛІОЦИТАХ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ТОВСТОЇ КИШКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ КОЛІТАСОЦІЙОВАНОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗУ 26

Ленга Е.Л., Геруш І.В., Мещишен І.Ф. (Чернівці) ХРОНОРИТМИ ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОГО СТАНУ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ ТА ДІЇ НАСТОЯНКИ ЕХІНАЦЕЇ ПУРПУРОВОЇ 32

Георгіянец В.А., Бисага Є.І., Євтіфєєва О.А. (Харків, Ужгород) ВАЛІДАЦІЯ МЕРКУРИМЕТРИЧНОЇ МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ПРОКАЇНУ ГІДРОХЛОРИДУ В ЛІКАРСЬКІЙ ФОРМІ АПТЕЧНОГО ВИГОТОВЛЕННЯ 36

Левіцький А.П., Макаренко О.А., Двудіт І.П., Пустовойт О.П. (Одеса, Львів) ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИОКСИДАНТНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЕКСТРАКТІВ ЦИТРУСОВИХ 42

Міщенко О.Я. (Харків) ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ НОВИХ КОМБІНОВАНИХ ЗАСОБІВ АДАПТОГЕННОЇ ДІЇ НА ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ СТАНУ ПЕЧІНКИ В УМОВАХ ХРОНІЧНОГО ГЕПАТИТУ 46

Каплаушенко А.Г., Кравець Д.С., Чадова Л.В. (Запоріжжя, Луганськ) СИНТЕЗ І АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ N'-(2-(4-R-5-R<sub>1</sub>-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ІЛТІО)АЦЕТО)ГІДРАЗІДІВ 50

Ісаєв С.Г., Кобзар Н.П., Брунь Л.В., Таран С.Г., Шевельова Н.Ю., Антоненко О.В. (Харків) СИНТЕЗ І ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ 5-БРОМ-3-СУЛЬФАМОЇЛ-2-ХЛОРБЕНЗОАТІВ ЗАМІЩЕНИХ 9-АМІНО-5-НІТРОАКРИДИНІЮ 54

Українець І.В., Сидоренко Л.В., Петрушова Л.О. (Харків) СИНТЕЗ ТА ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНА АКТИВНІСТЬ 5'-НІТРОТІАЗОЛІЛ-2-АМІДІВ 1-R-4-ГІДРОКСИ-2-ОКСО-1,2-ДИГІДРОХІНОЛІН-3-КАРБОНОВИХ КИСЛОТ 59

Семенів Д.В., Белік Г.В., Бутко Я.О. (Івано-Франківськ, Харків) РАНОЗАГ ОЮВАЛЬНА АКТИВНІСТЬ МАЗІ З ОЛІЄЮ АРОНІЇ ЧОРНОПЛІДНОЇ НА МОДЕЛІ РІЗАНОЇ РАНИ У ЩУРІВ 64

## Contents

### ORIGINAL INVESTIGATIONS

Hubsky Yu. I., Yurzhenko A.V., Zadorina O.V., Bryuzhina T.S. (Kyiv) LIPID PEROXIDATION IN ORAL LIQUID OF PATIENTS WITH GENERALIZED PERIODONTITIS 5

Tykhomyrov A.O., Shakhnin D.B., Tronza O.V., Kosheleva S.S., Andrievsky H.V. (Kyiv, Kharkiv) ACCELERATION OF FIBRIN CLOT LYSIS IN THE PRESENCE OF HYDRATED NANO-PARTICLES OF FULLERENE C<sub>60</sub> 10

Nykytchenko Yu.V., Chub N.N., Rodionova V.L., Cherepanov V.V., Leontyeva F.S., Kramar M.I. (Kharkiv) ENZYMATIC ACTIVITY OF CRYOPRESERVED HUMAN SPERM 15

Volodkina A.V., Herashchenko I.I. (Zaporizhyya, Kyiv) BIOCHEMICAL MECHANISMS OF SKIN AGING AND RECENT APPROACHES TO THEIR CORRECTION 19

Kravchenko O.O., Drobinska L.V., Ostapchenko L.I. (Kyiv) PROTEIN KINASE ACTIVITY IN COLON RAT MUCOSAL CELL UNDER COLITIS ASSOCIATED CARCINOGENESIS DEVELOPMENT 26

Lenga E.L., Gerush I.V., Meshchyshen I.F. (Chernivtsi) CHRONORHYTHMS OF PRO- AND ANTIOXIDANT STATE OF THE RAT LIVER UNDER CONDITIONS OF TOXIC HEPATITIS AND EFFECT OF ECHINACEA PURPUREA TINCTURE 32

Georgiyants V.A., Bysaga Y.I., Yevtifeyeva O.A. (Kharkiv, Uzhhorod) VALIDATION OF MERCURIMETRIC METHOD OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF PROCAINI HYDROCHLORIDUM IN MEDICINAL FORM OF PHARMACY PREPARATION 36

Levytsky A.P., Makarenko O.A., Dvulit I.P., Pustovoyt O.P. (Odessa, Lviv) COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF ANTIOXIDANT PROPERTIES OF CITRUS EXTRACTS 42

Mishchenko O.Ya. (Kharkiv) STUDY OF INFLUENCE OF NEW COMPLEX DRUGS WITH ADAPTOGENIC ACTION ON SOME INDICES OF LIVER STATE UNDER CONDITIONS OF CHRONIC HEPATITIS 46

Kaplaushenko A.H., Kravets D.S., Chadova L.V. (Zaporizhyya, Luhansk) SYNTHESIS AND ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF N'-(2-(4-R-5-R<sub>1</sub>-1,2,4-TRIAZOL-3-ILTHIO) ACETO) HYDRAZIDES 50

Isayev S.H., Kobzar N.P., Brun L.V., Taran S.H., Shevelyova N.Yu., Antonenko O.V. (Kharkiv) SYNTHESIS AND RESEARCH OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF 5-BROM-3-SULFAMOYL-2-CHLOROBENZOATES SUBSTITUTED 9-AMINO-5-NITROACRIDINE 54

Ukrainets I.V., Sydorenko L.V., Petrushova L.O. (Kharkiv) SYNTHESIS AND ANTI-TUBERCULOSIS ACTIVITY OF 5'-NITROTHIAZOLYL-2-AMIDES OF 1-R-4-HYDROXY-2-OXO-1,2-DIHYDROQUINOLINE-3-CARBOXYLIC ACIDS 59

Semeniv D.V., Belik H.V., Butko Ya.O. (Ivano-Frankivsk, Kharkiv) REPARATIVE ACTIVITY OF OINTMENT CONTAINING ARONIA MELANOCARPA OIL ON THE MODEL OF CUT-INDUCED WOUND IN RATS 64

Сатурська Г.С. (Тернопіль) ВПЛИВ БЛОКАТОРА ОПІАТНИХ РЕЦЕПТОРІВ НАЛОКСОНУ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ ПРОЦЕСУ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ ТА СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В ПОШКОДЖЕНОМУ АДРЕНАЛІНОМ СЕРЦІ ЗАЛЕЖНО ВІД СТАТІ	68	Saturska H.S. (Ternopil) INFLUENCE OF OPIOID RECEPTORS BLOCKATOR NALOXONE ON INTENSITY OF LIPID PEROXIDATION PROCESS AND CONDITION OF ANTIOXIDANT SYSTEM IN THE HEART IMPAIRED BY ADRENALINE DEPENDING ON GENDER
Лелека М.В., Грошовий Т.А., Вронська Л.В., Свистун Н.П. (Тернопіль) ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТА КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ДІЮЧИХ РЕЧОВИН В ТАБЛЕТКАХ КИСЛОТИ БУРШТИНОВОЇ З КИСЛОТОЮ АСКОРБІНОВОЮ ТА РУТИНОМ	74	Leleka M.V., Hroshovy T.A., Vronska I.V., Svystun N.P. (Ternopil) IDENTIFICATION AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF ACTIVE SUBSTANCES IN TABLETS OF SUCCINIC ACID WITH ASCORBIC ACID AND ROUTINE
Мішньова К.Д., Гонтова Т.М., Хворост О.П. (Харків) ДОСЛІДЖЕННЯ ЛІПОФІЛЬНИХ ФРАКЦІЙ ТРАВИ ДЕЯКИХ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ ФІАЛКА	79	Mishnyeva K.D., Hontova T.M., Khvorost O.P. (Kharkiv) RESEARCH OF LIPOPHILIC FRACTIONS OF HERB SOME REPRESENTATIVES OF THE VIOLA GENUS
Горошко О.М., Заморський І.І. (Чернівці) АНТИОКСИДАНТНІ ВЛАСТИВОСТІ ПРЕПАРАТУ "ЛІПОФЛАВОН" ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ГОСТРІЙ НИРКОВІЙ НЕДОСТАТНОСТІ	83	Horoshko O.M., Zamorsky I.I. (Chernivtsi) ANTIOXIDANT PROPERTIES OF "LIPOFLAVON" MEDICATION IN EXPERIMENTAL ACUTE RENAL INSUFFICIENCY
Бойків А.Б. (Тернопіль) СТАН ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ У ТВАРИН З РІЗНИМ ТИПОМ ЗАПАЛЬНОЇ РЕАКЦІЇ ПРИ АДРЕНАЛІНОВІЙ МІОКАРДІОПАТІЇ	87	Boykiv A.B. (Ternopil) STATE OF ENDOGENOUS INTOXICATION AT ANIMALS WITH DIFFERENT TYPE OF INFLAMMATORY REACTION AT ADRENALIN MYOCARDIOPATHY
Танадайчук Н.О. (Харків) ЗМІНИ ВМІСТУ ДЕЯКИХ ГОСТРОФАЗНИХ БІЛКІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЧОЛОВІКІВ ПРИ ГОСТРОМУ АПЕНДИЦИТІ	92	Tanadaychuk N.O. (Kharkiv) CHANGES OF CONTENTS OF SOME ACUTE-PHASE PROTEINS IN BLOOD SERUM OF MEN AT ACUTE APPENDICITIS
Набока О.І., Березнякова А.І. (Харків) ВПЛИВ КАРБОРЕНУ НА ПРОТЕОЛІТИЧНУ АКТИВНІСТЬ ПЛАЗМИ КРОВІ, СЕЧІ ТА ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ	97	Naboka O.I., Bereznyakova A.I. (Kharkiv) INFLUENCE OF KARBOREN ON PROTEOLYTIC ACTIVITY OF BLOOD PLASMA URINE AND INTERNAL ORGANS
Лепявко А.А., Хара М.Р. (Тернопіль) ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН АКТИВНОСТІ ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ У МІОКАРДІЇ ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ ЗА ЙОГО АДРЕНАЛІНОВОГО ПОШКОДЖЕННЯ	100	Lepyavko A.A., Khara M.R. (Ternopil) AGE PECULIARITIES OF ACTIVITY CHANGES IN PRO- AND ANTIOXIDANT SYSTEMS IN THE MYOCARDIUM OF DIFFERENT-GENDER RATS AT ITS ADRENALINE IMPAIRMENT
Ключко О.М. (Київ) СПОСІБ СТВОРЕННЯ БАЗ ДАНИХ З ОПТИЧНОЮ ІНФОРМАЦІЄЮ ДЛЯ НЕЙРОФІЗІОЛОГІЇ	105	Klyuchko O.M. (Kyiv) METHOD OF DEVELOPMENT OF DATABASES WITH OPTIC INFORMATION FOR NEUROPHYSIOLOGY
<b>БРИФ РЕПОРТИ</b>		
Ковальова А.М., Сидора Н.В., Комісаренко А.М., Гончаров М.Ф. (Харків) ПОЛІФЕНОЛИ ЛИСТЯ ВИДІВ РОДУ CRATAEGUS L.	110	Kovalyova A.M., Sydora N.V., Komisarenko A.M., Honcharov M.F. (Kharkiv) POLYPHENOLS OF LEAVES OF CRATAEGUS L. GENUS SPECIES
Бойчук А.В., Петренко Н.В., Бегош Б.М., Сопель В.В. (Тернопіль) ЗАСТОСУВАННЯ МАСТОДИНОНУ І ЦИКЛОДИНОНУ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ ГАЛАКТОРЕЇ У ЖІНОК З ЕНДОКРИННИМ НЕПЛІДДАМ	113	Boychuk A.V., Petrenko N.V., Behosh B.M., Sopel V.V. (Ternopil) USING OF MASTODINONE AND CYCLODINONE FOR FUNCTIONAL GALACTORRHEA CORRECTION IN WOMEN WITH ENDOCRINE INFERTILITY
Тацький О.Ф., Торянік Е.Л. (Харків) ВПЛИВ ХІНОБОЛІНУ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ В ХРОНІЧНОМУ ЕКСПЕРИМЕНТІ	116	Tatsky O.F., Toryanik E.L. (Kharkiv) INFLUENCE OF CHINOBOLIN ON FUNCTIONAL CONDITION OF LIVER IN CHRONIC EXPERIMENT
<b>ЮБІЛЕЇ</b>		
МІХАЙЛО ІВАНОВИЧ КАЛИНСЬКИЙ	119	MYKHAILO IVANOVYCH KALYNSKY

УДК 616.314.17-008.1-031.81:612.313.6:577.115.4.

ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЯ РОТОВОЇ РІДИНИ У ХВОРИХ  
НА ГЕНЕРАЛІЗОВАНИЙ ПАРОДОНТИТЮ.І. Губський, А.В. Юрженко, О.В. Задоріна, Т.С. Брюзгіна  
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

*Встановлено, що у ротовій рідині хворих на генералізований пародонтит спостерігаються активація ліпідної пероксидації, зниження загальної антиокиснювальної активності, зміна співвідношення ненасичених та насичених жирних кислот ліпідів ротової рідини.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** генералізований пародонтит, ротова рідина, ліпопероксидація, жирні кислоти.

ВСТУП. Генералізований пародонтит (ГП) займає одне з провідних місць у структурі стоматологічних захворювань. Згідно з численними епідеміологічними дослідженнями, частота виникнення захворювань пародонта зростає, особливо в осіб молодого віку.

На даний час не викликає сумніву важлива роль порушень ліпідного обміну в етіології та патогенезі ГП. У патогенезі ГП серед провідних факторів виділяють порушення трофіки пародонта за рахунок погіршення мікроциркуляції та порушень антиоксидантної системи, що призводить до підвищення інтенсивності вільнорадикального окиснення (ВРО) у тканинах пародонта [2, 6, 8]. ВР процеси є одним з ланцюгів тригерних механізмів при розвитку патологічних процесів запального і дистрофічного генезу.

У виникненні пошкоджень клітини важливу роль відіграють вторинні продукти ВРО, які утворюються при окиснювальній деструкції ліпідних гідроксидів. Це насамперед сполуки альдегідного походження, такі, як 4-гідроксисоненаль та малоновий діальдегід (МДА). Альдегідні групи даних речовин здатні вступати у реакцію з аміногрупами білків і нуклеотидів з утворенням міцних внутрішньо- та міжмолекулярних зв'язок, що супроводжується порушенням тонкої структурної організації молекул біополімерів та, внаслідок цього, їх нормального функціонування [11, 12, 22, 23].

Праці численних авторів, присвячені посиленню процесів ВРО ліпідів у тканинах пародонта, обговорено в оглядах [2, 6].

© Ю.І. Губський, А.В. Юрженко, О.В. Задоріна, Т.С. Брюзгіна, 2008.

В експериментальних і клінічних роботах останнього десятиріччя, в яких вивчалась пероксидація ліпідів при дистрофічно-запальних захворюваннях пародонта, показано роль хронічної недостатності антиоксидантів, значення інтоксикації прооксидантами в активації ліпоокиснення. Об'єктами вивчення в цих дослідженнях були венозна кров хворих [8, 13, 17], гранульоми [21], тканини пародонта експериментальних тварин [16]. У подальшому дослідники звернули увагу на можливість вивчення процесів ліпопероксидації при запальних захворюваннях пародонта у ротовій рідині хворих [1, 3, 4, 7, 15, 19, 20].

Особливості нинішнього часу (соціально-демографічні причини, зростання кількості випадків інфікування через кров ВІЛ та іншими небезпечними захворюваннями) роблять гостро необхідним пошук нових неінвазивних, безпечних методів діагностики і контролю стану пацієнтів. У цьому відношенні аналіз ротової рідини являє собою одну з найбільш значних альтернатив аналізу крові, у ряді випадків не тільки доповнюючи, але навіть і змінюючи його. Увагу дослідників привертають також простота отримання, можливість частого взяття проб для контролю ефективності лікування.

Л.Б. Тургенева, Л.М. Цепов та співавт. досліджували у ротовій рідині хворих на ГП стан процесів ПОЛ та активність одного з ферментів антиоксидантного захисту – каталази [19, 20]. Спостереження показали виражену кореляційну залежність активації процесів ПОЛ від ступеня деструктивних змін у пародонті.

Зміна співвідношення антиоксидантних і прооксидантних процесів у ротовій рідині у

патогенезі ГП та катарального гінгівіту була предметом вивчення Г.Ф. Білоклицької та співавт. [1, 7]. Як показано авторами, розвиток патологічного процесу в пародонті призводить до різкого збільшення вмісту в слині хворих токсичних продуктів ПОЛ – МДА і дієнових кон'югантів. На цьому фоні істотно знижується активність глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, супероксиддисмутази.

За даними досліджень В.І. Герелюка [9], у змішаній слині хворих на ГП спостерігається зростання вмісту різних фракцій ліпідів, особливо неестерифікованих жирних кислот (ЖК). При подальших дослідженнях А.В. Борисенко, В.І. Герелюк показали значну роль продуктів каскаду арахідонової кислоти – протизапальних лейкотриєнів і простагландинів (ЛТВ<sub>4</sub> і ПГЕ<sub>2</sub>), концентрація яких підвищується у змішаній слині та ясенній крові при дистрофічно-запальному процесі в пародонті [3].

Одним із важливих механізмів розвитку загальнодистрофічного процесу при ГП є пероксидна модифікація клітинних мембран пародонта, яка призводить до порушення структурних і біофізичних властивостей фосфоліпідного матриксу. Руйнування зубоясенного прикріплення і наявність пародонтальних кишень при ГП супроводжуються активацією фосфоліпаз у тканинах пародонта, внаслідок чого в ротовій рідині збільшується вміст вищих жирних кислот (ВЖК), які є субстратами ПОЛ. Поглиблене порівняльне дослідження антиоксидантно-прооксидантних ланок патогенезу ГП у ротовій рідині надасть можливість більш ефективно коректувати хворобливий стан.

Метою нашої роботи було вивчення динаміки процесів ПОЛ та зміни жирнокислотного складу ліпідів ротової рідини в осіб молодого віку, хворих на ГП, залежно від ступеня та характеру перебігу захворювання.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Антиоксидантно-прооксидантний стан ротової рідини вивчено у 126 осіб віком 18-30 років, хворих на ГП початкового і I-II ступенів. Першу групу з ГП початкового ступеня склали 57 осіб, з них 20 – із загостреним перебігом захворювання, 37 – із хронічним; другу групу – 69 осіб з ГП I-II ступенів розвитку, з них 23 – із загостреним перебігом, 46 – із хронічним. Контролем були результати обстеження 15 практично здорових осіб того ж віку з клінічно здоровими тканинами пародонта. Усім обстеженим проводили комплексне вивчення стану тканин пародонта. Сформовані групи хворих були однорідними та не мали виражених загальносоматичних захворювань.

Інтенсивність процесів ПОЛ у ротовій рідині оцінювали за накопиченням первинних продуктів ліпопероксидації – дієнових кон'югатів (ДК), вторинних продуктів ПОЛ – тіобарбітур-активних речовин, головним з яких є малоновий діальдегід, як при спонтанному неіндукованому ліпопереокисненні (НІ), так і при індукованому аскорбатзалежному процесі в системі Fe(II) – аскорбінова кислота (АЗП) [6].

Загальну антиокиснювальну активність (АОА) ротової рідини вивчали із застосуванням ліпопротеїнів жовтка *in vitro* екстракційно-спектрофотометричним методом [14].

Жирнокислотний спектр ліпідів ротової рідини визначали методом газової хроматографії, принцип якого полягає в екстракції ліпідів, гідролізі, метилуванні ліпідних компонентів і аналізі жирнокислотного складу ліпідів.

Підготовку біологічного матеріалу, отриманого у хворих на ГП, та газохроматографічний аналіз проводили за методикою [5].

У ліпідному комплексі ротової рідини хворих на ГП було ідентифіковано сім найбільш інформативних ВЖК, таких, як С<sub>16:0</sub> пальмітинова, С<sub>18:0</sub> стеаринова – насичені ЖК; С<sub>18:1</sub> олеїнова – мононенасичена ЖК, С<sub>18:2</sub> лінолева, С<sub>18:3</sub> лінолева, С<sub>20:4</sub> арахідонова, С<sub>20:5</sub> ейкозопентаєнова – поліненасичені ЖК.

Піки ВЖК ідентифікували шляхом порівняння з часом утримання піків стандартів ВЖК. Кількісну оцінку спектра ВЖК ліпідів ротової рідини проводили методом нормування площин піків метильованих похідних ЖК та визначали їх склад у відсотках. Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Результати проведених досліджень представлено в таблицях 1, 2. Аналіз отриманих даних щодо вивчення рівня ПОЛ в ротовій рідині хворих на ГП показав, що при розвитку патологічного процесу інтенсивність утворення ТБК-активних продуктів зростала як при спонтанному неіндукованому ліпопереокисненні, так і при аскорбатзалежному ПОЛ. При цьому в пацієнтів з ГП I-II ступенів відбувалася більш значна активація ПОЛ порівняно з хворими на ГП початкового ступеня. У хворих на ГП початкового ступеня накопичення МДА при НІ достовірно зросло в 1,86 раза, при АЗП ПОЛ – в 1,3 раза. У ротовій рідині пацієнтів з ГП I-II ступенів показник накопичення ТБК-активних продуктів при спонтанній ліпопероксидації збільшився в 2 рази, при аскорбатзалежному переокисненні – в 1,55 раза порівняно з аналогічними показниками у здорових осіб (див. табл. 1).

Зміну рівня первинних продуктів ПОЛ – ДК в ротовій рідині хворих на ГП наведено в таблиці 1. За умов ГП відбувалось накопичення ДК в ротовій рідині, що підтвердило активацію ліпопереокиснення при даній патології. Так, у хворих на ГП початкового і I-II ступенів рівень ДК складав, відповідно, (1,84±0,12) і (2,00±0,15) ммоль/л, тобто збільшувався в 1,4 й 1,5 раза порівняно з контрольною групою (p<0,05).

У контрольній групі рівень ДК у ротовій рідині становив (1,32±0,09) ммоль/л.

Таким чином, з проведених досліджень видно, що у хворих на ГП значно інтенсифікувались ВР процеси пероксидації ліпідів у ротовій рідині, що, у свою чергу, може призводити до погіршення антиоксидантно-прооксидантного стану тканин пародонта. Зі збільшенням ступеня ГП ці процеси зростають, що, ймовірно, пов'язано з гіпоксичними, дистрофічними змінами в тканинах, погіршенням мікроциркуляції в пародонті. Посилюється здатність мембранних фосфоліпідів до гідролізу під впливом лейкоцитарних мікробних фосфоліпаз і подальшого окиснення ВЖК під дією відновлювальних еквівалентів, ініціаторів вільнорадикальних процесів. При цьому інтенсивність міграції лейкоцитів, можливо, активується за механізмом трансудації залежно від проникності судин при розвитку патологічного про-

цесу в пародонті [10]. Активація процесів ліпопероксидації є одним із чинників формування патології пародонта.

За результатами газохроматографічного аналізу в ліпідах ротової рідини спектра ВЖК встановлено, що у хворих на ГП початкового ступеня рівень ПНЖК зростав в 1,5 раза, порівняно з групою здорових осіб, за рахунок збільшення частки арахідонової та ейкозопентаєнової кислот. Внаслідок цього можливі активації ендogenous фосфоліпаз на фоні розвитку патологічного процесу (див. табл. 2). При цьому знижувались частки лінолевої та ліноленової ЖК, які є основними учасниками процесів ПОЛ, оскільки подвійні зв'язки в молекулах даних кислот є безпосередньо мішенню в разі атаки окиснювальних радикалів, що приводило до утворення цитотоксичних продуктів їх пероксидації. Ці дані добре узгоджуються з результатами визначення ДК і МДА в ротовій рідині хворих на ГП (див. табл. 1). У хворих на ГП I-II ступенів, порівняно з групою пацієнтів з ГП початкового ступеня, встановлено достовірне зниження сумарного вмісту ННЖК і ПНЖК та збільшення насиченості ліпідного комплексу ротової рідини, що може свідчити про порушення метаболізму есенціальних ЖК на етапі утворення ейкозаноїдів у результаті активації процесу пероксидації ліпідів (див. табл. 2). За формулою, яка наведена в таблиці 2, нами

Таблиця 1 – Зміни показників пероксидації ліпідів ротової рідини у хворих на ГП

Група обстежуваних	ДК, ммоль/л	МДА, ммоль/л		АОА, %
		НІ	АЗП	
Контрольна група	1,32±0,02	2,1±0,57	4,0±0,49	35,3±2,43
ГП початкового ступеня	1,84±0,03*	3,9±0,32*	5,3±0,60*	24,4±2,71*
ГП I-II ступенів	2,00±0,08*	4,2±0,55*	6,2±0,43*	13,7±2,83*

Примітка. \* – достовірні зміни порівняно з контролем, p<0,05.

Таблиця 2 – Жирнокислотний спектр ротової рідини хворих на генералізований пародонтит

Вищі жирні кислоти, %	Дослідні групи		
	Здорові, n=15 Контроль	Хворі на генералізований пародонтит початкового ступеня, n=42	Хворі на генералізований пародонтит I-II ступенів, n=53
C <sub>16:0</sub> пальмітинова	27,2±1,5	25,4±1,6	30,6±1,8
C <sub>18:0</sub> стеаринова	16,0±1,1	10,9±0,9*	15,2±1,2
C <sub>18:1</sub> олеїнова	20,6±1,2	14,0±1,0*	14,3±1,1*
C <sub>18:2</sub> лінолева	20,4±1,6	16,9±1,5	13,7±1,2*
C <sub>18:3</sub> ліноленова	9,8±0,6	6,8±1,3*	1,2±0,08* **
C <sub>20:4</sub> арахідонова	2,6±0,15	16,7±1,5*	9,5±0,6* **
C <sub>20:5</sub> ейкозопентаєнова	3,4±0,21	9,3±0,7*	15,5±1,2* **
Σ НЖК	43,2±2,4	35,3±1,8*	45,8±1,5**
Σ ННЖК	56,8±1,8	64,7±2,9	54,2±2,3**
Σ ПНЖК	34,2±1,6	51,7±1,4*	39,9±2,1**
$k = \frac{C_{18:1}}{C_{20:5}}$	6,06	1,5	0,9

Примітка. \* – достовірні зміни порівняно з контролем, p<0,05; \*\* – достовірні зміни порівняно з групою хворих на ГП початкового ступеня, p<0,05.

розрахований коефіцієнт порушень метаболізму ліпідів у ротовій рідині хворих на ГП. Встановлено значення коефіцієнта  $k$  для здорових осіб та обох груп хворих, спостерігалось зниження  $k$  при більш тяжкому перебізі ГП. Отже, розрахунок коефіцієнта  $k$  може бути додатковим критерієм при ранній діагностиці ГП в осіб молодого віку.

Причиною активації ПОЛ в ротовій рідині хворих на ГП може бути збільшення вмісту ініціаторів пероксидного окиснення, а також зниження активності ферментів антиоксидантного захисту (АОЗ), які попереджують утворення пероксидів.

Дані дослідження загальної АОА ротової рідини представлено в таблиці 1. Як показали отримані результати, АОА ротової рідини за умов ГП достовірно знижувалася. При цьому зі збільшенням ступеня тяжкості ГП зниження АОА ротової рідини достовірно зростало. Так, у хворих на ГП початкового ступеня АОА складала  $(24,4 \pm 2,7) \%$  при  $(35,3 \pm 2,43) \%$  у здорових осіб, що дорівнювало 69 % відносно групи здорових осіб. У хворих на ГП I-II ступенів АОА становила  $(13,7 \pm 2,83) \%$ , тобто 38 % порівняно з контрольною групою. Пригнічення загальної АОА ротової рідини у хворих на ГП може свідчити про виснаження системи АОЗ, яка не здатна нейтралізувати надлишкову продукцію цитотоксичних пероксидів ліпідів.

Таким чином, кількість ННЖК ліпідів ротової рідини, яка зростала при дії ендогенних фосфоліпаз за ГП початкового ступеня, може бути джерелом вільних радикалів, які призводять до розвитку ланцюгових реакцій ПОЛ. Це є одним із шляхів ще більшої активації пероксидації ліпідів, що зумовлює підвищення рівня НЖК, накопичення в ротовій рідині й тканинах пародонта цитотоксичних сполук, виснаження антиоксидантних систем і порушення їх роботи.

Нормалізації процесів ПОЛ в пародонті при ГП можуть сприяти мембраностабілізуючі препарати, які володіють антиоксидантними властивостями та підвищують потужність антиоксидантних систем, що знешкоджують пероксидації ліпідів при окиснювальній деструкції мембранних фосфоліпідів за умов розвитку оксидативного стресу.

**ВИСНОВКИ.** 1. Результати проведених досліджень свідчать про те, що в осіб молодого віку, хворих на ГП, активуються процеси ПОЛ в ротовій рідині. Виявлено суттєве збільшення вмісту МДА, ДК і пригнічення загальної АОА, що вказує на можливе виснаження системи АОЗ.

2. Оцінка порушень ліпідного метаболізму ротової рідини у хворих на ГП різного ступеня може бути інформаційним тестом при виборі обґрунтованого лікування.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Белоклицкая Г.Ф. Возможности антиоксидантной коррекции перекисного окисления липидов при заболеваниях пародонта разной тяжести // Современная стоматология. – 2000. – №1 (9). – С. 38-41.
2. Бобырев В.Н., Розколупа Н.В., Скрипникова Т.П. Экспериментальные клинические основы применения антиоксидантов как средств лечения профилактики пародонтита // Стоматология. – 1994. – № 3. – С. 11-18.
3. Борисенко А.В., Герелюк В.И. Оценка роли продуктов арахидоновой кислоты при дистрофически-воспалительном процессе в тканях пародонта на фоне применения нового препарата "Текома" // Современная стоматология. – 2000. – № 4 (12). – С. 23-25.
4. Боровский Е.В., Монтъев В.К. Биология полости рта. – М.: Медицина, 1991. – 302 с.
5. Брюзгина Т.С., Амосова Е.Н. Газохроматографический анализ жирных кислот липопротеинов при инфаркте миокарда // Клинич. лаб. диагностика. – 1997. – № 12. – С. 14-15.
6. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 243 с.
7. Волик Н.А., Белоклицкая Г.Ф., Стефанов А.В. и др. Влияние биогенных стимуляторов – экстракта алоэ и биотрита – на процессы пероксидации липидов в слюне при воспалительных заболеваниях пародонта // Укр. біохім. журн. – 1999. – 71, № 5. – С. 90-93.
8. Воскресенский О.Н., Ткаченко Е.К. Роль перекисного окисления липидов в патогенезе пародонтита // Стоматология. – 1991. – № 4. – С. 5-10.
9. Герелюк В.І. Вміст нейтральних ліпідів і загальних фосфоліпідів у слині при гінгівіті та пародонтиті // Лік. справа. – 2000. – № 2. – С. 37-40.
10. Гоженко А.І., Бабій С.І., Доломатов С.І. та ін. Стан та механізми формування неспецифічного захисту слизової оболонки порожнини рота у здорових людей // Мед. хімія. – 2002. – 4, № 2. – С. 50-52.
11. Губський Ю.І., Беленічев І.Ф., Коваленко С.І. та ін. Основні шляхи утворення активних форм кисню в нормі та при ішемічних патологіях // Современные



проблемы токсикологии. – 2004. – № 2. – С. 8-15.

12. Губський Ю.І., Беленічев І.Ф., Левицький Е.Л. та ін. Антиоксидантна система захисту організму // Современные проблемы токсикологии. – 2002. – № 3. – С. 24-31.

13. Капитаненко А.М., Бибик С.М., Козловская О.К. и др. Антиоксиданты в патогенезе и развитии заболеваний пародонта // Военно-мед. журн. – 1989. – № 12. – С. 39-41.

14. Клебанов Г.Н., Бабенко И.В., Теселкин Ю.О. и др. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеинов // Лаб. дело. – 1988. – № 5. – С. 59-60.

15. Петрович Ю.А., Подорожная Р.П., Генесина Т.И. и др. Активность глутаматдегидрогеназы, глутаминтранспептидазы и креатинкиназы в слюне при воспалении десны // Пат. физиол. и эксперим. терапия. – 1996. – № 3. – С. 28-30.

16. Силенко С.Р., Мищенко В.П., Токарь Д.Л. и др. Влияние цитомедина пародонта на свободно-радикальное окисление и антиагрегационную активность в нем при хроническом стрессе // Стоматология. – 1994. – 3, № 4. – С. 6-8.

17. Сорокина С.Р., Иванова И.П. Состояние

антиоксидантной защиты и перекисное окисление липидов в норме и при генерализованном пародонтите // Казан. вестн. стоматологии. – 1996. – № 2. – С. 72-74.

18. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот // Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 63-64.

19. Тургенева Л.Б. Антиоксиданты и антигипоксанты в комплексном лечении пародонтита: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Тверь, 1994. – 22 с.

20. Тургенева Л.Б., Новиков В.Е., Цепов Л.М. Клинико-фармакологическое изучение олифена при воспалении пародонта // Экспер. и клин. фармак. – 1997. – 60, № 2. – С. 75-77.

21. Черкашин С.И. Состояние перекисного окисления липидов у лиц с хроническими одонтогенными очагами инфекции // Стоматология. – 1989. – № 3. – С. 15-17.

22. Yiri W. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation // Acta Univ. Carol. Med. Praha. – 1990. – 36, № 2. – P. 137-154.

23. Vance D.E. Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes. – Amsterdam: Elsevier, 1996. – 403 p.

## ЛИПОПЕРОКСИДАЦИЯ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ У БОЛЬНЫХ С ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМ ПАРОДОНТИТОМ

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

### Резюме

Установлено, что в ротовой жидкости больных с генерализованным пародонтитом наблюдаются активация липидной пероксидации, снижение общей антиокислительной активности, изменение соотношения ненасыщенных и насыщенных жирных кислот липидов ротовой жидкости.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: генерализованный пародонтит, ротовая жидкость, липидная пероксидация, жирные кислоты.

## LIPID PEROXIDATION IN ORAL LIQUID OF PATIENTS WITH GENERALIZED PERIODONTITIS

Yu. I. Hubsy, A.V. Yurzhenko, O.V. Zadorina, T.S. Bryuzhina  
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLETZ

### Summary

The following changes were observed: activization of lipid peroxidation, decreasing of antioxidative activity, changing in correlation of unsaturated and saturated fatty acids in oral liquid of patients with periodontitis.

KEY WORDS: generalized periodontitis, oral liquid, lipid peroxidation, fatty acids.

Отримано 31.03.2008 р.

Адреса для листування: А.В. Юрженко, вул. Микільсько-Ботанічна, 31, кв. 71, Київ, 01032, Україна.

## ПРИСКОРЕННЯ ЛІЗИСУ ФІБРИНОВИХ ЗГУСТКІВ ЗА ПРИСУТНОСТІ ГІДРАТОВАНИХ НАНОЧАСТОК ФУЛЕРЕНУ $C_{60}$

**А.О. Тихомиров<sup>1</sup>, Д.Б. Шахнін<sup>2</sup>, О.В. Тронза<sup>3</sup>, С.С. Кошелева<sup>1</sup>, Г.В. Андрієвський<sup>4</sup>**  
 ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ<sup>1</sup>  
 ВІДКРИТИЙ МІЖНАРОДНИЙ УНІВЕРСИТЕТ РОЗВИТКУ ЛЮДИНИ "УКРАЇНА"<sup>2</sup>, КИЇВ  
 ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДИНА<sup>3</sup>, КИЇВ  
 НТК "ІНСТИТУТ МОНОКРИСТАЛІВ"<sup>4</sup>, ХАРКІВ

*Досліджували вплив гідратованої форми фулерену  $C_{60}$  (ГФ- $C_{60}$ ) на кінетичні параметри ферментативного гідролізу фібринового згустка, індукованого тканинним активатором плазміногену (ТАП) *in vitro*. Інкубація ТАП у розчині ГФ- $C_{60}$  сприяла збільшенню швидкості лізису згустка у 2,7 рази та зменшенню періоду напівлізису в 1,6 рази. Дані, одержані в роботі, дозволяють припустити, що активність ферментів системи фібринолізу зростає в результаті стабілізації їх водного мікрооточення за присутності ГФ- $C_{60}$ . Застосування фулерену  $C_{60}$  може бути перспективним заходом підвищення ефективності тромболітичних препаратів.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** фібриноліз, тканинний активатор плазміногену, фулерен.

ВСТУП. Основною функцією гемостазу є підтримка нормального агрегатного стану крові. Порушення рівноваги між активністю системи згортання крові та фібринолізу може бути причиною розвитку як геморагічних, так і тромботичних станів. Зокрема, такі гемостатичні патології, як внутрішньосудинне згортання та атеротромбоз, є головними причинами розвитку серцево-судинних захворювань – найбільш поширених захворювань серед неінфекційних хвороб за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВОЗ). Тому розробка підходів до корекції дисбалансу між активацією та гальмуванням процесу згортання крові – одна з найактуальніших медико-біологічних проблем [1]. Препарати урокінази, активатора плазміногену тканинного типу (ТАП) та стрептокінази – найбільш поширені фармакологічні засоби, які призначають для розчинення тромбів, зокрема, при терапії інфаркту міокарда, легеневих емболій, глибоких тромбозів судин та інших порушень кровообігу, пов'язаних із тромбоутворенням [8].

Система фібринолізу – високовпорядкована, багатокомпонентна протеолітична система, до складу якої входять активатори, інгібітори та ключовий фермент плазмін. Профермент плазміноген конвертується в актив-

ний фермент з участю двох специфічних протеаз – ТАП та урокінази. ТАП є сериновою протеазою, високоспецифічним ферментом з єдиним субстратом плазміногеном. Більша частина молекул ТАП у плазмі зв'язана з інгібітором активаторів плазміногену I типу (ПАІ-1). Крім того, як зв'язаний, так і вільний ТАП швидко видаляється з кровотоку клітинами печінки (період його напіввиведення складає 4 хв) [2]. Показано, що швидка інактивація, а також короткий період напівжиття ТАП є одними з найбільш критичних факторів на шляху до розвитку тяжких тромбозів та тромботичних ускладнень [6]. Таким чином, важливим практичним завданням є компенсація ТАП-дефіциту без перевищення фізіологічного рівня цієї протеази у плазмі. Пошук та застосування агентів, що пролонгують корисний час життя факторів-активаторів плазміногену, розглядають як один з перспективних підходів до підвищення ефективності дії сучасних тромболітичних засобів.

Фулерени відомі як третя природна алотропна форма вуглецю, яка в останні роки привертає до себе увагу спеціалістів з різних галузей у зв'язку з наявністю особливих хімічних властивостей та унікальною біологічною активністю [4, 12]. Найбільш дослідженим представником родини фулеренів є фулерен  $C_{60}$  (рис. 1), який являє собою замкнутий сферичний кластер, що складається з 60 атомів

© А.О. Тихомиров, Д.Б. Шахнін, О.В. Тронза, С.С. Кошелева, Г.В. Андрієвський, 2008.

вуглецю [14]. Нативний  $C_{60}$  надзвичайно погано розчиняється у воді. Даний факт істотно перешкоджає вивченню його біохімічних та фармакологічних ефектів. Ця проблема була розв'язана завдяки розробці у 1995 р. методу одержання водних молекулярно-колоїдних розчинів фулерену  $C_{60}$  ( $C_{60}$  fullerene water solution –  $C_{60}$ FWS), в яких одиничні молекули  $C_{60}$  мають вигляд високостабільних донорно-акцепторних комплексів з молекулами води (гідратований фулерен – ГФ  $C_{60}$ ) [9, 11]. Показано, що  $C_{60}$ FWS проявляє біологічну активність надзвичайно широкого спектра дії навіть у діапазоні концентрації ГФ- $C_{60}$  10<sup>-6</sup>-10<sup>-9</sup> моль/л у різноманітних системах *in vivo* та *in vitro* [5, 10]. Зокрема, ГФ- $C_{60}$  проявляє стабілізуючий ефект відносно різних білків за рахунок підтримки оптимального ступеня їх гідратації та підвищення стійкості білкових макромолекул до денатуруючих факторів [17]. Метою даної роботи було дослідження кінетичних параметрів лізису фібринових згустків *in vitro* за присутності ГФ- $C_{60}$  у низькій концентрації.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Як кінетичні показники процесу фібринолізу визначали час та швидкість напівлізису згустка. Для цього використовували турбодиметричний експрес-мікрометод з модифікаціями [16]. Процес утворення та руйнування згустка реєстрували за допомогою спектрофотометра СФ-46 на довжині хвилі 405 нм. Фібриновий згусток формували, послідовно додаючи до спектрофотометричної кювети 100 мкл плазми (використовували пуловану плазму від 7 донорів – здорових чоловіків віком 30 років), а потім 850 мкл 2 мМ вероналового буфера (pH-7,4), який містив 19 мМ NaCl та 1 мкМ CaCl<sub>2</sub>. Далі суміш інкубували протягом 400 с при 37 °С. Реакцію запускали, вносячи тромбін (Sigma, США) в об'ємі 45 мкл (5 од.), лише потім додавали ТАП (Boehringer Ingelheim, Німеччина) в об'ємі 5 мкл (200 од.), після чого суміш обережно перемішували. Контрольні зразки (холості проби, що не містили активатора плазміногену) готували, додаючи до кювети замість розчину препарату ТАП дистильовану воду (ЗАО Фармацевтична фірма "Дарниця", Україна) у тому ж об'ємі.

Експериментальні зразки готували з використанням ТАП, розчиненого у  $C_{60}$ FWS, що містив фулерен  $C_{60}$  (MER Corporation, AZ, США, чистота – 99,5 %) у концентрації 12·10<sup>-12</sup> моль/л. Після додавання такого розчину до реакційної суміші кінцева концентрація ГФ- $C_{60}$  у всіх дослідях становила приблизно 6·10<sup>-14</sup> моль/л. Вибір концентрації ГФ- $C_{60}$  був зумовлений тією обставиною, що у нашому попередньому дослі-

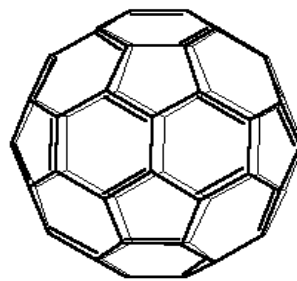


Рис. 1. Фулерен  $C_{60}$ .

дженні *in vivo* виражені антиоксидантні та нейропротекторні ефекти фулерену спостерігалися із застосуванням ГФ- $C_{60}$  саме у діапазоні наднизьких доз [7]. Контрольні проби готували, використовуючи препарат ТАП, розчинений у дистильованій воді. Усі зразки ТАП, розчинені як у  $C_{60}$ FWS, так і у воді, інкубували протягом 20 хв при +4 °С безпосередньо перед дослідом.

Для одержання статистично репрезентативних результатів вимірювання кожної серії здійснювали з 10-кратною повторністю. Кінетичні параметри виражали у вигляді середньої величини ± стандартна похибка ( $M \pm m$ ), різницю між груповими середніми вважали вірогідною при  $p < 0,05$ . Статистичну обробку результатів проводили з використанням t-критерію Стьюдента після попередньої перевірки гіпотез про нормальність розподілення та рівності генеральних дисперсій [3].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Кінетичні профілі процесів полімеризації фібрину та протеолітичного розщеплення фібринових згустків наведено на рисунках 2-5. При аналізі графіків, зображених на рисунках 2 та 3, слід окремо виділити дві принципові ділянки. Перша – лінійно зростаюча крива, яка переходить у фазу "плато". Цей етап відповідає стадії перемішування компонентів, рівномірного їх розподілення по всьому об'єму середовища та переведення системи до проміжної рівноваги, що характеризується збільшенням вмісту полімеризованого фібрину. Як видно з рисунка 2, у контрольних зразках оптична густина середовища зростає до певної константної максимальної величини, яка відповідає повній полімеризації фібрину (друга ділянка). Наявність пролонгованої фази "плато" свідчить про те, що лізис фібринової матриці не відбувається за відсутності активатора плазміногену. Це можливо лише за умови повної інактивації ендогенних (плазмових) активаторів плазміногену. Подібна до контрольних проб картина спостерігається у зразках, що містили ГФ- $C_{60}$  у реакційному середовищі (рис. 3). Цей факт вказує на те, що безпосередньо сам фулерен

не володіє фібринолітичною активністю та не бере участі у процесі активації плазміногену.

Криві, зображені на рисунках 4 та 5, характеризуються наявністю додаткової, третьої, ділянки, яка відповідає процесу активного фібринолізу, індукованого додаванням ТАП. Слід зауважити, що фаза "плато", яка передує початку розщеплення згустка, при додаванні ТАП, розчиненого у воді, триває у середньому 520 с (див. рис. 4), а при додаванні ТАП, розчиненого у  $C_{60}$ FWS, – 280 с (див. рис. 5). Таким чином, інкубація ТАП з ГФ- $C_{60}$  сприяє скороченню часу, необхідного для початку згустко-розчинення, в 1,86 раза, а фаза "плато" у цьому випадку практично відсутня. Аналіз третьої ділянки кінетичного профілю – лінійно спадної кривої фібринолізу – свідчить про те, що при використанні водного розчину ТАП для повного руйнування згустка необхідно близько 400 с, тоді як під впливом системи "активатор – ГФ- $C_{60}$ " його розчинення триває 130 с. Тобто тотальний гідроліз полімеризованого фібрину *in vitro* після преінкубації ТАП з ГФ- $C_{60}$  відбувається у 3,08 раза швидше. Цю ділянку кінетичної кривої використовували для розрахунку кінетичних параметрів: швидкості гідролізу

згустків та часу їх напівлізису, величини яких наведено у таблиці 1. Показано, що у фібринолітичній системі за присутності попередньо інкубованого у  $C_{60}$ FWS активатора швидкість руйнування згустка збільшується в 2,69 раза, а час напівлізису скорочується в 1,55 раза порівняно з ефектом ТАП, розчиненого у воді.

Відомо, що стабільність ферменту, збереження його нативної конформації, яка зумовлює ензиматичну активність, залежать від багатьох параметрів. Одним із визначальних факторів є ступінь гідратації молекули ферменту (тобто структурні особливості води у перших гідратних оболонках), що зумовлено кооперативними взаємодіями функціональних груп поліпептиду з молекулами води [15]. Сучасні дослідження властивостей водорозчинних наночасток, якими є гідратовані фулерени, а також їх біологічних ефектів дозволили сформулювати нову концепцію тонкого механізму їх дії. Численні експериментальні дані свідчать про те, що властивості, зокрема антиоксидантні, які притаманні ГФ- $C_{60}$ , реалізуються за рахунок їх впливу на структурні особливості водного середовища. Цей вплив полягає у формуванні у водній фазі сферичних, протяжних та впоряд-

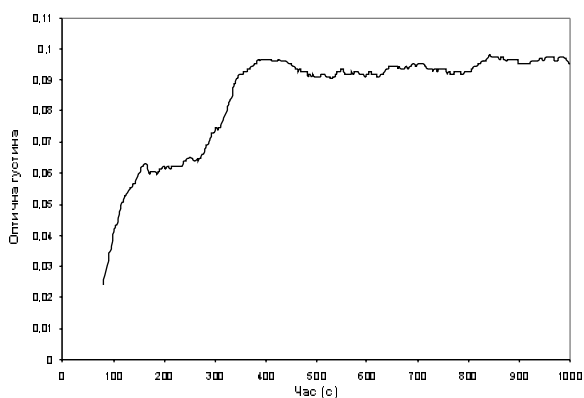


Рис. 2. Профіль утворення фібринового згустка у буферній системі за відсутності ТАП та фулерену (контроль).

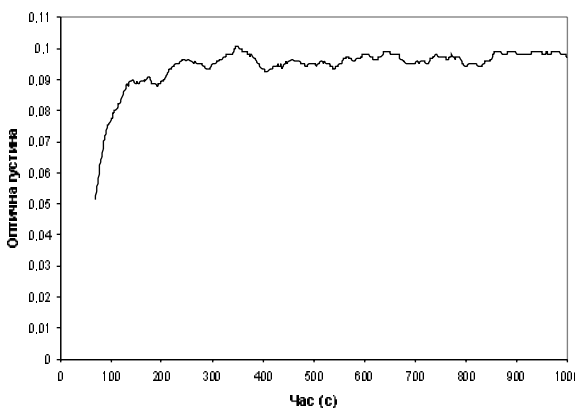


Рис. 3. Профіль утворення фібринового згустка у буферній системі, що додатково містила фулерен, за відсутності ТАП (контроль- $C_{60}$ ).

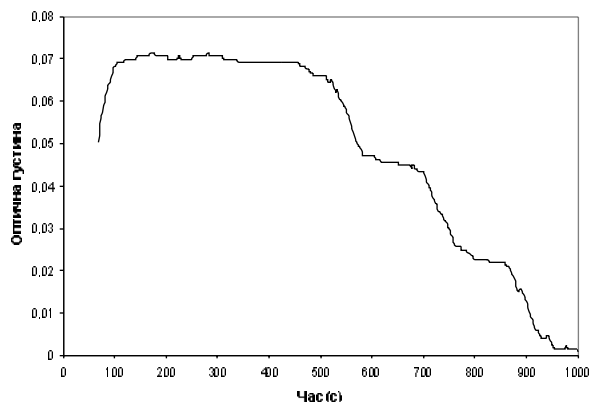


Рис. 4. Профіль формування та лізису фібринового згустка за присутності ТАП, розчиненого у дистильованій воді (ТАП).

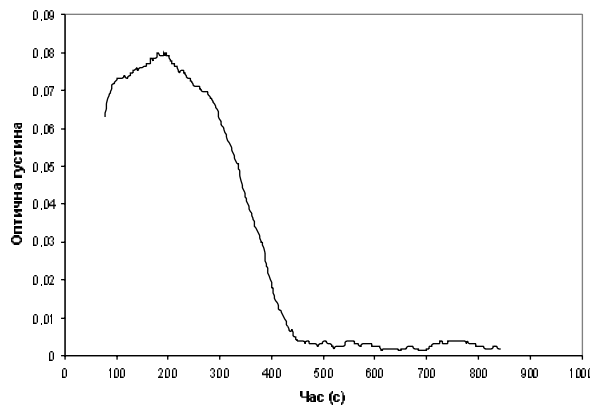


Рис. 5. Профіль формування та лізису фібринового згустка за присутності ТАП, попередньо інкубованого у розчині, що містив гідратовану форму фулерену (ТАП- $C_{60}$ ).

Таблиця 1 – Кінетичні параметри розщеплення фібринового згустка

Показники	Активатор плазміну			
	– (контроль)	Фулерен (контроль-С <sub>60</sub> )	ТАП	ТАП-С <sub>60</sub>
Час напівлізису, с	–	–	730±28	472±83 *
Швидкість лізису, $\times 10^{-4}$ с <sup>-1</sup>	–	–	1,85±0,07	4,97±0,68 *

Примітка.  $M \pm m$ , \* – вірогідна різниця відносно контролю при  $p < 0,05$ ,  $n = 10$ .

кованих гідратних оболонок. Сформовані мікрогетерогенні, впорядковані в об'ємі кластери "фулерен-вода", будучи відносно стабільними, здатні організовувати різні біохімічні процеси як *in vitro*, так і *in vivo* [10, 13, 18].

У представлений роботі вперше був використаний ГФ-С<sub>60</sub> у наднизькій концентрації як особливий модулятор водно-білкових і білок-білкових взаємодій та станів води у препаратах ТАП. Стимулом для проведення такого дослідження слугували відомі експериментальні факти про підвищення термостабільності білків за присутності ГФ-С<sub>60</sub> у концентраціях  $5 \cdot 10^{-6}$  моль/л [17]. За допомогою мікрокалориметричних методів та визначення поведінки парамагнітних зондів було показано, що ГФ-С<sub>60</sub> не сорбується на поверхні білкових молекул, не впливає на їх гідрофобні/гідрофільні властивості й, таким чином, не змінює їх нативної конформації. Підвищення температури денатурації сироваткового альбуміну людини, стабілізація та впорядкування його білкових кластерів за присутності ГФ-С<sub>60</sub> відбуваються завдяки взаємній подібності структур їх гідратних оболонок та особливим властивостям впорядкованого водного середовища у цілому. Можливо, інтенсифікація лізису фібринового згустка за присутності ГФ-С<sub>60</sub> спо-

стерігається в результаті стабілізації молекул ТАП та пролонгування терміну їх корисної дії у тест-системі.

Наступне важливе зауваження стосується використання ГФ-С<sub>60</sub> у наднизькій кінцевій концентрації в інкубаційному середовищі ( $6 \cdot 10^{-14}$  моль/л). Те, що концентрація ТАП (близько  $2,5 \cdot 10^{-10}$  моль/л) перевищувала вміст ГФ-С<sub>60</sub> на декілька порядків, ставить під сумнів можливість активації ТАП фулереном шляхом безпосередньої взаємодії С<sub>60</sub> з молекулами протеази. Найімовірніше, ГФ-С<sub>60</sub> здатний впливати на поведінку білків у розчині не прямим чином, а опосередковано, через впорядковані ним водні структури.

**ВИСНОВКИ.** 1. Гідратований фулерен стабілізує активну конформацію та пролонгує термін корисної дії тканинного активатора плазміногену і прискорює ТАП-індуковану деградацію фібринового згустка *in vitro*.

2. Враховуючи те, що хімічно немодифікований фулерен, особливо у малих концентраціях, не справляє будь-яких токсичних ефектів, результати представленої роботи дозволяють рекомендувати використання ГФ-С<sub>60</sub> як перспективного заходу для підвищення ефективності дії тромболітичних засобів та відповідної терапії.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Волков Г.Л., Платонова Т.Н., Савчук А.Н. и др. Современные представления о системе гемостаза. – К.: Наукова думка, 2005. – 296 с.
2. Долгов В.В., Свиринов П.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза. – М. – Тверь: ООО "Издательство "Триада", 2005. – 227 с.
3. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – К.: Морион, 2000. – 320 с.
4. Пиотровский А.Б., Киселев О.И. Фуллерены в биологии. – С.Пб.: ООО "Издательство "Росток", 2006. – 336 с.
5. Росляков А.Д., Андриевский Г.В., Петренко А.Ю., Малая Л.Т. Исследование цитотоксических и антиоксидантных свойств водных растворов нативных фуллеренов в системах *in vitro* // Журн. Акад. мед. наук Украины. – 1999. – 5, № 2. – С. 338-346.

6. Сидоркина А.Н., Сидоркин В.Г., Преснякова М.В. Биохимические основы системы гемостаза и диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови. – Н. Новгород.: НИИИТО, 2005. – 112 с.
7. Тихомиров А.О., Недзвецкий В.С., Ліпка М.В. та ін. Ушкодження астроглії та перекисне окиснення ліпідів у головному мозку щурів в умовах хронічної алкоголізації: протекторний вплив гідратованих форм фулерену С<sub>60</sub> // Нейрофізіол. – 2007. – 39, № 2. – С. 119-125.
8. Ферстрате М. Новейшие тромболитические препараты // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2001. – 5. – С. 4-13.
9. Andrievsky G.V., Klochkov V.K., Boryduh A., Dovbeshko G.I. Comparative analysis of two aqueous-colloidal solutions of C fullerene with help of FT-IR reflectance and uv-vis spectroscopy // Chem. Phys. Letters – 2002. – 364. – P. 8-17.
10. Andrievsky G.V., Klochkov V.K., Derevyan-

chenko L.I. Is C fullerene molecule toxic?! // Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures. – 2005. – **13**, № 4. – P. 363-376.

11. Andrievsky G.V., Kosevich M.V., Vovk O.M. et al. On the production of an aqueous colloidal solution of fullerenes // J. Chem. Soc. Chem. Commun. – 1995. – **12**. – P. 1281-1282.

12. Bosi S., Da Ros T., Spalluto G., Prato M. Fullerene derivatives: an attractive tool for biological applications (invited review) // Europ. J. Med. Chem. – 2003. – **38**. – P. 913-923.

13. Chaplin M. Water Structure and Behavior. – South Bank University: London, UK; (<http://www.lsbu.ac.uk/water/chaplin.html>) (accessed June 2000).

14. Kroto H.W., Heath J.P., O'Brien S.C. et al.

Buckminster fullerene // Nature. – 1985. – **318**. – P. 162-163.

15. Ling G.N. A revolution in the physiology of the living cell. – Krieger Publ. Comp., Florida, 1992. – 45 p.

16. Nenci G.G., Parise P., Morini M. et al. Fibrin clots obtained from plasma containing heparin show a higher sensitivity to t-PA-induced lysis // Blood Coagul. Fibrinol. – 1992. – **3**, № 3. – P. 279-285.

17. Rozhkov S.P., Goryunov A.S., Sukhanova G.A. et al. Protein interaction with hydrated C60 fullerene in aqueous solutions // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2003. – **303**. – P. 562-566.

18. Voeikov V.L. The possible role of active oxygen in the memory of water // Homeopathy. – 2007. – **96**. – P. 196-201.

## УСКОРЕНИЕ ЛИЗИСА ФИБРИНОВЫХ СГУСТКОВ В ПРИСУТСТВИИ ГИДРАТИРОВАННЫХ НАНОЧАСТИЦ ФУЛЛЕРЕНА C<sub>60</sub>

**А.А. Тихомиров<sup>1</sup>, Д.Б. Шахнин<sup>2</sup>, А.В. Тронза<sup>3</sup>, С.С. Кошелева<sup>1</sup>, Г.В. Андриевский<sup>4</sup>**  
ДНЕПРОПЕТРОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ<sup>1</sup>  
ОТКРЫТЫЙ МЕЖДУНАРОДНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ РАЗВИТИЯ ЧЕЛОВЕКА "УКРАИНА"<sup>2</sup>, КИЕВ  
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ ИМ. А.В. ПАЛЛАДИНА<sup>3</sup>, КИЕВ  
НТК "ИНСТИТУТ МОНОКРИСТАЛЛОВ"<sup>4</sup>, ХАРЬКОВ

### Резюме

Исследовали влияние гидратированной формы фуллера C<sub>60</sub> (ГФ-C<sub>60</sub>) на кинетические параметры ферментативного гидролиза фибринового сгустка, индуцированного тканевым активатором плазминогена (ТАП) *in vitro*. Инкубация ТАП в растворе ГФ-C<sub>60</sub> способствовала увеличению скорости лизиса сгустка в 2,7 раза и уменьшению периода полулизиса в 1,6 раза. Данные, полученные в работе, позволяют предположить, что активность ферментов системы фибринолиза возрастает в результате стабилизации их водного микроокружения в присутствии ГФ-C<sub>60</sub>. Применение фуллера C<sub>60</sub> может быть перспективной мерой для повышения эффективности тромболитических препаратов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: фибринолиз, тканевой активатор плазминогена, фуллерен.

## ACCELERATION OF FIBRIN CLOT LYSIS IN THE PRESENCE OF HYDRATED NANO-PARTICLES OF FULLERENE C<sub>60</sub>

**A.O. Tykhomyrov<sup>1</sup>, D.B. Shakhnin<sup>2</sup>, O.V. Tronza<sup>3</sup>, S.S. Kosheleva<sup>1</sup>, H.V. Andrievsky<sup>4</sup>**  
DNIPROPETROVSK NATIONAL UNIVERSITY<sup>1</sup>  
PUBLIC INTERNATIONAL UNIVERSITY OF HUMAN DEVELOPMENT "UKRAINE"<sup>2</sup>, KYIV  
PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY<sup>3</sup>, KYIV  
STC "INSTITUTE FOR MONOCRYSTALS"<sup>4</sup>, KHARKIV

### Summary

Effect of hydrated fullerene C<sub>60</sub> (C<sub>60</sub>HyFn) onto kinetic parameters of enzymatic hydrolysis of fibrin clot induced by tissue plasminogen activator (t-PA) *in vitro* was studied. Incubation of t-PA in the C<sub>60</sub>HyFn solution increased rate of clot lysis by 2,7 times and reduced time of half-lysis by 1,6 times. Data obtained suggest that enzyme fibrinolytic activity elevation occurs due to stabilization of enzyme water microenvironment in the presence of C<sub>60</sub>HyFn. Application of fullerene C<sub>60</sub> may be useful for creation of highly efficient thrombolytical drugs.

KEY WORDS: fibrinolysis, tissue plasminogen activator, fullerene.

Отримано 19.02.2008 р.

Адреса для листування: А.О. Тихомиров, Дніпропетровський національний університет, вул. Наукова, 13, Дніпропетровськ, 49050, Україна.

**АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ СПЕРМИ ЛЮДИНИ**

**Ю.В. Никитченко<sup>1</sup>, Н.Н. Чуб, В.Л. Родіонова,  
В.В. Черепанов, Ф.С. Леонтьєва<sup>1</sup>, М.І. Крамар**

*ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ НАН УКРАЇНИ  
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. В.Н. КАРАЗІНА<sup>1</sup>*

*Було досліджено вплив кріозахисного середовища (гліцерин-лактоза-жовток) і низькотемпературної консервації на ферментативну активність сперми людини. При оцінці результатів не виявлено достовірної зміни активності ферментів сукцинатдегідрогенази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в спермі людини на етапах кріоконсервування. Виявлено достовірне зниження активності акросомальних ферментів. Комплексна оцінка активності цитозольних і акросомальних ферментів може бути діагностичним і прогностичним тестом при визначенні фертильності сперми людини.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** акрозин, гіалуронідаза, сукцинатдегідрогеназа, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, глюкуронова кислота, кріоконсервування, сперма людини.

**ВСТУП.** Біологічні особливості сперміїв зумовлюють їх значну стійкість до зовнішніх дій. Проте відомо, що найбільш чутливі до різних дій акросомальні ферменти – гіалуронідаза й акрозин [6]. Гіалуронідаза (гіалуронат-ендо-β-N-ацетилгексозамінідаза, 3.2.1.35) – фермент, який сприяє роз'єднанню клітин променистого вінця і розпушенню цитоплазми ооцита, забезпечує просування спермія до блискучої оболонки, яка бере участь в утворенні другого полярного тільця. На внутрішній поверхні мембрани акросомальної ділянки головки сперміїв, у формі неактивного ферменту, розташований проакрозин, який при вивільненні перетворюється на акрозин. Акрозин (нейтральна протеїназа, КФ. 3.4.21.10) відіграє значну роль у проникненні спермія через блискучу оболонку ооцита [6]. Абсолютно очевидно, що зниження протеолітичної активності даних ферментів після НТК може бути однією з причин зменшення фертильності сперміїв у тих випадках, коли рухливість їх перебуває на досить високому рівні, оскільки рідше ушкоджуються постакрсомальна зона та основна ділянка хвоста спермія, в яких знаходяться ферменти, що забезпечують енергетичні процеси і рух сперміїв. Це, зокрема, сукцинатдегідрогеназа (КФ 1.3.99.1 – СДГ), активність якої може бути показником внутрішньоклітинного метаболізму клітин [7], та глюко-

© Ю.В. Никитченко, Н.Н. Чуб, В.Л. Родіонова, В.В. Черепанов, Ф.С. Леонтьєва, М.І. Крамар, 2008.

зо-6-фосфатдегідрогеназа (D-глюкозо-6-фосфат НАДФ – оксидоредуктаза, К.Ф.1.1.1.49 – Г6ФДГ), що каталізує реакцію зневоднення 1-го вуглецевого атома піранозної форми D-глюкозо-6-фосфату. Фермент Г6ФДГ міститься в розчинній частині цитоплазми клітини і вважається стійким до дії заморожування-відігрівання [1]. Враховуючи роль ферментів у процесі запліднення і біоенергетики сперміїв, а також широке використання кріоконсервованої донорської сперми при лікуванні чоловічого безпліддя, ми вважали за доцільне провести порівняльне вивчення ферментативної активності й морфофункціонального стану сперміїв людини на етапах НТК.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Для дослідження було використано 80 еякулятів, отриманих у чоловіків з нормозооспермією після 3-4-денної статевої абстиненції. Еякуляти одержували методом мастурбації в стерильні чашки Петрі. Для розрідження сперму поміщали в термостат при 37 °С на 40-60 хв. Концентрацію і рухливість сперміїв визначали в камері Makler (Ізраїль) згідно з рекомендаціями ВООЗ [15]. Активність акрозину визначали в 46 еякулятах за модифікованою нами методикою [3]. Для визначення гіалуронідазної активності використовували метод, який ґрунтується на здатності ферменту каталізувати процес гідролітичного розщеплення субстрату до утворення глюкуронової кислоти (ГК) [9]. Оптичну щільність ГК визна-

чали на фотометрі КФК-3 при довжині хвилі 530 нм (зелений фільтр). Активність СДГ і Г6ФДГ визначали за модифікованими методиками для сперми людини [4, 5, 10]. Оптичну щільність реєстрували на двопроменевому спектрофотометрі Specord UV VIS (Німеччина) при довжині хвилі 600 і 340 нм відповідно.

Для кріоконсервування використовували охоложене кріозахисне середовище – гліцерин-лактоза-жовток (ГЛЖ), яке по краплях додавали в еякулят у співвідношенні 1:1. Зразки сперми після експозиції з ГЛЖ протягом 10-15 хв розфасовували по 0,5-0,7 мл в стерильні полімерні апірогенні трубочки, герметизували і заморожували до  $-196^{\circ}\text{C}$  за програмою [2]. Розморозували на водяній бані при  $37^{\circ}\text{C}$  до появи рідкої фази.

Статистичну обробку проводили, використовуючи критерій Стьюдента-Фішера, за допомогою програми Excel.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У ході досліджень було встановлено, що концентрація спермій у нативних зразках еякулятів становила  $(88\pm 6,3)$  млн/мл, фракція спермій з швидким і повільним поступовим прямолінійним рухом (група "а+в") –  $(68\pm 5,6)$  %, неушкоджена акросома була зафіксована у  $(74\pm 2,0)$  % гамет. Після інкубації з ГЛЖ і НТК концентрація клітин достовірно знижувалася ( $(48\pm 5,0)$  і  $(40\pm 4,9)$  млн/мл відповідно), що було пов'язано з додаванням в еякулят кріозахисного середовища [2]. Рухливість у групі "а+в" змінювалася до  $(70\pm 4,5)$  і  $(60\pm 5,8)$  %. Неушкоджена акросома зберігалася у  $(69\pm 5,5)$  і  $(61\pm 3,5)$  % клітин відповідно. У деяких зразках після додавання ГЛЖ спостерігали збільшення кількості активнорухомих спермій. Відомо, що компоненти яєчного жовтка захищають мембрану спермій від різних фізико-хімічних дій [14]. Інкубація гамет в середовищі ГЛЖ не приводила до індукції акросомальної реакції або ушкодження хромосом, що узгоджується з даними інших авторів [11, 14].

Активність акрозину в нативних сперміях ( $n=8$ ) після додавання ГЛЖ ( $n=12$ ) і НТК ( $n=26$ ) склала  $(5,7\pm 0,8)$ ,  $(5,5\pm 0,4)$  і  $(4,4\pm 0,5)$  мг/хв на 106 спермій відповідно. Інкубація клітин із ГЛЖ не впливала на активність акрозину, проте після кріоконсервування зразків показники достовірно знижувалися [3]. Після заморожування-відігрівання активність акрозину зменшилася майже на 20 %. Даний факт деякі дослідники [13] пояснюють тим, що при зниженні температури різко сповільнюється робота  $\text{Ca}^{2+}$ -залежної АТФази мембрани (кальцієвого насоса), що приводить до внутрішньоклітинної акумуляції іонів  $\text{Ca}^{2+}$ . Після відновлення фізіологічної

температури високий рівень  $\text{Ca}^{2+}$  є тригером акросомальної реакції, внаслідок чого відбувається втрата акрозину. Проте причиною зниження активності акрозину можуть бути й інші фактори: відсутність умов для активування проакрозину, надзалишок активаторів, підвищена активність інгібіторів протеїнази, недостатній синтез власного проакрозину та ін.

При дослідженні гіалуронідазної активності (ГА) був використаний принцип інкубації біологічної рідини (еякуляту), що містить фермент, з гіалуроновою кислотою і подальшим визначенням продуктів її розпаду – глюкуронової кислоти (ГК). Як видно з рисунка 1 А, після НТК кількість ГК достовірно зменшувалася. Очевидно, даний факт пов'язаний з тим, що гіалуронідаза, яка локалізована на внутрішній стороні зовнішньої мембрани спермій, однією з перших піддається дії низьких температур. Оскільки морфокінетичні властивості спермій знизилися невірогідно (рис. 1 Б), то, мабуть, відбуваються конформаційні зміни в біомолекулі ензиму, які приводять до порушення рівноваги між біосинтетичними і катаболічними процесами в клітині, визначення яких вимагає подальших досліджень.

Вимірювання активності СДГ у сперміях людини ( $n=17$ ) представлено на рисунку 2. Було відмічено, що після еквілібрації з ГЛЖ активність СДГ підвищувалася до  $(0,808\pm 0,03)$  нмоль/хв на 106 спермій і не змінювалася після кріоконсервування –  $(0,816\pm 0,022)$  нмоль/хв на 106 спермій.

На рисунку 3 показана активність Г6ФДГ у спермальній плазмі ( $n=10$ ) на етапах НТК. Вищий рівень активності даного цитозольного ферменту в позаклітинному середовищі після кріоконсервування пов'язаний зі зниженням концентрації і рухливості спермій після дії НТК. Отримані результати корелюють з даними [12] про досить високу лабільність ферменту. Авто-

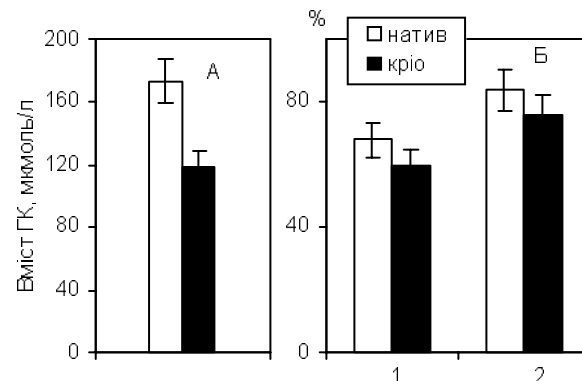


Рис. 1. Порівняльне вивчення впливу кріоконсервування на кількість глюкуронової кислоти (А) і морфологічний стан спермій людини (Б): 1 – рухливість (фракція "а+в"), 2 – збереження акросом спермій.



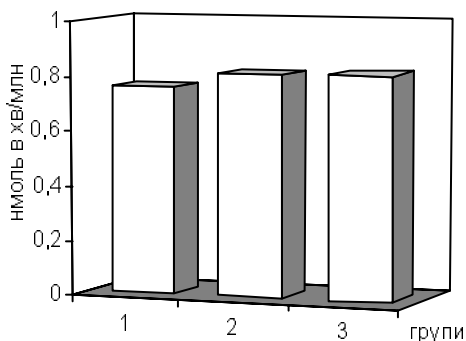


Рис. 2. Активність СДГ у сперміях людини: 1 – нативні зразки; 2 – натив + ГЛЖ; 3 – після НТК.

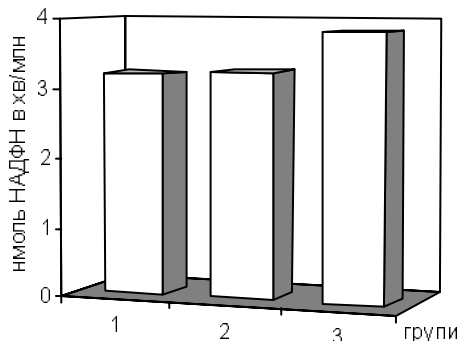


Рис. 3. Активність Г6ФДГ у спермальній плазмі: 1 – нативні зразки; 2 – натив + ГЛЖ; 3 – після НТК.

ри виявили, що Г6ФДГ є одним із перших ферментів, які виходять із спермія при ушкодженні його цитоплазматичної мембрани. Зв'язок активності даних ферментів з кількістю ушкоджених клітин був показаний при дослідженні різних режимів охолодження і зберігання сперми людини [8].

Таким чином, у ході даного дослідження було встановлено, що метод низькотемпературного консервування за програмою під захистом ГЛЖ дозволяє зберегти активність основних ферментів, що беруть участь в заплідненні й біоенергетиці сперми людини на досить високому рівні. Проте зниження активності акросомальних ферментів може призводити до погіршення протеолітичної функції розморожених спермій і, незважаючи на відновлення їх рухливості після заморожування-відігрівання,

впливати на фертильність гамет [11-13]. Тому комплексна оцінка ферментативної активності кріоконсервованих спермій людини у поєднанні з рутинними параметрами дослідження еякуляту може бути додатковим діагностичним і прогностичним тестом визначення життєздатності й фертильності спермій людини.

**ВИСНОВКИ.** 1. Низькотемпературне консервування сперми людини, за розробленою нами методикою, забезпечує збереження акросом у 91 % гамет та істотно не впливає на активність акрозину, гіалуронидази, сукцинатдегідрогенази і глюкозо-6- фосфатдегідрогенази.

2. Додавання ГЛЖ в еякулят не призводить до зниження ферментативної активності сперми.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Актуальные проблемы криобиологии / Под общ. ред. Н.С. Пушкаря и А.М. Белоуса. – К.: Наукова думка, 1981. – С. 38-39.
2. Грищенко В.И., Чуб Н.Н., Крамар М.И. и др. Кріоконсервирование спермы донора // Пробл. репродукции. – 2001. – № 2. – С. 71-73.
3. Дунаевская А.В., Чуб Н.Н., Крамар М.И. Активность акрозина в кріоконсервированных спермиях человека // Пробл. криобиологии. – 2003. – № 1. – С. 65-71.
4. Карузина И.И., Арчаков А.И. Выделение микросомальной фракции печени и характеристика ее окислительных систем // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 49-62.
5. Кривченкова Р.С. Определение активности сукцинатдегідрогеназы в суспензии митохондрий // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 44-46.

6. Молнар Е. Общая сперматология. – Будапешт: Изд-во Венгрии, 1969. – 294 с.
7. Нарциссов Р.П., Вялушкина М.Д. Прогностическое значение корреляции ферментов в лейкоцитарных клетках у детей // Пробл. гематологии. – 1979. – № 13. – С. 26.
8. Родионова В.Л., Никитченко Ю.В., Чуб Н.Н., Черепанов В.В. Сукцинатдегідрогеназная и глюкозо-6-фосфатдегідрогеназная активности спермы человека на этапах низкотемпературного консервирования // Пробл. криобиологии. – 2005. – № 2. – С. 207-211.
9. Шараев П.Н., Стрелков Н.С., Гунчев В.В. и др. Определение гиалуронидазной активности в биологических жидкостях // Клини. лаб. диагностика. – 1996. – № 3. – С. 21-22.
10. Baquer N.Z., Tevary K., Krishman P.S. Hexokinase, glucose-6-phosphate dehydrogenase and anti-

oxidant enzymes in diabetic reticulocytes // Arch. Biochem. Biophys. – 1967. – **120**, № 1. – P. 22-34.

11. Glander H.J. Sperm metabolism, sperm vitality and cryopreservation // Zentralbl. Gynakol. – 1984. – **106**, № 13. – P. 892-899.

12. Menkveld R., Remrev J.P., Franken D.R. Acrosomal morphology as a novel criterion for male fertility diagnosis relation with acrosin activity, morphology (strict criteria), and fertilization in vitro // Fertil. Steril. – 1996. – **65**. – P. 637-644.

13. Syms A.J., Johnson A.R., Lipshultz L.I. et al. Studies on human spermatozoa with round head syndrome // Fertil. Steril. – 1984. – **42**. – P. 431-435.

14. Tesarik J., Mendoza C. Alleviation of acrosome reaction prematurity by sperm treatment with egg yolk // Fertil. Steril. – 1995. – **63**. – P. 153-157.

15. World Health Organization. Laboratory manual for examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. – Cambridge: The Press Syndicate of the University of Cambridge, 1997. – 22 p.

## АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ КРИОКОНСЕРВИРОВАННОЙ СПЕРМЫ ЧЕЛОВЕКА

**Ю.В. Никитченко<sup>1</sup>, Н.Н. Чуб, В.Л. Родионова, В.В. Черепанов, Ф.С. Леонтьева<sup>1</sup>, М.И. Крамар**  
ИНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРИОБИОЛОГИИ И КРИОМЕДИЦИНЫ НАН УКРАИНЫ  
ХАРЬКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. В.Н. КАРАЗИНА<sup>1</sup>

### Резюме

Было исследовано влияние криозащитной среды (глицерин-лактоза-желток) и низкотемпературного консервирования на ферментативную активность спермы человека. При оценке результатов не обнаружено достоверного изменения активности ферментов сукцинатдегидрогеназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в сперме человека на этапах криоконсервирования. Отмечено достоверное снижение активности акросомальных ферментов. Комплексная оценка активности цитозольных и акросомальных ферментов может быть диагностическим и прогностическим тестом при определении фертильности спермы человека.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: акрозин, гиалуронидаза, сукцинатдегидрогеназа, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, глюкуроновая кислота, криоконсервирование, сперма человека.

## ENZYMATIC ACTIVITY OF CRYOPRESERVED HUMAN SPERM

**Yu.V. Nykytchenko<sup>1</sup>, N.N. Chub, V.L. Rodionova, V.V. Cherepanov, F.S. Leontyeva<sup>1</sup>, M.I. Kramar**  
INSTITUTE FOR PROBLEMS OF CRYOBIOLOGY AND CYOMEDICINE OF NAS OF UKRAINE  
KHARKIV NATIONAL UNIVERSITY BY V.N. KARAZIN<sup>1</sup>

### Summary

The influence of cryoprotective medium (glycerol-lactose-chicken egg yolk) and low temperature preservation on enzymatic activity of human sperm was investigated. During the evaluation of the results no significant difference in activity of succinate dehydrogenase and glucose-6-phosphate dehydrogenase in human sperm at stages of cryopreservation was discovered. Significant decrease of acrosomal enzymatic activity was marked. A complex estimation of cytosol and acrosomal enzymes activity can be a diagnostic and prognostic test for determination of human sperm fertility.

KEY WORDS: acrozin, gialuronidase, succinate dehydrogenase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, glucuronic acid, cryopreservation, human sperm.

Отримано 16.07.2008 р.

Адреса для листування: Ю.В. Никитченко, Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, 61077, Україна.

## БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ СТАРІННЯ ШКІРИ ТА СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО ЇХ КОРЕКЦІЇ

А.В. Володькіна<sup>1</sup>, І.І. Геращенко<sup>2</sup>

ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ<sup>1</sup>  
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ<sup>2</sup>

*З позицій вільнорадикальної теорії розглянуто біохімічний аспект старіння шкіри. Виявлено загальні закономірності та відмінності в механізмах біологічного старіння та фотостаріння шкіри. З точки зору впливу на біохімічні процеси охарактеризовано сучасні косметологічні методи профілактики та корекції вікових змін шкіри.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** шкіра, колаген, біологічне старіння, фотостаріння, біохімічний механізм, вільні радикали.

Останнім часом, у зв'язку із зростанням добробуту і прагненням вести здоровий спосіб життя, все більше уваги приділяється підтримці естетичного зовнішнього вигляду, особливо стану шкіри. У відповідь на запит суспільства набули значного розвитку такі традиційні напрямки, як косметологія та дерматокосметологія. Виникли нові галузі знань та практичної діяльності: естетична медицина, геронтологічна косметологія, космецевтика. Для цілеспрямованого пошуку косметичних засобів та розробки методів профілактики й корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри необхідно глибоке розуміння процесів, що відбуваються в епідермісі та дермі. Мета цього огляду – розглянути основні біохімічні механізми старіння шкіри і стисло охарактеризувати сучасні підходи до їх корекції.

Старіння шкіри можна розглядати із загальнобіологічних позицій старіння організму людини в цілому. Отже, можна виділити генетично детерміноване біологічне та екзогенне старіння шкіри. Біологічне старіння шкіри обумовлюють загальні метаболічні розлади в організмі, що настають з часом: зниження активності цитоплазматичних ферментів, переважання процесів катаболізму над процесами анаболізму. Важливим фактором старіння шкіри є зниження функції ендокринної та імунної систем. Екзогенне старіння шкіри викликають зовнішні фактори: інфекція, травма,

© А.В. Володькіна, І.І. Геращенко, 2008.

тютюнокуріння, УФ-світло, стрес, електромагнітні поля тощо. Як пусковий механізм для обох типів старіння широко обговорюють роль вільних радикалів, надмірне утворення яких в результаті неферментативного окиснення призводить до пошкодження мембранних ліпідів, компонентів сполучної тканини, ДНК, ферментних систем клітини тощо [2].

Зовнішніми ознаками старіння шкіри є атрофія, що призводить до зменшення еластичності та утворення зморщок, і втрата природного кольору. З віком зменшуються товщина епідермісу і кількість в ньому меланоцитів та клітин Лангерганса. У дермі знижується вміст основного структурного елемента – колагену (в середньому на 1 % щороку), еластину та глікозаміногліканів [2]; колаген через утворення поперечних зв'язків (наприклад, під впливом продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ)) стає менш розчинним та нечутливим до власної колагенази [10]. Саме обмін колагену є ключовою метаболічною ланкою, що визначає процес старіння шкіри в цілому. Як відомо, основними структурними білками дерми є колагени типів I та III, що відрізняються за будовою потрійної спіралі. Їх попередниками є проколаген, що синтезується у фібробластах: після складання на рибосомах  $\alpha$ -ланцюгів відбувається їх гідроксилювання за допомогою проліл- та лізілоксидази за присутності молекулярного кисню, вітаміну С, іонів  $Fe^{2+}$  й  $\alpha$ -ке-

тоглутарової кислоти з наступним скручуванням у спіраль. Після виходу проколагену з клітини з нього з участю мідьзалежної лізілоксидази утворюється відповідний тип колагену [10]. Обмін колагену та інших компонентів екстрацелюлярного матриксу дерми регулюється взаємодією між системою цинковмісних матриксних металопротеїназ (matrix metalloproteinases, MMP), яких на даний час встановлено понад 20, та їх інгібіторами (tissue inhibitors of metalloproteinases, TIMP). У нормі фібробласти продукують відносно невелику кількість MMP і високу кількість TIMP, головним чином TIMP-1 та TIMP-2, що регулюють активність MMP-1 (колагенази матриксу) і MMP-2 (желатинази А) відповідно. Але з віком активність MMP зростає і процес деградації білків починає переважати над їх синтезом [9]. У досліджах *in vitro* встановлено знижений синтез проколагену I фібробластами, ізольованими з дерми пацієнтів похилого віку (понад 80 років) порівняно з молодими пацієнтами (віком від 18 до 29 років): відповідні показники становили  $(56 \pm 8)$  та  $(82 \pm 16)$  нг/мл [25]. Окиснювальну модифікацію колагену як складову механізму старіння шкіри розглянуто в роботі [21]: окиснювальне дезамінування  $\epsilon$ -аміногрупи залишку лізину призводить до утворення 2-аміноадипінової кислоти, рівень якої значно зростає у шкірі пацієнтів похилого віку. Каталізатором цього процесу є мідьзалежна лізілоксидаза, а кисень постачають високоактивні гідроксильні радикали  $\cdot\text{OH}$  і пероксинітрит  $\text{ONOO}^-$ .

На основі метаболічних, гормональних, імунологічних та функціональних показників шкіри у пацієнток ідентифіковано 4 основних типи ендогенних інволюційно-дистрофічних змін шкіри [12]: судинний, atopічний, гіперпластичний та гіпоестрогенемічний. Для кожного типу встановлено особливості метаболізму в шкірі. Найбільш виражені метаболічні зміни виявлено в біоптатах шкіри для гіпоестрогенемічного типу: встановлено зниження синтезу колагену та вмісту загальних ліпідів і тригліцеридів, а також значне порушення обміну протеогліканів.

Метою гістохімічного дослідження біоптатів шкіри, одержаних від жінок віком 34-39 років, було визначення активності маркера NO-синтазної системи – НАДФН-діафоридази [11]. У жінок з передчасним старінням шкіри обличчя, порівняно з контрольною групою, не визначалась активність NO-синтази в клітинних мембранах і стінках судин шкіри, з'являлись фібробласти зі слабкою активністю NO-синтази в цитоплазмі. Автори вважають, що ці розлади, перш за все порушення NO-залежної регуляції

судинного тону (спазм), сприяють розвитку інволюційних процесів у шкірі.

Взаємозв'язок між порушенням водно-електролітного обміну та старінням шкіри простежено в роботі [3]. У нормі 1 г колагену дерми може утримувати 0,5 мл води і 0,08 ммоль іонів натрію, а найбільше води міститься у базальному шарі епідермісу – 72 %. З віком вміст внутрішньоклітинної води в епідермісі знижується. Хронічна ішемія шкіри, надмірна інсоляція можуть спричинити активацію ПОЛ, що призводитиме до утворення внутрішньо- і міжмолекулярних зв'язків у волокнах колагену. В результаті зменшується його гідрофільність, втрачаються еластичність шкіри та її тургор. Доведено [6] накопичення з віком в епідермісі та дермі нерозчинних солей кальцію.

У роботі [18] для пояснення процесу старіння шкіри розглядається модель мікрозапалення, яка ґрунтується на спостереженні, що будь-які внутрішні й зовнішні чинники однаково ініціюють в ендотеліальних клітинах синтез міжклітинного фактора адгезії (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1). Після синтезу ICAM-1 транспортується на поверхню ендотеліальних клітин капілярів дерми, що слугує сигналом для моноцитів та макрофагів до транслокації крізь стінки капілярів у дерму. Цей процес супроводжується вивільненням прооксидантів:  $\text{H}_2\text{O}_2$ , синглетного кисню  $^1\text{O}_2$  та MMP, що починають руйнувати екстрацелюлярний матрикс і навіть клітини. Ушкоджені клітини, у свою чергу, ініціюють каскад перетворень арахідонової кислоти із наступним синтезом простагландинів і лейкотриєнів, які слугують сигналом для мастоцитів вивільняти гістамін та фактор некрозу пухлин (TNF-1). Останні дві субстанції примушують ендотеліальні клітини синтезувати ICAM-1, отже, коло запалення замикається. Ця модель пояснює стоншення шкіри та утворення зморщок, але не може пояснити утворення пігментних плям та дегідратацію дерми.

Останні дані свідчать про роль глікування віментину в процесі старіння шкіри. Віментин – білок проміжних філаментів цитоскелета, має молекулярну масу близько 53 кД і міститься у фібробластах. Стимуляція синтезу віментину, наприклад карнозином, надає фібробластам пружність і форму, що притаманно молодим клітинам. Глікування віментину відбувається по залишках лізину – модифікований віментин втрачає нативну структуру, утворюючи конденсовані агрегати всередині фібробластів – “агресомі” [20].

Головним фактором екзогенного старіння шкіри є ультрафіолетове опромінення (УФО).

Залежно від характеру біологічного впливу на організм УФО ділять на три відрізки: УФ-А – від 320 до 400 нм; УФ-В – від 290 до 320 нм; УФ-С – від 200 до 290 нм. Найбільш агресивне для шкіри УФ-С опромінення затримується озоновим шаром атмосфери. УФ-В повністю поглинається епідермісом, його пошкоджувальний вплив полягає, зокрема, у фотохімічній димеризації тиміну в ДНК та фотоіонізації амінокислот за вільнорадикальним механізмом. УФ-А є набагато менш агресивним, проте його промені масовано проникають у дерму. Пошкоджувальний вплив УФ-А опосередкований через утворення активних форм кисню (АФК) [2, 8]. Ендогенні хромофори, такі, як рибофлавін, порфірини, НАДФ, активують процес утворення АФК, тобто виступають у ролі фотосенсибілізаторів [15].

В одному з ранніх досліджень, присвячених пошуку компромісу між необхідністю штучного УФО населення в умовах Півночі та його негативним впливом на шкіру, було встановлено, що під час хронічного опромінення УФ-світлом морських свинок суттєво зменшується вміст вітаміну С у шкірі тварин [4], що можна пояснити виснаженням його запасів через участь у нейтралізації УФ-індукованих вільних радикалів та АФК.

Фотостаріння, як і біологічне старіння, характеризується механізмом, який включає оксидативний стрес, підвищення активності MMP і зниження експресії та синтезу колагену. На групі з 53 пацієнтів віком понад 80 років показано, що місцеве нанесення крему з 1 % вітаміну А протягом 7 днів достовірно знижує активність цих процесів [26]. Біохімічними та гістохімічними методами встановлено, що фотоуражена шкіра характеризується збільшенням кількості глікозаміногліканів, протеогліканів, волокон аномального еластину з одночасною втратою колагену [19]. Було показано, що після УФО шкіри у складі еластину достовірно зростає вміст залишків неприродної D-β-аспарагінової кислоти, яка є маркером старіння тканин [17].

Автори ґрунтовної роботи [16] вважають, що при фотостарінні та біологічному старінні шкіри паралельно розгортаються кілька механізмів. Серед них такі: УФО активує на поверхні кератиноцитів та фібробластів рецептори до епідермального фактора росту (EGF), інтерлейкіну-1 (IL-1) та TNF-α. Активовані рецептори стимулюють каскадні механізми передавання сигналу, наслідком яких є індукція транскрипції ключової субстанції – активатора протеїну-1 (AP-1), який, у свою чергу, стимулює синтез MMP, що починають руйнувати матрикс. AP-1

також безпосередньо інгібує експресію гена, що відповідає за синтез проколагену типів I та III. Інший механізм ініціюється тим, що УФО активує НАДФ-залежну оксидазу в кератиноцитах та дермі. Даний фермент відновлює молекулярний кисень до супероксиду  $\cdot O_2^-$ , який потім конвертується у послідовності:  $H_2O_2$ ,  $\cdot OH$ ,  $^1O_2$ . Ці АФК є руйнівними для ліпідів клітинних мембран та білків дерми. Ще один паралельний механізм полягає в активації УФ-світлом метаболічних шляхів, опосередкованих протеїніназами, що, врешті, приводить до синтезу AP-1, який індукує синтез MMP-1, MMP-3 та MMP-9. MMP-1 розщеплює колаген типів I та III лише в одному місці триланцюгового спірального волокна, але цього достатньо для того, щоб MMP-3 (стромелізін-1) та MMP-9 (желатиназа В) завершили процес деструкції білка.

Що стосується пігментного обміну, то давно встановленим фактом є активація під дією УФО тирозиназної реакції, кінцевим продуктом якої є дві форми меланіну – еумеланін та феомеланін. Прискорений меланогенез під дією УФО є захисною функцією організму. За звичайних умов тирозиназа малоактивна [10]. Показано, що тирозиназна реакція супроводжується продукуванням  $\cdot O_2^-$  [24], а феомеланін під впливом УФО через утворення гіпоксантину дає АФК. Отже, можливий зв'язок між гіперпігментацією і колагеновим шляхом старіння шкіри.

З позицій вільнорадикальної теорії основні біохімічні механізми захисту шкіри такі [2]. Активація тирозинази під впливом УФО за присутності молекулярного кисню призводить до збільшення меланінової пігментації. Нейтралізація вільних радикалів і АФК здійснюється речовинами з антиоксидантною активністю, такими, як: β-каротин, вітаміни Е та С, глутатіон, убіхінон (коензим  $Q_{10}$ ), селен, цинк, сечова кислота, мелатонін, хелатні агенти та ензими-антиоксиданти глутатіонпероксидаза, редуктаза та супероксиддисмутаза (СОД). Вітамін Е та каротиноїди (попередники вітаміну А) є пастками вільних радикалів. Вітамін С реагує з  $\cdot O_2^-$  та  $\cdot OH$ , а також відновлює антиоксидантну активність вітаміну Е. СОД знешкоджує  $\cdot O_2^-$ , каталізуючи утворення  $H_2O_2$ . Молекулярні пошкодження, що виникли, усуваються репаративною системою. До неї належать ліпази, фосфоліпази, протеїнази, пептидази, ендонуклеази тощо, а також регуляторні речовини (карнозин). Протеїнази беруть участь у видаленні окиснених білків. УФ-специфічна ендонуклеаза та ДНК-полімераза-I відновлюють УФ-індуковане пошкодження структури ДНК. Карнозин (β-аланіл-L-гістидин) та інші гістидин-

вмісні дипептиди захищають шкіру від старіння за різноманітними механізмами, такими, як: антиоксидантна дія [13], підтримка на фізіологічному рівні концентрації іонів водню, міді, цинку, заліза. Карнозин захищає білкові молекули від глікування.

В арсеналі сучасної косметології є різні підходи до корекції вікових змін шкіри: декоративно-косметичний, хірургічний, дія фізичних факторів (масаж, нелазерний електромагнітний спалах, радіохвильовий ліфтинг тощо), застосування біологічно активних речовин (БАР). Ми стисло розглянемо останній напрямок, який найбільше пов'язаний з корекцією біохімічних механізмів старіння шкіри, зосередившись лише на сучасних розробках.

Для попередження передчасного старіння шкіри, поряд із класичними косметичними засобами, останнім часом застосовують препарати з підвищеним вмістом БАР – космецевтичні препарати, або космецевтики. До засобів “замісної терапії” відносять препарати на основі 3,5-6,5 % колагену бика, які посідають одне з провідних місць у світі за частотою використання. Проте тваринний колаген є чужорідним білком. Через значну молекулярну масу він не здатний проникати крізь епідерміс, тому його нанесення на шкіру супроводжується тимчасовим ефектом. Аналогічною є ситуація з препаратами гіалуронової кислоти, молекулярна маса якої може бути понад 100 млн Да. Результатом застосування гіалуронової кислоти є лише зволоження поверхні шкіри [5]. При використанні препаратів, що містять фрагменти колагену і гіалуронової кислоти, які певною мірою здатні проникати у глибину шкіри, відбувається відволікання колагенази та гіалуронідази від взаємодії з власним екстрацелюлярним матриксом (конкурентне гальмування), що у віддаленій перспективі прискорює старіння шкіри.

Більш ефективним слід вважати введення до складу косметичних засобів речовин рецепторно-ефекторної дії, що стимулюють синтез власних структурних компонентів шкіри. Наприклад, гліколева кислота, яку здавна використовують з метою очистки шкіри (гліколевий пілінг), виявилась корисною для поліпшення морфологічного та функціонального стану фотоураженої шкіри. Механізм дії гліколевої кислоти полягає у посиленні експресії генів епідермальної та дермальної гіалуронової кислоти і колагену типу I, що призводить до поступової реконструкції екстрацелюлярного матриксу [14]. Окрім гліколевої, подібну стимулювальну дію проявляють інші  $\alpha$ -гідрокси- та полігідроксикислоти (AHAs, PHAs) [27]. Запро-

поновано корекцію [16, 27] механізмів фото-старіння шкіри шляхом місцевого нанесення препаратів транс-ретиноевої кислоти, яка через стимуляцію трансформуючого фактора росту (TGF- $\beta$ ) індукує експресію генів проколагену типів I та III. Як відомо, транс-ретиноева кислота є однією з активних форм вітаміну А.

Запропоновано також як засіб проти зморщок крем з 1 %  $\alpha$ -кетоглутарової кислоти, яка є кофактором проліл-4-гідроксилази, необхідної для синтезу проколагену у фібробластах [22].

Найбільш перспективними інгредієнтами сучасної косметології вважають пептиди [1, 5]. Одним з найпопулярніших на сьогодні є ацетилгексапептид-3 (Argireline™). Молекула гексапептиду повторює амінокислотний фрагмент N-термінального кінця білка SNAP-25 (synaptosomal associated protein), що бере участь у механізмі передачі сигналу про скорочення з нервового закінчення на м'яз. Тому гексапептид за конкурентним механізмом замість SNAP-25 зв'язується у комплекс з іншими білками – учасниками викиду ацетилхоліну в синаптичну щілину, в результаті блокується передача нервового імпульсу на мимічні м'язи. Комплекс з участю SNAP-25 утворюється наново при проходженні кожного нервового імпульсу, тому для досягнення стійкого розслаблення м'яза необхідне тривале застосування препарату (відмінність від ботоксу, який незворотно блокує нервово-м'язову передачу). Показано, що при використанні протягом 30 днів крему, що містить 0,005 % гексапептиду, зморшки зменшуються в середньому на 27 %. Ще більш ефективними, з огляду на інгібування нейросекреції, виявились в досліджах *in vitro* препарати Snap-7 (Acetyl Glutamyl Hexapeptide-1) та Snap-8 (Acetyl Glutamyl Heptapeptide-1).

У 1993 р. професор Магюарт (Франція) для певної групи пептидних препаратів ввів термін “матрикіні”. Принцип їх дії можна пояснити на прикладі пальмітоїлу пентапептиду (Matryxil™), що містить п'ять амінокислотних залишків (Ліз-Тре-Тре-Ліз-Сер). Ця послідовність амінокислот, яка повторює фрагмент проколагену типу I, сприймається фібробластами як продукт деградації колагену, що слугує сигналом для індукції синтезу додаткових молекул матриксу [5]. Ліпофільний залишок жирної кислоти у складі препарату покращує його penetрацію через епідермальний бар'єр. Matrixyl 3000™ (Sederma) містить два ліпопептиди Pal-GHK та Pal-GQPR. Пептид Pal-GHK є фрагментом  $\alpha$ -2-ланцюга колагену, а пептид Pal-GQPR – фрагментом імуноглобуліну G. Пептид Pal-GQPR входить також до складу продукту Rigin™. Цей

матрикін зменшує концентрацію прозапального IL-6 у шкірі, який вважають маркером її старіння.

Мідьвмісні пептиди (GHK-Cu, виробництво ProCyte) – трипептиди з амінокислотою послідовністю Глі-Гіс-Ліз – слугують сигналом для регенерації тканин, зокрема для ремоделювання шкіри. Як відомо, під час пошкодження тканин вступають в дію протеолітичні ферменти, що розрізають ушкоджені білки до фрагментів. Серед цих фрагментів обов'язково будуть пептиди з даною послідовністю, які негайно приєднують іони міді з плазми крові, утворюючи тригерний GHK-Cu-комплекс. З віком і через інші причини ендogenous пептид GHK-Cu утворюється менш ефективно, що й потребує його додаткового введення ззовні [5, 7].

На стимуляцію синтезу ламініну-5 та  $\alpha$ -6-інтегрину спрямована дія ламініноподібного гексапептиду серилезину (Serilesine®). Білок ламінін, який синтезується фібробластами, міститься у базальній мембрані епідермісу; його роль полягає у зміцненні з'єднання між епідермісом і дермою. У віці після 30 років вміст ламініну поступово зменшується. Препарат проти вікових зморщок Lipeptide® стабілізує нативну структуру колагенових волокон, що запобігає надмірному ферментативному розщепленню. Встановлено, що причиною деградації дермального матриксу, крім АФК, є також активні форми азоту (АФА) та активні карбонільні форми. Серед антиоксидантів, які застосовують для нейтралізації АФК, згадується коензим Q<sub>10</sub>. Спеціально як пастку для АФА

(оксиду азоту, ONOO<sup>-</sup>, нітрозамінів тощо) розробили ліпохроман-6 [1].

Останнім часом в косметологічну практику впроваджують біогенні стимулятори, зокрема препарати на основі плаценти тварин і людини. Виробництво препаратів зі свинячої плаценти представлено компанією Japan Bioproducts. Загальна нормалізація метаболізму шкіри при застосуванні плацентарних препаратів реалізується за рахунок багатьох механізмів, серед яких: активізація функції фібробластів і нормалізація синтезу еластину, колагену та гіалуронової кислоти; нормалізація метаболізму меланіну за рахунок інгібування надмірної активності тирозинази. Вважається, що БАР, відповідальними за ці ефекти, є пептиди, фактори росту епідермісу та фібробластів, РНК тощо. У роботі [23], наприклад, доведено, що антиоксидантна дія екстракту плаценти людини забезпечується присутністю пептиду з амінокислотою послідовністю, характерною для колагену. Є обмаль наукових статей, присвячених вивченню властивостей препаратів з плаценти та інших біологічних об'єктів.

Таким чином, останні розробки у галузі косметики, як правило, виконують на основі розуміння процесів, що відбуваються у шкірі на молекулярному та клітинному рівнях. Біохімічні механізми, які становлять ключову ланку цих процесів, потребують подальшого поглибленого вивчення. Як перспективний напрямок слід розглядати з'ясування механізмів дії препаратів біологічного походження, зокрема плацентарних екстрактів та препаратів, що містять стовбурові клітини.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Гарсия-Антон Х. Косметика против морщин: современные представления и некоторые новые разработки // Косметика & Медицина. – 2006. – № 5. – С. 18-24.

2. Калюжная Л.Д., Дзюбак В.Е. Старение кожи: патогенетические, клинические и лечебные аспекты // Укр. мед. часопис. – 2002. – № 2. – С. 68-72.

3. Ковальчук В.І., Роговий Ю.Є. Взаємозв'язки у патогенезі порушень водно-електролітного обміну і еластичності шкіри при старінні // Одеський мед. журн. – 2002. – № 4. – С. 114-116.

4. Копылова З.А., Шелагина Н.А. Влияние

однократного и хронического ультрафиолетового облучения на содержание различных форм аскорбиновой кислоты в коже животных // В кн.: Биохимия кожи. – Архангельск: Сев.-Зап. кн. изд., 1971. – С. 120-127.

5. Марголина А., Штейман П. Пептиды: головоломка для косметологов // Kosmetik International J. (на рус. яз.). – 2007. – № 3. – С. 64-68.

6. Матковская Т.А., Юрьева Э.А., Сухоруков В.С. и др. О профилактике возрастных изменений кожи // Воен.-мед. журн. – 2000. – **321**, № 8. – С. 16-20.

7. Пикарт Л. Ремоделирование кожи с помощью

медьсодержащих пептидов // Косметика & Медицина. – 2004. – № 2. – С. 14-22.

8. Потаненко А. Стратосферный озон, ультрафиолет и здоровье // Косметика & Медицина. – 2004. – № 3. – С. 4-12.

9. Тибодо А. Ингибиторы маталлопротеиназ и самовосстанавливающиеся антиоксиданты как перспективные компоненты в средствах по уходу за стареющей и фотоповрежденной кожей // Косметика & Медицина. – 2004. – № 5. – С. 22-32.

10. Фролов Е.П. Биохимия кожи // В кн.: Кожа (строение, функция, общая патология и терапия) / Под ред. А.М. Чернуха, Е.П. Фролова. – М.: Медицина, 1982. – С. 76-124.

11. Цепколенко В.А., Насибуллин Б.А., Паланчик О.В. Участие NO-синтазных систем в процессах старения кожи // Дерматол. та венерол. – 2002. – № 2. – С. 64-65.

12. Цепколенко В.О. Клініко-патогенетичне обґрунтування диференційованого підходу до корекції інволюційно-дистрофічних змін шкіри: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Харків, 2006. – 33 с.

13. Babizhayev M.A., Seguin M.C., Gueyne J. et al. L-carnosine (beta-alanyl-L-histidine) and carbinine (beta-alanyl-histamine) act as natural antioxidants with hydroxyl-radical-scavenging and lipid-peroxidase activities // Biochem. J. – 1994. – **304**, Pt. 2. – P. 509-516.

14. Bernstein E.F., Lee J., Brown D.B. et al. Glycolic acid treatment increases type I collagen mRNA and hyaluronic acid content of human skin // Dermatol. Urg. – 2001. – **27**, № 5. – P. 429-433.

15. Dalle Carbonare M., Pathak M.A. Skin photosensitizing agents and the role of reactive oxygen species in photoaging // J. Photochem. Photobiol. B. – 1992. – **14**, № 1-2. – P. 105-124.

16. Fisher G.J., Kang S., Varani J. et al. Mechanisms of photoaging and chronological skin aging // Arch. Dermatol. – 2002. – **138**. – P. 1462-1470.

17. Fujii N., Tajima S., Tanaka N. et al. The presence of D-beta-aspartic acid-containing peptides in elastic fibers of sun-damaged skin: a potent marker

for ultraviolet-induced skin aging // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2002. – **294**, № 5. – P. 1047-1051.

18. Giacomoni P.U. Aging, science and the cosmetics industry // Eur. Molecular Biol. Organization Rep. – 2005. – **6**, № S1. – S. 45-48.

19. Kligman L.H., Schwartz E., Sapadin A.N. et al. Collagen loss in photoaged human skin is overestimated by histochemistry // Photodermatol. Photoimmunol. Photomed. – 2000. – **16**, № 5. – P. 224-228.

20. Kueper T., Grune T., Prah S. et al. Vimentin is the specific target in skin glycation. Structural prerequisites, functional consequences, and role in skin aging // J. Biol. Chem. – 2007. – **282**, № 32. – P. 23427-23436.

21. Sell D.R., Strauch C.M., Shen W. et al. 2-amino adipic acid is a marker of protein carbonyl oxidation in the aging human skin: effects of diabetes, renal failure and sepsis // Biochem J. – 2007. – **404**, Pt. 2. – P. 269-277.

22. Son E.D., Choi G.H., Kim H. et al. Alpha-ketoglutarate stimulates procollagen production in cultured human dermal fibroblasts, and decreases UVB-induced wrinkle formation following topical application on the dorsal skin of hairless mice // Biol. Pharm. Bull. – 2007. – № 8. – P. 1395-1399.

23. Togashi S., Takahashi N., Iwama M. et al. Antioxidative collagen-derived peptides in human-placenta extract // Placenta. – 2002. – № 6. – P. 497-502.

24. Tomita Y., Hariu A., Kato C. et al. Radical production during tyrosinase reaction, dopa-melanin formation, and photoirradiation of dopa-melanin // J. Invest. Dermatol. – 1984. – **82**, № 6. – P. 573-576.

25. Varani J., Dame M.K., Rittie L. et al. Decreased collagen production in chronologically aged skin // Am. J. Pathol. – 2006. – **168**, № 6. – P. 1861-1868.

26. Varani J., Warner R.L., Gharraee-Kermani M. et al. Vitamin A antagonizes decreased cell growth and elevated collagen-degrading matrix metalloproteinases and stimulates collagen accumulation in naturally aged human skin // J. Invest. Dermatol. – 2000. – **114**, № 3. – P. 480-486.

27. Yu R.J., Van Scott E.J. Alpha-hydroxyacids and carboxylic acids // J. Cosmet. Dermatol. – 2004. – **3**, № 2. – P. 76-87.

## БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ СТАРЕНИЯ КОЖИ И СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ИХ КОРРЕКЦИИ

А.В. Володькина<sup>1</sup>, И.И. Геращенко<sup>2</sup>

ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ<sup>1</sup>  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. А.А. БОГОМОЛЬЦА<sup>2</sup>

### Резюме

С позиций свободнорадикальной теории рассмотрен биохимический аспект старения кожи. Выявлены общие закономерности и отличия в механизмах биологического старения и фотостарения кожи. С точки



зрения впливання на біохімічні процеси охарактеризовані сучасні косметологічні методи профілактики і корекції вікових змін шкіри.

**КЛЮЧЕВІ СЛОВА:** шкіра, колаген, біологічне старіння, фотостаріння, біохімічний механізм, вільні радикали.

## **BIOCHEMICAL MECHANISMS OF SKIN AGING AND RECENT APPROACHES TO THEIR CORRECTION**

**A.V. Volodkina<sup>1</sup>, I.I. Herashchenko<sup>2</sup>**  
ZAPORIZHYAN STATE MEDICAL UNIVERSITY<sup>1</sup>  
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLET<sup>2</sup>

### **Summary**

*In light of the free-radical theory the biochemical aspect of skin aging is considered. The common regularities as well as the differences in mechanisms of chronological aging and photoaging of skin are revealed. From position of impact on biochemical processes the recent cosmetological methods for prophylaxis and treatment of age changes of skin are characterized.*

**KEY WORDS:** skin, collagen, chronological aging, photoaging, biochemical mechanism, free radicals.

Отримано 31.03.2008 р.

**Адреса для листування:** А.В. Володькіна, Запорізький державний медичний університет, пр. Маяковського, 26, Запоріжжя, 69035, Україна.

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

## АКТИВНІСТЬ ПРОТЕЇНкіНАЗ В ЕПІТЕЛІОЦИТАХ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ТОВСТОЇ КИШКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ КОЛІТАСОЦІЙОВАНОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗУ

О.О. Кравченко, О.В. Дробінська, Л.І. Остапченко  
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

*Досліджено активність кальцій-, фосфоліпідзалежних та тирозинових протеїнкіназ у фракціях плазматичних мембран і цитозолі клітин слизової оболонки товстої кишки щурів за умов розвитку експериментальної моделі колітасоціюваного канцерогенезу. Встановлено, що в процесі колітасоціюваного канцерогенезу залучені ферменти серин-треонінового та тирозинового фосфорилування, активність яких зростає і досягає максимальних значень в цитозолі колоноцитів на 2-й (ПКС) та 4-й тижні (ТПК), а в мембранній фракції – на 10-й тиждень дії канцерогену.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** протеїнкіназа С (ПКС), тирозинова протеїнкіназа (ТПК), виразковий коліт, колоректальний рак, епітеліоцити слизової оболонки товстої кишки.

ВСТУП. Одним з найбільш поширених захворювань органів травлення серед населення України є неспецифічний виразковий коліт (ВК), який часто призводить до розвитку раку товстої кишки [1]. ВК – це запальне хронічне рецидивне захворювання товстої кишки невідомої етіології, яке характеризується дистрофічними та атрофічними деструктивними змінами слизової оболонки і супроводжується порушеннями її секреторних і моторних функцій [6]. Регуляція останніх є результатом дії комплексу фізіологічних процесів, до яких залучені численні гормони, нейромедіатори та цитокіни. На рівні клітинного метаболізму велике значення в регуляції секреторно-сорбційних функцій товстої кишки мають ферменти білкового фосфорилування [10]. Тирозинові протеїнкінази (ТПК) (КФ 2.7.1.112) та родина  $Ca^{2+}$ -фосфоліпідзалежних протеїнкіназ (ПКС) (КФ 2.7.1.37) відіграють ключову роль у регуляції клітинної диференціації, проліферації, процесів метаболізму та апоптозу у відповідь на зовнішні та внутрішні стимули [2, 13]. Дані ферменти каталізують фосфотрансферазну реакцію, переносячи фосфатні залишки від АТФ на тирозин та серин/треонін білків-мішеней, що зумовлює зміни їх функціональної активності. Зокрема показано, що активація ПКС супроводжується інгібуванням  $Na^+/H^+$ -обмінника, посиленням

люмінальної секреції  $Cl^-$  та  $K^+$  [10]. Крім цього, ПКС асоціювана із запаленнями різної етіології та локалізації. Виявлено здатність ПКС регулювати такі прозапальні реакції, як біосинтез оксиду азоту, супероксидних продуктів та активація фосфоліпази  $A_2$ . За даними літератури, при дослідженні інтестинальних біопсій людей, хворих на виразковий коліт, спостерігається підвищення активності ПКС. Аналогічні експерименти на щурах із застосуванням TNBS (2,4,6-trinitrobenzensulfonic acid) – індукованого запалення товстої кишки підтвердили ці результати. Використання селективного інгібітора ПКС за таких умов супроводжувалось зменшенням проявів ушкоджень та пригніченням запалення [7].

Було встановлено, що виразковий коліт супроводжується зростанням рівня цитокінів (інтерферон- $\gamma$ , інтерлейкіни 4, 6, 12 і 17), які через відповідні рецептори активують не лише ПКС, а і тирозинові кінази Янус, що призводить до фосфорилування STAT-транскрипційних факторів [13]. Відомо також, що епідермальний фактор росту (ЕФР), який діє через рецептор з ТПК-азною активністю, сприяє слизоутворенню, захищає слизову оболонку кишечника від ушкоджень, стимулює міграцію та проліферацію клітин. Передбачають, що спричинене ЕФР підвищення внутрішньоклітинної активності ТПК активує Ras/Raf/MAP-кіназний сигнальний каскад, що викликає фосфори-

© О.О. Кравченко, О.В. Дробінська, Л.І. Остапченко, 2008.

лювання регуляторних білків, транскрипційних факторів і, як наслідок, інтенсифікацію росту, поділу клітин та загоєння виразкових уражень при коліті.

Ключовою ланкою в системі внутрішньоклітинної сигнальної трансдукції є функціонування протеїнкіназ, активність яких може змінюватись під впливом різних онкогенних факторів. Збільшення активності ПКС та над-експресія її ізоформ продемонстровані в пухлинах молочної залози, карциномах щитоподібної залози, шлунка і простати людини. Разом із тим, у тканинах карцином товстої кишки людей рівень активності ПКС виявився зниженим порівняно з контролем. Обробка культури тканин раку товстої кишки людини активаторами ПКС викликала інгібування поділу та стимулювала диференціацію клітин [6]. Зростання активності ТПК було виявлено у людей за умов диспластичних та малігнізаційних процесів у товстій кишці, тому активність даного ферменту може вказувати на гіперпроліферативний стан клітин слизової оболонки та ініціацію канцерогенезу [13].

Слід зазначити, що сьогодні практично відсутні комплексні дослідження участі тирозинового та серин-треонінового фосфорювання у формуванні запальних процесів з подальшим переродженням клітин слизової оболонки товстої кишки. Тому метою даної роботи було визначення активності тирозинових протеїнкіназ та протеїнкінази С у фракціях плазматичних мембран і цитозолі епітеліоцитів слизової оболонки товстої кишки щурів за умов розвитку експериментальної моделі колітасоціюваного канцерогенезу.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** У роботі дотримувалися міжнародних рекомендацій про проведення медично-біологічних досліджень з використанням тварин відповідно до Європейської конвенції.

Експерименти проводили на нелінійних білих щурах-самцях з початковою масою 160-180 г. Тварин утримували на стандартному раціоні віварію. Модель колітасоціюваного канцерогенезу відтворювали шляхом введення декстрансульфат натрієвої солі (ДСН) і 1,2-диметилгідразину за методичними рекомендаціями [8].

В експериментальній групі щурів протягом тижня питну воду замінювали на 1 % розчин декстрансульфат натрієвої солі (м.в. 30 000-50 000), після чого впродовж 2,5 місяців підшкірно щотижнево вводили специфічний канцероген 1,2-диметилгідразин у дозі 20 мг/кг. Тварин умертвляли шляхом дислокації шийних

хребців на 1, 3 і 7 доби розвитку виразкового коліту та на 2, 4, 6, 8 і 10-й тижні дії канцерогену. Розвиток патологій діагностували гістологічно, за специфічними симптомами та ураженнями слизової оболонки товстої кишки.

Епітеліальні клітини слизової оболонки товстої кишки виділяли за рекомендаціями [12].

Колоноцити гомогенізували у середовищі 0,14 М NaCl. Отриманий гомогенат використовували для одержання фракцій плазматичних мембран та цитозолу методом диференційного центрифугування на градієнті 30 % сахарози ( $\rho=1,127$ ) [3].

Активність ПКС і тирозинових протеїнкіназ визначали в препаратах плазматичних мембран і цитозолі колоноцитів за включенням  $^{32}\text{P}$  з  $\gamma$ - $^{32}\text{P}$ /АТФ до специфічних субстратів фосфотрансферазної реакції [2, 5]. Радіоактивність вимірювали в толуольному сцинтиляторі ЖС-107 на рідинно-сцинтиляційному лічильнику Delta (США). Питому активність ферментів виражали у пмоль  $^{32}\text{P}_\text{H}$  за 1 хв на 1 мг білка. Концентрацію білка визначали за методом Бредфорд [4].

Статистичну обробку результатів та побудову графіків проводили методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Характеризуючись високим регенераторним потенціалом, клітини слизової оболонки товстої кишки (СОТК) забезпечують фізіологічну здатність до її швидкого відновлення. Ця властивість СОТК реалізується завдяки балансу між проліферацією, диференціацією, апоптозом та десквамацією епітеліоцитів. Внутрішньоклітинні механізми, що регулюють функціонування та клітинний цикл колоноцитів, недостатньо вивчено, проте є переконливі докази, які свідчать про вирішальну роль  $\text{Ca}^{2+}$ -залежних сигнальних каскадів у вищезазначених процесах [10]. Дослідження морфофункціональних змін клітин слизової оболонки кишечника у процесі запалення та при канцерогенезі є важливим напрямком для ранньої діагностики злоякісної трансформації клітин.

Проведені нами дослідження показали, що на 3-тю добу експерименту при ініціації виразкового коліту 1 % розчином декстрансульфат натрієвої солі розвиваються типові гострі ерозивно-запальні ушкодження слизової оболонки, геморагії та набряки, які супроводжуються характерними симптомами коліту (діарея) і зберігаються на 7-му добу експерименту. Згідно з результатами гістологічних досліджень, в ці строки спостерігалися атрофічні

зміни клітин слизової оболонки, інтенсифікація злущуванням епітеліального шару, помірна нейтрофільна інфільтрація в слизовій оболонці товстої кишки. Протягом розвитку запалення нами встановлено збільшення вмісту в колоноцитах слизу порівняно з контролем, що є підтвердженням порушення секреції і всмоктування води та електролітів. На фоні розвитку коліту при щотижневому введенні специфічного канцерогену 1,2-диметилгідрозину ми спостерігали локальні потовщення м'язового шару кишечника за рахунок лейкоцитарної інфільтрації, поступову дискompенсацію (хаотичне розташування) та звуження просвіту залоз внаслідок атипії (6-й тиждень), на 8-й тиждень – дисплазію, метаплазію і трансформацію клітин, а на 10 тиждень у 20 % щурів виявлено аномальні новоутворення в проксимальному відділі товстої кишки, які мали вигляд щільних наростів правильної округлої форми діаметром від 1 до 5 мм і характеризувались як помірно диференційована аденокарцинома з проростанням у м'язовий шар.

З метою вивчення біохімічних механізмів розвитку колітасоційованого канцерогенезу й участі в цих процесах  $\text{Ca}^{2+}$ -, фосфоліпідзалежних протеїніназ було досліджено активність даного ферменту в цитозолі та фракції плазматичних мембран клітин слизової оболонки товстої кишки (рис. 1). Встановлено, що на 1-шу добу дії ДСН активність ПКС зменшувалась у фракції плазматичних мембран клітин, а у цитоплазмі підвищувалась в 1,7 раза. Зниження активності ПКС у фракції плазматичних мембран може бути зумовлене порушенням структурно-функціонального стану мембран епітеліоцитів, яке має місце при запаленні, що показано раніше [9, 11]. На 3-тю добу розвитку коліту відмічено нормалізацію активності досліджуваного ферменту в цитозолі, що може бути пов'язано з інтенсифікацією компенсаторних механізмів. Однак у фракції цитоплазматичних мембран даний показник залишався низьким в ці та наступні строки спостереження. Ативність ПКС в цитозолі колоноцитів зростала в 3,5 раза на 7-му добу експериментальних досліджень. Результати узгоджуються з даними інших авторів, які показали підвищення активності ПКС за умов розвитку експериментального коліту, індукованого оцтовою кислотою та TNBS [5].

При щотижневому введенні канцерогену на 2-й тиждень нами встановлено зростання активності ПКС більше ніж в 4 рази в цитозольній фракції колоноцитів. У наступні терміни спостереження відмічено поступове зниження до-

сліджуваного параметру. Так, на 4-й тиждень дії 1,2-диметилгідрозину активність в цитозольній фракції ПКС становила 341 % порівняно з контролем, на 6-й – 177 %, а на 8-й і 10-й – 127 і 125 % відповідно. При цьому на 10-й тиждень експерименту зафіксовано зростання на 88 % активності ПКС у фракції плазматичних мембран.

Отримані результати дають підстави припустити, що запальні процеси, які супроводжують виразковий коліт, є пусковим чинником для активації ПКС, що в подальшому може призвести до інтенсифікації неконтрольованої проліферації, інгібування диференціації та апоптозу. Під час запалення і на ранніх стадіях канцерогенезу спостерігались суттєве зменшення (на 55 %) активності ферменту у фракції плазматичних мембран і зростання в цитозольній фракції на 250 %. Поруч із цим, на кінцевих стадіях експерименту (8-10 тижні), коли діагностували аденокарциному, відмічено зниження активності ПКС в цитозольній фракції клітин практично до контрольних значень і підвищення її в мембранній фракції колоноцитів майже на 100 %.

Проблема розуміння тонких регуляторних механізмів запалення та канцерогенезу й участі ПКС у даних процесах ускладнюється розгалуженими взаємними впливами між різними сигнальними каскадами в цілому та протеїніназами зокрема. З огляду на це, нами також було досліджено активність тирозинових протеїніназ в цитозолі та фракції плазматичних мембран епітеліальних клітин слизової оболонки товстої кишки щурів за умов розвитку колітасоційованого канцерогенезу. Встановлено, що під час формування запалення в товстій кишці, починаючи з 1-ї доби впливу ДСН, відбувалось статистично достовірне зниження (в 3 рази) відносно контролю активності тирозинових протеїніназ в цитозольній фракції колоноцитів (рис. 2). Такі зміни активності досліджуваного ферменту зберігались і в подальші терміни досліджень (3-тя та 7-ма доби). Зниження активності цитозольних ТПК при дії ДСН узгоджується з даними літератури, згідно з якими за умов ішемії та наступної реперфузії, що спостерігаються при запаленні, значно зменшується рівень тирозинового фосфорилування [15]. Така тенденція зміни активності ТПК в цитозолі клітин слизової оболонки кишечника була зафіксована Y. Sakanoue із співавт. при дослідженні зразків біопсій у пацієнтів, хворих на виразковий коліт [14].

При дослідженні активності тирозинових протеїніназ у фракції плазматичних мембран клітин слизової оболонки кишечника встанов-

лено, що запалення супроводжується зростанням цього показника. Так, на 3-тю добу розвитку коліту активність даного ферменту в мембранах перевищувала контрольні значення більш ніж у 2 рази і залишалась високою до 7-ї доби експерименту. Зростання активності мембраноасоційованих ферментів, очевидно, пов'язане з тим, що протягом кількох діб дії пошкоджувального фактора в слизовій оболонці розпочинаються процеси репаративної регенерації епітеліальної поверхні й підвищуються проліферація та подальша диференціація клітин. Ці процеси ініціюються локальною експресією генів (EGF-R, c-fos, c-jun, egr-1, Sp-1, TFF-2/SP), які активуються після виникнення запалення. Їх стимуляція призводить до запуску шляхів сигнальної трансдукції з участю різних ростових факторів: EGF, bFGF, PDGF і VEGF. На ранніх етапах розвитку коліту відбувається активація рецептора епідермального фактора росту (ЕФР-Р), що призводить до підвищення ТПК-азної активності у його внутрішньоклітинному домені та фосфорилування мембранозв'язаних клітинних білків [13].

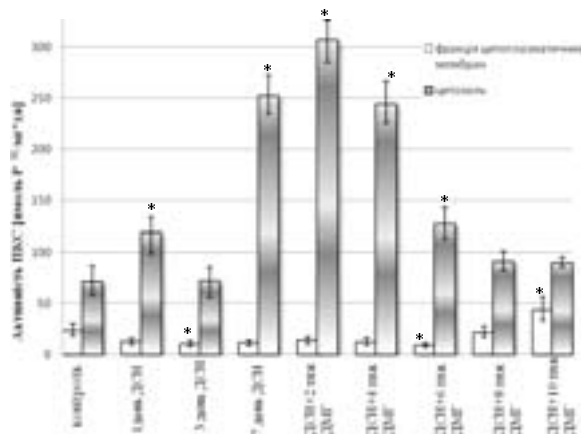


Рис. 1. Протеїнкіназна активність (ПКК) в колоноцитах щурів за розвитку виразкового коліту та дії канцерогену (\* –  $p < 0,05$ ).

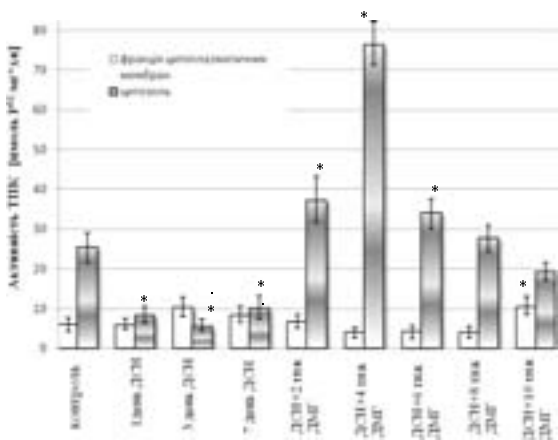


Рис. 2. Активність ТПК в колоноцитах щурів за розвитку виразкового коліту та дії канцерогену (\* –  $p < 0,05$ ).

Слід додати, що в ці строки спостереження активність мембранозв'язаної ПКС була зниженою, що відповідає теорії про "трансмодуляцію рецепторів" [2]. Автори останньої вважають, що фосфорилування цитоплазматичної ділянки ЕФР-Р та рецепторів до інших факторів росту за залишками серину і треоніну супроводжується інгібуванням їх тирозинкіназної активності та зменшенням спорідненості з ЕФР. Оскільки в дані строки розвитку запалення активність ПКС знижена, "трансмодуляція рецепторів" не відбувається, відтак зростають їх спорідненість з лігандами та тирозинкіназна активність.

У літературі є дані про те, що у пацієнтів, хворих на неспецифічний виразковий коліт, у фракції цитоплазматичних мембран клітин слизової оболонки товстої кишки підвищується активність ТПК [14].

При дії специфічного канцерогену нами встановлено зниження активності мембранозв'язаних ТПК в колоноцитах порівняно з експериментальною групою щурів, у яких діагностували запалення товстої кишки. Так, на 2-й тиждень впливу 1,2-диметилгідрозину даний показник досягав контрольних величин, а в наступні строки спостереження (4, 6, 8-й тижні) зменшувався на 30-33 % порівняно з контрольною групою тварин. На фоні інгібування мембранозв'язаних ТПК на початкових стадіях колоректального канцерогенезу нами встановлено статистично достовірне зростання активності цитозольних ТПК. На 2, 4 та 6 тижні цей показник перевищував контрольні значення на 50, 200 і 35 % відповідно.

Тирозинові кінази, локалізовані в цитоплазмі, сьогодні поділено на вісім родин, найважливішими з яких є Src, JAK та FAK. Експерименти, проведені на культурах клітин раку товстої кишки людини SW480 та HT29, показали, що застосування інгібітора тирозинової кінази JAK3 AG490 та виключення (домінантно-негативною конструкцією) транскрипційного фактора STAT3 значно зменшували життєздатність таких клітин [13]. Передбачають, що це відбувається через інтенсифікацію апоптозу, оскільки мають місце зменшення Bcl-2, Bcl-X(L), Mcl-1 і цикліну D2 та збільшення вмісту білків p21 і p27. У тканинах пухлин людей також виявлено експресію активних форм STAT3, JAK3, Src та FAK. Є дані, що не останню роль в механізмах гастроентерального канцерогенезу відіграє здатність ТПК активувати ліпідну фосфоінозитид 3-ОН кіназу та залежну від неї Akt (протеїнкіназу В – ПКВ).

На 10-й тиждень розвитку експериментального колітасоційованого канцерогенезу

нами встановлено зростання активності ТПК у фракції плазматичних мембран на 70 % та зменшення даного показника в цитоплазмі епітеліоцитів слизової оболонки на 25 % відносно контролю. Ці дані узгоджуються з результатами, отриманими іншими дослідниками, які вказують на зменшення тирозинкіназної активності в цитозолі та її зростання в мембранній фракції клітин колоректальних пухлин у людей, виявлено кореляцію між зменшенням активності тирозинових кіназ в цитозольній фракції колоноцитів та стадією канцерогенезу [15].

**ВИСНОВКИ.** Формування та розвиток колітасоційованого канцерогенезу товстої кишки супроводжуються суттєвими порушеннями функціонування ферментів тирозинового та серин-треонінового фосфорилування в клітинах слизової оболонки. Нами встановлено, що запалення в товстій кишці характеризується вираженим зростанням активності ПКС в цитозольній фракції колоноцитів на фоні зниження

активності даного ферменту у фракції плазматичних мембран. Активність ТПК, навпаки, зростає в мембранній фракції і знижується – в цитозольній фракції клітин під час запалення. Дія канцерогену обумовлює зростання активності як ТПК, так і ПКС в цитозольній фракції епітеліоцитів слизової оболонки кишечника.

З огляду на отримані нами результати, можна зробити висновок, що розвиток виразкового коліту та злаякісна трансформація клітин слизової оболонки товстої кишки супроводжуються значними порушеннями функціонування систем фосфорилування, що проявляються зміною активності  $\text{Ca}^{2+}$ -, фосфоліпідзалежних та тирозинових протеїнкіназ і перерозподілом активності між мембранозв'язаною і цитозольною фракціями. Оскільки регуляторні впливи даних ферментів забезпечують нормальний ріст, диференціацію та функціонування епітеліоцитів товстої кишки, то будь-які зміни в їх роботі обов'язково спряжені з розвитком патологічних процесів у даному органі.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Дорофеев А.Э. Поражения внутренних органов у больных язвенным колитом // Лікарська справа. – 2001. – № 4. – С. 191-192.
2. Остапченко Л.И., Протас А.Ф., Васильев А.Н., Кучеренко Н.Е. Выделение и некоторые свойства  $\text{Ca}^{2+}$ , фосфолипидзависимой протеинкиназы серого вещества головного мозга крыс на раннем этапе воздействия ионизирующей радиацией // Радиобиология. – 1986. – **26**, № 6. – С. 761-765.
3. Рибальченко В.К., Коганов М.М. Структура и функции мембран: Практикум. – К.: Вища школа, 1988. – С. 38-42.
4. Шоно Н.И., Баскаева Е.М. Метод определения белка по Бредфорд: область применения, преимущества, недостатки // Лаб. дело. – 1980. – № 4. – С. 4-7.
5. Brian E. et al. Protein tyrosine kinase activity assays, Current Protocols in Pharmacology. – 2001. – **32**. – P. 2344-2352.
6. Daniel K. Podolsky Inflammatory bowel disease // New Eng. J. Med. – 2002. – **347**, № 6. – P. 417-429.
7. James F. Brown, Qing Chang, Brian D. Soper and Barry L. Tepperman Protein kinase C mediates experimental colitis in the rat // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 1999. – **276**. – P. 583-590.
8. Jian-Guo Wang, Dong-Fei Wang, Bing-Jian Lv, Jian-Min Si. A novel mouse model for colitis-associated colon carcinogenesis induced by 1,2-dimethylhydrazine and dextran sulfate sodium // World J. Gastroenterol. – 2004. – **10**, № 20. – P. 2958-2962.
9. Kruidenier L., Kuiper I., Lamers C.B., Verspaget H.W. Intestinal oxidative damage in inflammatory bowel disease: semi-quantification, localization and association with mucosal antioxidants // J. Pathol. – 2003. – **201**, № 1. – P. 28-36.
10. Kunzelmann K., Mall M. Electrolyte transport in the mammalian colon: mechanisms and implications for disease // Physiological Reviews. – 2002. – **82**, № 1. – P. 245-289.
11. Morita H., Nakanishi K., Dohi T. Phospholipid turnover in the inflamed intestinal mucosa: arachidonic acid-rich phosphatidyl/plasmeyl-ethanolamine in the mucosa in inflammatory bowel disease // J. Gastroenterol. – 1999. – **34**, № 1. – P. 46-53.
12. Roediger W.E.W., Truelove S.C. Methods of preparing isolated colonic epithelial cells (colonocytes) for metabolic studies // Gut. – 1979. – **20**. – P. 484-488.
13. Rustgi A.K. C-src tyrosine kinase activity: a marker of dysplasia in ulcerative colitis // Gastroenterology. – 1994. – **10**, № 5. – P. 1565-1568.
14. Sakanoue Y., Hatada H., Horai T. et al. Increased protein tyrosine kinase activity of the colonic mucosa in ulcerative colitis // Scand. J. Gastroenterology. – 1992. – **27**, № 8. – P. 686-690.
15. Sakiyama S., Perrot M., Han B. et al. Ischemia-reperfusion decreases protein tyrosine phosphorylation and p38 mitogen-activated protein kinase phosphorylation in rat lung transplants // J. Heart Lung Transplant. – 2003. – **22**, № 3. – P. 338-346.

# АКТИВНОСТЬ ПРОТЕИНКИНАЗ В ЭПИТЕЛИОЦИТАХ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ТОЛСТОЙ КИШКИ КРЫС ПРИ РАЗВИТИИ КОЛИТАССОЦИИРОВАННОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗА

О.А. Кравченко, О.В. Дробинская, Л.И. Остапченко  
КИЕВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ТАРАСА ШЕВЧЕНКО

## Резюме

Исследована активность кальций-, фосфолипидзависимых и тирозиновых протеинкиназ в фракциях плазматических мембран и цитозоле клеток слизистой оболочки толстой кишки крыс при развитии экспериментальной модели колитассоциированного канцерогенеза. Установлено, что ферменты серин-треонинового и тирозинового фосфорилирования опосредуют процессы колитассоциированного канцерогенеза. Активность данных энзимов возрастает и достигает максимума в цитоплазме колоноцитов на 2 (ПКС) и 4 недели (ТПК), а в мембранной фракции – на 10 неделю влияния канцерогена.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: протеинкиназа С (ПКС), тирозиновая протеинкиназа (ТПК), язвенный колит, колоректальный рак, эпителиоциты слизистой оболочки толстой кишки.

## PROTEIN KINASE ACTIVITY IN COLON RAT MUCOSAL CELL UNDER COLITISASSOCIATED CARCINOGENESIS DEVELOPMENT

O.O. Kravchenko, L.V. Drobinska, L.I. Ostapchenko  
KYIV NATIONAL UNIVERSITY BY TARAS SHEVCHENKO

## Summary

*Ca<sup>2+</sup>, phospholipid-dependent and tyrosine protein kinase activities were investigated in membrane and cytoplasmic fraction of colon rat mucosal cells under experimental model of colitis-associated carcinogenesis development. It was established that enzymes of serine-threonine and tyrosine phosphorylation mediated above-mentioned pathology model progress. These enzyme activities increased and were at their highest point in cytoplasm of colonocytes on the 2-nd week (PKC) and on the 4-th week (TPK), in membrane fraction – on the 10-th week under carcinogen influence.*

KEY WORDS: protein kinase C (PKC), tyrosine proteinkinase (TPK), ulcer colitis, colorectal cancer, colon mucosa epithelial cells.

Отримано 16.07.2008 р.

Адреса для листування: О.О. Кравченко, вул. Наб.-Корчуватська, 96, кв. 59, Київ, 03045, Україна.

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

## ХРОНОРИТМИ ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОГО СТАНУ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ ТА ДІЇ НАСТОЯНКИ ЕХІНАЦЕЇ ПУРПУРОВОЇ

Е.Л. Ленга, І.В. Геруш, І.Ф. Мещишен

БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

*У роботі вивчено хроноритми про- та антиоксидантних показників печінки щурів за умов токсичного тетрахлорметанового гепатиту і дії настоянки ехінацеї пурпурової. Встановлено, що токсичний гепатит, крім посилення процесів пероксидації ліпідів і окиснювальної модифікації білків, змін активності каталази і глутатіонпероксидази, також викликає їх десинхроноз впродовж світлового періоду доби. Пероральне введення настоянки ехінацеї пурпурової впродовж 5 днів у дозі 0,25 мл/кг маси тіла сприяє зменшенню процесів пероксидації в тканині печінки щурів (зниження рівня малонового діальдегіду, окисномодифікованих білків на фоні нормалізації активності каталази та глутатіонпероксидази), а також відновлює нормальний ритм вивчених показників.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** хроноритм, прооксиданти, антиоксидантні ферменти, настоянка ехінацеї пурпурової, токсичний гепатит, печінка.

ВСТУП. Ехінацея пурпура – лікарська рослина, яка завдяки своїй біологічній дії та лікувальним властивостям широко використовується в медицині. Спектр дії препаратів на її основі різноманітний. Застосовують їх як імунomodуючі, ранозагоювальні, протизапальні, біостимулювальні засоби. Ефективним є використання даних лікарських засобів як антиоксидантів, оскільки, крім зниження рівня процесів пероксидації, вони стимулюють підвищення активності антиоксидантних захисних систем (зокрема глутатіонової) [2, 9]. Але залишається відкритим питання, як дані препарати впливають на хроноритми цих систем. Адже відомо, що кожен орган чи система організму функціонує відповідно до певних ендогенних ритмів, що часто пов'язані зі змінами ритмів навколишнього середовища [11]. Крім того, будь-яка патологія буде викликати певний десинхроноз функціонування живого організму [1].

Оскільки токсичний тетрахлорметановий ( $\text{CCl}_4$ ) гепатит вважають моделлю молекулярної патології мембранних структур [4], то метою даної роботи було вивчити хроноритми деяких показників про- та антиоксидантної систем печінки щурів за умов норми, при токсичному гепатиті та дії настоянки ехінацеї пурпурової.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** В експерименті використано 48 білих нелінійних щурів-самців

© Е.Л. Ленга, І.В. Геруш, І.Ф. Мещишен, 2008.

масою ( $180 \pm 10$ ) г. Контрольних та дослідних тварин за 5 днів до початку та впродовж всього експерименту утримували в умовах штучно змодельованого рівнодення (освітлення лампами денного світла тривалістю 12 год (з 8.00 до 20.00) та інтенсивністю 1500 люкс). Токсичний гепатит викликали шляхом повторного внутрішньошлункового введення 50 % олійного розчину тетрахлорметану в дозі 0,25 мл/100 г маси тварини [8]. Настоянку ехінацеї пурпурової вводили щоденно інтрагастрально в дозі 0,25 мл/кг впродовж 5 днів після останнього введення  $\text{CCl}_4$ . Дослідних щурів поділили на 2 групи: 1-ша – тварини з гепатитом і не ліковані; 2-га – тварини з гепатитом, які отримували настоянку ехінацеї пурпурової. Усі тварини перебували в умовах сталого температурного режиму з вільним доступом до їжі та води. За 24 год до забою щурів від їжі відлучали.

Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації під легкою ефірною анестезією у світлий проміжок доби о 8.00, 12.00, 16.00 та 20.00. У 5 % гомогенатах печінки (трис-НCl буфер, рН=7,4) визначали вміст малонового діальдегіду (МДА) [6], загального білка [10], продуктів окиснювальної модифікації білків (ОМБ) [7], активність ферментів каталази [5], глутатіонпероксидази [3]. При утримуванні й використанні щурів дотримувались "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2000).



Отримані дані оброблено методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Результати досліджень показали (табл. 1), що за умов токсичного гепатиту підвищується рівень прооксидантних показників печінки щурів. Так, рівень малонового діальдегіду зростав на 37-55 % (залежно від години дослідження), збільшувався і вміст окисномодифікованих білків (у середньому на 45 %) порівняно з тваринами контрольної групи. За таких умов знижувалась активність каталази впродовж доби (від 13 % о 8.00 до 63 % о 20.00). Натомість активність ще одного антиоксидантного ферменту – глутатіонпероксидази була достовірно вищою в інтоксикованих тварин порівняно з показниками щурів групи контролю (на 30 % в першій половині доби). Введення хворим тваринам настоянки ехінацеї пурпурової сприяло нормалізації досліджуваних показників. Після лікування спостерігалось зменшення вмісту МДА майже вдвічі та вмісту ОМБ – втричі порівняно з показниками щурів з токсичним гепатитом в усі строки дослідження. Впродовж усього терміну дослідження зростала активність каталази (від 8 % о 8.00 до 59 % о 20.00) а також знижувалась активність глутатіонпероксидази протягом доби (в середньому на 25 %), порівняно з показниками хворих тварин. Отже, введення щурам гепатотоксичної отрути призвело до порушення про- й антиоксидантного гомеостазу печінки тварин, який нормалізувався після п'ятиденного введення настоянки ехінацеї пурпурової.

Крім цього, при даній патології порушувались хроноритми вмісту МДА й ОМБ та активності ферментів антиоксидантного захисту. За умов фізіологічної норми рівень малонового діальдегіду з 8.00 до 16.00 знижувався на 37 %, а далі о 20.00 підвищувався на 19 %. У печінці тварин з гепатитом спочатку спостерігалось зменшення вмісту даного показника о 12.00, але о 16.00 його рівень зростав на 18 %. Вміст окисномодифікованих білків у печінці щурів контрольної групи з 8.00 до 12.00 збільшувався на 31 %, о 16.00 знижувався на 54 % і знову зростав на 44 % о 20.00 експерименту. За умов токсичного гепатиту рівень даного показника спочатку підвищувався на 35 % з 8.00 до 16.00, а потім відмічено його зниження на 30 % о 20.00. У ритмі активності каталази спостерігався лише один пік зростання на 23 % о 16.00, а у хворих тварин активність в усі години дослідження зменшувалась (за добу на 50 %). Подібним був характер змін активності глутатіонпероксидази: в нормі відмічено підвищення даного показника на 14 % о 20.00, а при токсичному гепатиті з 8.00 до 20.00 активність ферменту поступово знизилась на 28 % за період спостереження.

Введення тваринам настоянки ехінацеї пурпурової викликало зниження вмісту малонового діальдегіду в печінці тварин в першій половині доби і підвищення (на 10 %) о 20.00. Щодо вмісту окисномодифікованих білків, то застосування настоянки хоч і зменшувало їх вміст в печінці щурів, але зберігався такий же ритм, як у тварин з токсичним гепатитом. При введенні препарату з 8.00 до 20.00 активність каталази не змінювалась. Активність глутатіон-

Таблиця 1 – Хроноритми про- та антиоксидантного стану печінки щурів за умов токсичного гепатиту та дії настоянки ехінацеї пурпурової ( $M \pm m$ ,  $n=4-8$ )

Година	Група	Малоновый діальдегід, мкмоль/г тканини	ОМБ, о.о.г./г тканини	Каталаза, мкмоль/хв·г тканини	Глутатіонпероксидаза, нмоль/хв·мг білка
8.00	Контроль	52,7±1,2	10,9±0,9	27,3±1,3	120,9±3,6
	Гепатит	83,8±2,3*	19,8±0,6*	23,8±1,5	171,4±3,5*
	Гепатит+ехінацея	59,5±0,9#	15,8±0,3#	25,7±1,2	132,8±4,1#
12.00	Контроль	37,8±1,4*	15,8±0,2*	26,2±0,9	125,3±2,9
	Гепатит	60,5±1,2**	23,1±0,3**	18,9±1,4**	186,6±2,8**
	Гепатит+ехінацея	49,2±1,6#*	14,3±0,5#	24,5±1,3#	136,4±3,4#
16.00	Контроль	33,5±1,3*	7,2±0,2*	33,8±1,3*	126,7±3,1
	Гепатит	73,9±1,3**	30,2±0,4**	14,4±0,5**	141,8±4,2**
	Гепатит+ехінацея	48,9±2,1#	18,7±0,5#*	25,5±1,3#	106,7±2,8#*
20.00	Контроль	41,1±1,7*	13,4±0,3*	32,1±1,4	146,4±3,6*
	Гепатит	71,7±1,3*	21,2±0,6**	12,0±0,6*	124,4±3,6**
	Гепатит+ехінацея	54,1±2,2#*	13,4±0,1#*	28,9±1,5#	139,3±2,9#*

Примітка. \* – зміни вірогідні стосовно контролю; # – зміни вірогідні стосовно хворих тварин; х – зміни вірогідні порівняно з попередніми годинами досліду.

пероксидази при введенні тваринам лікарського препарату, як і за умов гепатиту, знижувалась на 22 % о 16.00 та зростала на 24 % о 20.00.

Проведені нами дослідження показали, що препарати з лікарської рослини ехінацеї пурпурової завдяки своєму хімічному складу та біологічній дії зменшують процес пероксидації ліпідів та білків, а також сприяють підвищенню активності антиоксидантних систем печінки. За рахунок вмісту біологічно активних сполук, перш за все алкалоїдів, флавоноїдів та ненасичених жирних кислот, настоянка проявляє виражену мембраностабілізуючу дію. А завдяки наявності в її складі мікроелементів (Fe, Se, Zn), які є компонентами активних центрів

антиоксидантних ферментів, нормалізує активність останніх. Такий антиоксидантний вплив даного препарату може визначати і його ритмокоригувальний ефект, який буде залежати від зміни чутливості клітин організму впродовж доби до дії ліків.

**ВИСНОВКИ.** 1. Тетрахлорметановий гепатит викликає десинхроноз показників про- та антиоксидантного стану печінки щурів (малонового діальдегіду, окисномодифікованих білків, активності каталази та глутатіонпероксидази).

2. П'ятиденне введення тваринам настоянки ехінацеї пурпурової в дозі 0,25 мл/кг сприяє відновленню хроноритму вивчених показників.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Агаджанян Н.А., Губин Д.Г. Десинхроноз: механизмы развития от молекулярно-генетического до организменного уровня // Усп. физиол. наук. – 2004. – **35**, № 2. – С. 57-72.
2. Геруш І.В. Стан пероксидного окислення ліпідів і активність ферментів антиоксидантної системи печінки за умов гострого токсичного гепатиту та дії настоянки ехінацеї пурпурової // Клін. фармація. – 2001. – **5**, № 4. – С. 49-52.
3. Геруш І.В., Мещишен І.Ф. Стан глутатіонової системи крові за умов експериментального виразкового ураження гастродуоденальної зони та дії настоянки ехінацеї пурпурової // Вісн. проблем біол. і мед. – 2003. – № 7. – С. 10-15.
4. Губский Ю.И. Коррекция химического поражения печени. – К.: Здоров'я, 1989. – 168 с.
5. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майоров И.Г. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
6. Мещишен И.Ф. Механизм действия четвертичных аммониевых соединений на обмен веществ

в норме и патологии: Дис. ... д-ра биол. наук. – Черновцы, 1991. – 254 с.

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

8. Скакун Н.П., Писько Г.Т., Мосейчук И.П. Поражение печени четыреххлористым углеродом. – М.: НИИТЭХИМ, 1989. – 107 с.

9. Gerush I., Meshchysheh I., Gerush O. Glutathione system in the liver of animals with acute toxic hepatitis receiving Echinacea purpurea tincture // Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska. – 2006. – **19**, № 1, 44, Sectio DDD. – P. 211-214.

10. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Parr A.L., Randall R.J. Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – **193**, № 1. – P. 265-275.

11. Vijayalaxmi Thomas C.R., Reiter R.J., Herman T.S. Melatonin: From Basic Research to Cancer Treatment Clinics // J. Clin. Oncol. – 2002. – **20**, № 10. – P. 2575-2601.

## ХРОНОРИТМЫ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ТОКСИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА И ДЕЙСТВИЯ НАСТОЙКИ ЭХИНАЦЕИ ПУРПУРНОЙ

**Э.Л. Ленга, И.В. Геруш, И.Ф. Мещишен**  
БУКОВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

#### Резюме

*В работе изучены хроноритмы про- и антиоксидантных показателей печени крыс в условиях токсического тетрахлорметанового гепатита и действия настойки эхинацеи пурпурной. Установлено,*

что токсический гепатит, кроме усиления процессов пероксидации липидов и окислительной модификации белков, изменений активности каталазы и глутатионпероксидазы, также вызывает их десинхронизацию в течении светлого периода суток. Пероральное введение настойки в течение 5 дней в дозе 0,25 мл/кг массы тела способствует уменьшению процессов пероксидации в ткани печени крыс (снижение уровня малонового диальдегида, окислительно-модифицированных белков на фоне нормализации активности каталазы и глутатионпероксидазы), а также восстанавливает нормальный ритм изученных показателей.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** хроноритм, прооксиданты, антиоксидантные ферменты, настойка эхинацеи пурпурной, токсический гепатит, печень.

## **CHRONORHYTHMS OF PRO- AND ANTIOXIDANT STATE OF THE RAT LIVER UNDER CONDITIONS OF TOXIC HEPATITIS AND EFFECT OF ECHINACEA PURPUREA TINCTURE**

**E.L. Lenga, I.V. Gerush, I.F. Meshchysheh**  
BUCOVYNIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

### **Summary**

*The influence of tetrachlormethane and Echinacea Purpurea tincture on chronorhythms of pro- and antioxidant indices of rat liver has been investigated in the research. Toxic hepatitis besides intensification of peroxidation processes and oxidative modification of proteins, changes of catalase and glutathione peroxidase activity, causes their desynchronization during light period. Oral administration of the tincture during 5 days in dose 0,25 ml/kg of body weight causes decrease of peroxidation processes in tissue of rat liver (decrease of malonic aldehyde and oxidatively modified proteins content against the background of normalization of catalase and glutathione peroxidase activities), and repairs normal rhythm of investigated indices.*

**KEY WORDS:** chronorhythm, prooxidants, antioxidant enzymes, Echinacea Purpurea tincture, toxic hepatitis, liver.

Отримано 28.03.2008 р.

**Адреса для листування:** Е.Л. Ленга, Буковинський державний медичний університет, площа Театральна, 2, Чернівці, 58000, Україна.

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

## ВАЛІДАЦІЯ МЕРКУРИМЕТРИЧНОЇ МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ПРОКАЇНУ ГІДРОХЛОРИДУ В ЛІКАРСЬКІЙ ФОРМІ АПТЕЧНОГО ВИГОТОВЛЕННЯ

В.А. Георгіянц<sup>1</sup>, Є.І. Бисага<sup>2</sup>, О.А. Євтіфєєва<sup>1</sup>  
 НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ<sup>1</sup>, ХАРКІВ  
 УЖГОРОДСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ<sup>2</sup>

*Проведено валідацію аналітичної методики кількісного визначення аптечної лікарської форми на основі прокаїну гідрохлориду, яку виготовляють в аптеці про запас та найчастіше використовують в різних індивідуальних прописах. Валідацію проводили за схемою, наведеною в Державній Фармакопеї України (ДФУ). Були розглянуті такі параметри, як діапазон застосування, специфічність, лінійність, збіжність, правильність та відтворюваність у двох різних лабораторіях, що дозволило зробити висновок про придатність методики для виконання поставлених завдань в умовах аптек та лабораторій з контролю якості лікарських засобів.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** фармацевтичний аналіз, валідація аналітичних методик, екстемпоральна рецептура, прокаїну гідрохлорид.

ВСТУП. Метою нашої роботи була валідація аналітичної методики кількісного визначення пропису – розчин прокаїну гідрохлориду 1,0 %. Ця лікарська форма належить до напівфабрикатів, які виготовляють в аптеці про запас [1] та найчастіше використовують в різних індивідуальних прописах.

Враховуючи матеріально-технічне забезпечення аптек, одним з найбільш доступних і простих у виконанні в умовах аптек аналітичних методів є об'ємний аналіз лікарських форм. До того ж, викликає інтерес вивчення метрологічних характеристик методик кількісного визначення лікарських речовин в лікарських формах аптечного виготовлення для титриметричних методів.

Для проведення дослідження ми обрали для кількісного визначення прокаїну гідрохлориду метод меркуриметрії [7, 9]: до 5,0 мл 1,0 % розчину додають 1-2 краплі розчину дифенілкарбазону, по краплях розведеної азотної кислоти до рожево-жовтуватого забарвлення і титрують 0,1 М розчином ртуті нітрату до фіолетового забарвлення.

Як відомо, точність титриметричного аналізу суттєво залежить від коректно підібраних аліквот для аналізу і відповідного мірного посуду. Тобто зменшити загальну похибку аналізу можна оптимальним підбором аліквоти для аналізу і відповідної бюретки. У звичайній © В.А. Георгіянц, Є.І. Бисага, О.А. Євтіфєєва, 2008.

аналітичній практиці [3, 7] для попередження похибок при титруванні наважку речовин, які аналізують, беруть у кількості, щоб на титрування витрачалось не менш 80 % об'єму бюретки.

У нашому випадку для бюретки, ємність якої 10,0 мл, розрахунок об'єму аліквоти для аналізу проводили за формулою:

$$a = \frac{8 \cdot C_M \cdot MrS \cdot 100}{1000 \cdot H} = \frac{8 \cdot 0,1272,78 \cdot 100}{1000 \cdot 1,02} = 10,91 \text{ мл, де}$$

$C_M$  – молярність розчину ртуті (II) нітрату;  
 $Mr$  – молекулярна маса прокаїну гідрохлориду;

$S$  – стехіометричний коефіцієнт реакції;  
 $H$  – вміст прокаїну гідрохлориду в лікарській формі.

Аліквота для аналізу в 10,0 мл для лікарської форми загальним об'ємом 1 л прийнятна, але для лікарської форми меншим об'ємом (наприклад 100,0 мл) велика. Тому ми пропонуємо у тому випадку, коли за прописом загальний об'єм лікарської форми менший 1,0 л, брати для аналізу титрований розчин меншої молярності – 0,02 М, тоді аліквота для аналізу буде дорівнювати 2,0 мл.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** При проведенні дослідження використовували субстанцію прокаїну гідрохлориду фірми "Biesterfeld Siemsgluss International GmbH" (Hamburg, Німеччина, серія № 040220), яка відповідає ви-

могам ВР 98/USP 24/ДФУ. Для роботи застосовували мірний посуд класу А, реактиви, які відповідають вимогам ДФУ, аналітичні ваги АВ 204 S/A METTLER TOLEDO, рН-метр РВ-11 фірми "Sartorius AG" (Німеччина).

Випробуваний препарат (а також модельні розчини) був виготовлений за правилами аптечної технології в умовах аптеки та являє собою 1,0 % розчин прокаїну гідрохлориду, стабілізований 0,1 М розчином хлористоводневої кислоти – 0,9 мл на 100,0 мл лікарської форми (рН 3,8-4,5 контролюють потенціометрично ДФУ 2.2.3).

Методика визначення поправкового коефіцієнта до 0,1 М розчину ртуті нітрату: 0,15 мг натрію хлориду розчиняють у 50,0 мл води і титрують 0,1 М розчином ртуті нітрату (індикатор дифенілкарбазон) до появи фіолетового забарвлення. 1 мл 0,1 М розчину ртуті нітрату відповідає 11,69 мг NaCl. Визначення проводили п'ять разів.

Методика визначення кислоти хлористоводневої: 2,0 мл лікарської форми титрують 0,02 М розчином натрію гідроксиду (індикатор – метиловий червоний, інтервал рН від 4,2 до 6,2) ( $V_1$ ). рН розчину прокаїну гідрохлориду 1,0 % без стабілізатора дорівнює від 6,2 до 6,5.

Методика кількісного визначення прокаїну гідрохлориду: до 2,0 мл лікарської форми додають 2-3 краплі розчину дифенілкарбазону (рН від 2,0 до 5,0) та по краплях розведують азотну кислоту до отримання рожево-жовтого забарвлення, після чого титрують 0,02 М розчином ртуті нітрату до появи фіолетового забарвлення ( $V_2$ ). 1 мл 0,02 М розчину ртуті нітрату відповідає 2,7278 мг прокаїну гідрохлориду.

Випробуваний та модельні розчини готували в умовах аптеки за правилами аптечної технології, використовуючи однаково віддалений розкид концентрації прокаїну гідрохлориду (точна наважка, м, г) на всьому діапазоні застосування методики  $\pm 20$  % (відповідно, 0,80; 0,90; 1,00; 1,10; 1,20 г). Кількість стабілізатора в усіх модельних розчинах однакова та відповідає пропису. Кожну лікарську форму титрували тричі (три аліквоти).

Контрольний розчин – розчин, який містить всі реагенти, крім препарату.

Статистичну обробку експериментальних даних проводили відповідно до статті ДФУ "Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту"[4].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. ДФУ рекомундує, згідно зі статтею 4.2 "Реактиви, титру-

вані розчини для об'ємного аналізу" [3], 0,1 М розчини, для яких в розділі 4.2.2 наводяться методики встановлення титру. Розчини, більш розведені, одержують шляхом розведення попередніх. При розрахунках враховують поправковий коефіцієнт отриманих розчинів, такий самий, як і у вихідних розчинів. Тобто після розведення стандартизацію цих розчинів не проводять.

Перед початком досліджень проводили перевірку молярності титрованого 0,1 М розчину ртуті нітрату в умовах двох різних лабораторій, а також оцінку невизначеності концентрації стандартного розчину. Ця характеристика регламентується ДФУ і є важливою для отримання коректних результатів [3, 5]. Визначення проводили за методикою ДФУ. Титрування виконували п'ять разів, використовуючи наважку в діапазоні  $\pm 5$  % від рекомендованої в методиці, щоб запобігти мимовільній "підгонці" результатів. Отримані результати наведено в таблиці 1. Як видно, обидва титровані розчини (лаб. № 1 і лаб. № 2), які використовували, відповідають вимогам ДФУ [3] щодо концентрації, а також вимогам до відтворюваності (точності) зазначеної молярності, що дозволяло отримувати коректні й точні результати.

Далі було проведено теоретичний розрахунок критеріїв прийнятності метрологічних характеристик методики аналізу [5, 6], враховуючи обраний діапазон застосування методики та симетричні допуски вмісту прокаїну гідрохлориду в даній лікарській формі  $\pm 5$  % за АНД [8]: максимально допустимої повної невизначеності –  $\max \Delta_{As} = 1,60$  %, систематичної похибки –  $\max \delta = 0,51$  %, критичного значення залишкового стандартного відхилення –  $RSD_0 = 0,90$  % та критичного індексу кореляції –  $R_C = 0,9981$ , а також критичного значення практичної невизначеності вільного члена лінійної залежності –  $a = 2,05$ .

Титриметричний метод, як правило, є не специфічним для визначення окремої сполуки (крім титриметричних методів, із застосуванням іонселективного електрода). З метою використання титриметричного методу для кількісного визначення доводять, що вплив факторів на титрування діючої речовини не значний порівняно з максимально припустимою невизначеністю аналізу  $\max \Delta_{As} = 1,60$  % [2].

Контрольний дослід виконували з метою порівняння забарвлення досліджуваного розчину із забарвленням контрольного розчину та визначення впливу плацебо ( $V_0$ ) (три аліквоти). Середнє значення об'єму контрольного дослідження складає  $\bar{V}_0 = 0,02$  мл, що дорівнює

одному діленню мірної бюретки. На титрування аликвоти 2,00 мл лікарської форми за методикою пішло  $V_{Hg(NO_3)_2} = 7,35$  мл. Вклад плацебо в сумарний об'єм титранту складає  $\delta_{exc} = \frac{100 \cdot 0,02}{7,35} = 0,27\%$ . Критерієм незначимості впливу плацебо є виконання нерівності  $\delta_{exc} \leq \max \delta = 0,32 \times \max \Delta_{As} = 0,51\%$ . Тобто вклад плацебо не повинен перевищувати максимально припустиму систематичну по-

грішність  $\max \delta = 0,51\%$  [2]. У нашому випадку нерівність виконується  $0,27 \leq 0,51$ , що свідчить про незначущість цієї похибки порівняно з максимально припустимою невизначеністю аналізу  $\max \Delta_{As} = 1,60\%$ .

Дослідження лінійності аналітичної методики проводили на п'яти модельних лікарських формах, які були виготовлені за правилами аптечної технології з урахуванням рівномірного розкиду концентрації прокаїну гідрохлориду від

Таблиця 1 – Визначення поправкового коефіцієнта до титру 0,1 М розчину ртуті (II) нітрату

№ з/п	Лаб. № 1			Лаб. № 2			
	Наважка натрію хлориду, m (г)	Об'єм 0,1 М розчину ртуті (II) нітрату, $V_1$ (мл)	$K_1$	Наважка натрію хлориду, m (г)	Об'єм 0,1 М розчину ртуті (II) нітрату, $V_2$ (мл)	$K_2$	
1	0,1511	12,93	0,9998	0,1507	12,85	1,0034	
2	0,1500	12,85	0,9987	0,1502	12,82	1,0024	
3	0,1487	12,70	1,0002	0,1475	12,60	1,0016	
4	0,1496	12,80	0,9999	0,1500	12,80	1,0026	
5	0,1509	12,90	1,0001	0,1525	13,00	1,0037	
Середнє значення $\bar{K}_1$			0,9997	$\bar{K}_2$			1,0082
Стандартне відхилення $SD_{K_1}$			0,0006	$SD_{K_2}$			0,00055
Відносне стандартне відхилення $RSD_{K_1}, \%$			0,0603	$RSD_{K_2}, \%$			0,0550
Відносний довірчий інтервал середнього значення $\Delta st_1, \%$			0,13	$\Delta st_2, \%$			0,12
Відповідність вимогам ДФУ $\Delta_{st} \leq 0,2\%$			0,13 $\geq 0,2\%$				0,12 $\leq 0,2\%$

Таблиця 2 – Результати вивчення лінійності модельних розчинів та отримані параметри лінійної залежності

№ модельного розчину	Введено $x_i$ (%)	Лаб. № 1			Лаб. № 2		
		Об'єм титранту $V_1$ (мл)	Знайдено $y_i$ (%) $K_1=1,0082$	Значення $Y_i=bx_i+a$	Об'єм титранту $V_2$ (мл)	Знайдено $y_i$ (%) $K_2=0,9997$	Значення $Y_i=bx_i+a$
1	80,00	5,92	80,79	80,47	5,95	80,52	80,4655
2		5,90	80,52	80,47	5,93	80,25	80,4655
3		5,90	80,52	80,47	5,93	80,25	80,4655
4	90,00	6,62	90,42	90,54	6,68	90,47	90,4742
5		6,63	90,56	90,54	6,68	90,47	90,4742
6		6,63	90,56	90,54	6,67	90,34	90,4742
7	100,00	7,35	100,46	100,60	7,45	100,97	100,48
8		7,33	100,18	100,60	7,43	100,70	100,48
9		7,33	100,18	100,60	7,45	100,97	100,48
10	110,00	8,12	111,05	110,67	8,13	110,25	110,49
11		8,10	110,77	110,67	8,13	110,25	110,49
12		8,10	110,77	110,67	8,15	110,52	110,49
13	120,00	8,82	120,67	120,74	8,87	120,34	120,50
14		8,83	120,81	120,74	8,88	120,47	120,50
15		8,83	120,81	120,74	8,88	120,47	120,50
кутовий коефіцієнт лінійної залежності b		1,0066				1,0009	
$S_b$		0,01				0,01	
вільний член лінійної залежності a		0,06				-0,40	
$S_a$		0,42				0,46	
критичне значення для вільного члена лінійної залежності		2,05				2,05	
залишкове стандартне відхилення $S_{rest}$		0,23				0,25	
критичне значення залишкового стандартного відхилення $RSD_0$		0,90				0,90	
коефіцієнт кореляції методики r		0,9998				0,9998	
критерій лінійного коефіцієнта кореляції R		0,9981				0,9981	

номінального вмісту за прописом на всьому діапазоні застосування методики (80, 90, 100, 110, 120 %) в умовах двох лабораторій (лаб. № 1 і лаб. № 2) за схемою, яка детально описана в роботі [6]. Кожну лікарську форму титрували тричі. Отримані результати обробляли методом найменших квадратів [4] для прямої  $Y_i = b \cdot x_i + a$ , одержуючи величини  $b$ ,  $a$ , коефіцієнт кореляції  $r$  і остаточне стандартне відхилення  $S_{rest}$ . Одержані результати наведено у таблиці 2. Побудову калібрувального графіка (рис.1) проводили у нормалізованих координатах [2, 5, 6].

Отримані результати свідчать про те, що у нашому випадку виконуються вимоги до параметрів лінійної залежності, тобто лінійність методики підтверджується на всьому діапазоні концентрацій (80-120 %).

Дослідження правильності та збіжності аналітичної методики проводили за результатами аналізу тих самих модельних розчинів. Концентрацію прокаїну гідрохлориду в лікарській формі Z% встановлювали як середнє з результатів аналізу п'ятнадцяти визначень ( $n=15$ ). Відносний довірчий інтервал вмісту прокаїну гідрохлориду встановлювали за співвідношенням:  $\Delta_{As}\% = t(95\%, 14) \cdot S_z$ . Отримані результати наведено в таблиці 3.

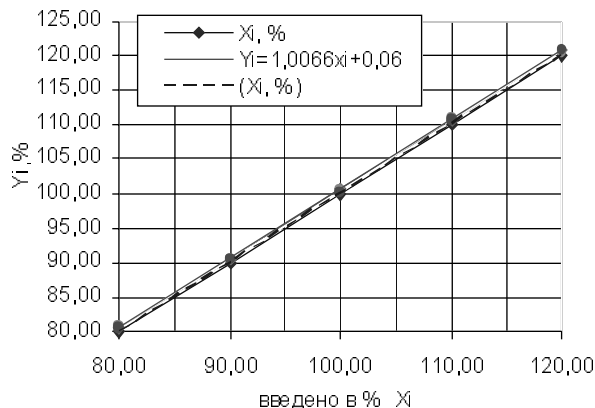


Рис. 1. Графік залежності об'єму титранту від концентрації прокаїна гідрохлориду в нормалізованих координатах.

Як видно з одержаних результатів, систематична погрішність при виконанні експерименту в лабораторії № 1 перевищує критерій невизначеності ( $0,60 \geq 0,51$ ), що водночас висуває більш жорсткі вимоги до збіжності результатів експерименту. Тобто критичне значення для збіжності результатів не повинно перевищувати  $1,60 - 0,60 = 1\%$ . Збіжність результатів в умовах лабораторії № 1 (див. табл. 3) дорівнює  $0,39\%$  ( $0,39\% \ll 1\%$ ), що свідчить про коректність проведення аналізу, тобто сумарна

Таблиця 3 – Результати аналізу модельних розчинів та їх статистична обробка

№ модельного розчину	Введено $x_i$ (%)	Лаб. № 1			Лаб. № 2		
		Об'єм титранту $V_i$ (мл)	Знайдено $y_i$ (%) $K_1=1,0082$	Знайдено в % до введеного $Z=100(Y_i/X_i)$	Об'єм титранту $V_i$ (мл)	Знайдено $y_i$ (%) $K_2=0,9997$	Знайдено в % до введеного $Z=100(Y_i/X_i)$
1	80,00	5,92	80,79	100,99	5,95	80,52	100,65
2		5,90	80,52	100,65	5,93	80,25	100,31
3		5,90	80,52	100,65	5,93	80,25	100,31
4	90,00	6,62	90,42	100,46	6,68	90,47	100,53
5		6,63	90,56	100,62	6,68	90,47	100,53
6		6,63	90,56	100,62	6,67	90,34	100,38
7	100,00	7,35	100,46	100,46	7,45	100,97	100,97
8		7,33	100,18	100,18	7,43	100,70	100,70
9		7,33	100,18	100,18	7,45	100,97	100,97
10	110,00	8,12	111,05	100,95	8,13	110,25	100,22
11		8,10	110,77	100,70	8,13	110,25	100,22
12		8,10	110,77	100,70	8,15	110,52	100,47
13	120,00	8,82	120,67	100,56	8,87	120,34	100,28
14		8,83	120,81	100,67	8,88	120,47	100,39
15		8,83	120,81	100,67	8,88	120,47	100,39
середнє Z%				100,60		100,49	
відносне стандартне відхилення, $S_z\%$				0,22		0,24	
відносний довірчий інтервал $\Delta_{As}\%$				0,39		0,43	
критичне значення для збіжності результатів $\Delta_{As}\%$				1,60			
систематична погрішність $\delta\%$				0,60		0,49	
критерій невизначеності систематичної погрішності 1) статистична невизначеність 2) якщо не виконується 1), то практична невизначеність $\delta \leq 0,51$				0,51			

Таблиця 4 – Результати вивчення міжлабораторної точності

об'єднане середнє $Z_{intra}$	100,55	
відносне стандартне відхилення $S_{intra}$	0,23	0,25
об'єднане відносне стандартне відхилення $RSD_{intra}$	0,24	
критичне значення для збіжності результатів $\Delta_{as}\%$	1,60	
міжлабораторна систематична погрішність $\delta_z$	0,55	
критерій невизначеності систематичної погрішності $\delta\%$	0,51	
відносний довірчий інтервал окремого результату $\Delta_z$	0,42	
відносний довірчий інтервал середнього значення $\Delta_{intra} = t[95\%, m^*(n-1)] * RSD_{intra} / \sqrt{15} = 1,7613 * RSD_{intra} / \sqrt{15}$	0,11	
загальний висновок про методу	коректна	

погрішність виконання аналізу в цій лабораторії не перевищує максимально припустимої невизначеності аналізу  $\max \Delta_{As} = 1,60\%$  [10].

Для визначення відтворюваності методики в умовах двох різних лабораторій, тобто визначення впливу внутрішньолабораторних варіацій (різні дні, різні аналітики, різний мірний посуд та ін.), розраховували середнє значення концентрації прокаїну гідрохлориду в лікарській формі за експериментальними даними двох лабораторій  $Z_{intra}$ , об'єднане відносне стандартне відхилення  $RSD_{intra}$ , міжлабораторну систематичну погрішність  $\delta_z$ , відносний довірчий інтервал середнього значення  $\Delta_{intra}$ . Отримані результати наведено в таблиці 4.

Оцінку одержаних валідаційних характеристик методики проводили шляхом порівняння з критеріями прийнятності, які наведено вище.

Отримані показники метрологічних характеристик даної методики (див. табл. 2-4) свідчать про те, що дана методика може бути відтворена в іншій лабораторії з довірчою вірогідністю 95 % відхилення одиничного значення ( $100 \pm 0,42$ ) %.

**ВИСНОВКИ.** 1. Здійснено валідацію аналітичної методики кількісного визначення розчину прокаїну гідрохлориду 1,0 % за валідаційними характеристиками: специфічність, лінійність, правильність та збіжність. Отримані метрологічні характеристики методики не перевищують критеріїв прийнятності відповідно до ДФУ.

2. З огляду на отримані результати, методика може бути використана при аналізі розчину прокаїну гідрохлориду 1,0 % в умовах аптек та лабораторій з контролю якості лікарських засобів.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Вимоги до виготовлення нестерильних лікарських засобів в умовах аптек: Методичні рекомендації (затверджено наказом МОЗ України від 3 серпня 2005 р. № 391). – 2-ге вид. – К.: МОЗ України, 2005. – 98 с.
2. Гризодуб А.И., Леонтьев Д.А., Денисенко Н.В., Подпужников Ю.В. Стандартизованная процедура валидации методик количественного анализа лекарственных средств методом стандарта // Фармаком. – 2004. – № 3. – С. 3-17.
3. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". – 1-ше вид. – Харків: PIPEГ, 2001. – 556 с.
4. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". – Доповнення 1. – Харків: PIPEГ, 2004. – 520 с.
5. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний

центр". – Доповнення 2. – Харків: PIPEГ, 2008. – 608 с.

6. Евтифеева О.А., Георгианц В.А. Стандартизованная процедура валидации методик количественного определения экстенпоральных лекарственных средств в условиях аптек и лабораторий по контролю качества // Фармаком. – 2007. – № 1. – С. 69-81.

7. Максютин Н.П., Каган Ф.Е., Кириченко Л.А., Митченко Ф.А. Методы анализа лекарств. – К.: Здоров'я, 1984. – 224 с.

8. Про затвердження Правил виробництва (виготовлення) лікарських засобів в умовах аптеки: Наказ МОЗ України від 15.12.2004 р. № 626.

9. Справочник провизора-аналитика / Под ред. Д.С. Волоха, Н.П. Максютин. – К.: Здоров'я, 1989. – 200 с.

10. Technical Guide for the Elaboration of Monographs, European Pharmacopoeia. – 4<sup>th</sup> Edition. – 2005. – 67 p.



# ВАЛИДАЦИЯ МЕРКУРИМЕТРИЧЕСКОЙ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОКАИНА ГИДРОХЛОРИДА В ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ АПТЕЧНОГО ПРИГОТОВЛЕНИЯ

В.А. Георгиянц<sup>1</sup>, Е.И. Бисага<sup>2</sup>, О.А. Евтифеева<sup>1</sup>  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ<sup>1</sup>, ХАРЬКОВ  
УЖГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ<sup>2</sup>

## Резюме

Проведено валидацію аналітичної методики кількісного визначення аптечної лікарської форми на основі прокаїна гідрохлориду, яку виготовляють в аптеці про запас і найбільше часто використовують в різних індивідуальних прописях. Валидацію проводили по схемі, яка приводиться в Державній Фармакопеї України (ДФУ). Були розглянуті такі параметри, як діапазон застосування, специфічність, лінійність, східність, правильність і воспроизводимость в двох різних лабораторіях, що дозволило прийти к висновку про придатність даної методики для виконання поставлених завдань в умовах аптек і лабораторій по контролю якості лікарських засобів.

КЛЮЧЕВІ СЛОВА: фармацевтичний аналіз, валидація аналітичних методик, екстемпоральна рецептура, прокаїна гідрохлорид.

# VALIDATION OF MERCURIMETRIC METHOD OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF PROCAINI HYDROCHLORIDUM IN MEDICINAL FORM OF PHARMACY PREPARATION

V.A. Georgiyants<sup>1</sup>, Y.I. Bysaga<sup>2</sup>, O.A. Yevtifeyeva<sup>1</sup>  
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY<sup>1</sup>, KHARKIV  
UZHHOROD STATE UNIVERSITY<sup>2</sup>

## Summary

The validation of analytical method of quantitative determination of pharmacy medicinal form on the basis of procaini hydrochloridum was conducted. Investigated medicinal form is made in a pharmacy for emergency and it is most often used in different individual prescriptions. The validation was conducted by the scheme which is resulted in the State Pharmacopoeia of Ukraine (SPU). Such parameters as range of application, specificity, linearity, repeatability, accuracy and reproducibility were studied in the conditions of two different laboratories, that allowed to make a conclusion about suitability of use of the given method in conditions of drugstores and laboratories for quality control of medicinal means.

KEY WORDS: pharmaceutical analysis, validation of analytical methods, extemporal prescriptions, procaini hydrochloridum.

Отримано 19.06.2008 р.

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

## ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИОКСИДАНТНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЕКСТРАКТІВ ЦИТРУСОВИХ

А.П. Левицький, О.А. Макаренко, І.П. Двуліт<sup>1</sup>, О.П. Пустовойт

ДУ "ІНСТИТУТ СТОМАТОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ", ОДЕСА  
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО<sup>1</sup>

Головним предметом дослідження стало порівняльне вивчення антиоксидантних, антирадикальних, антисупероксидних і хелатуючих властивостей спиртних екстрактів шкірки апельсина, грейпфрута і мандарина у модельних системах *in vitro*. Показано, що флавоноїди апельсинової шкірки найефективніше пригнічують окиснення твіну-80, відновлюють вільний радикал дифенілпікрілгідразил і супероксидний радикал, а також зв'язують іони двовалентних металів. Отримані результати дають підставу використовувати екстракт апельсинової шкірки у фармацевтичній промисловості для створення лікувально-профілактичних засобів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: екстракти шкірки цитрусових, антиоксидантні властивості, модельні системи *in vitro*.

ВСТУП. Плоди цитрусових є багатющим джерелом біологічно активних речовин, особливо ефірних олій, органічних кислот (головним чином, лимонної), вітамінів, пектину, моно- і дисахаридів [5, 9]. Серед вітамінів дослідники перш за все звертають увагу на аскорбінову кислоту, меншою мірою – на Р-вітамінні речовини (поліфеноли), з яких найцікавішими є біофлавоноїди. До речі, вміст поліфенолів, які знаходяться в основному в шкірці й насінні, в плодах цитрусових у 2,5-4 рази перевищує вміст аскорбінової кислоти [8].

Біофлавоноїди в даний час розглядають як найважливіші біорегулятори рослинного походження [11, 13]. Основною ключовою властивістю біофлавоноїдів, як і всіх поліфенолів, є їх антиоксидантна активність (АОА), зокрема здатність пригнічувати процеси перекисного окиснення ліпідів, білків, нуклеїнових кислот та інших сполук, гальмувати розвиток синдрому пероксидації [12]. Важливо додати, що вираженими антиоксидантними властивостями володіють і інші компоненти, що входять до складу шкірки цитрусових (поліфеноли, аскорбінова кислота) [1]. Вагомість антиоксидантних властивостей біологічно активних речовин визначається тією обставиною, що синдром пероксидації має універсальний характер як чинник патогенезу практично всіх захворювань і спо-

стерігається при будь-якому виді стресу або інтоксикації [6, 12].

У зв'язку з цим, а також враховуючи актуальність пошуку нових натуральних засобів, що проявляють широкий спектр лікувально-профілактичної дії, нами розроблені схеми отримання екстрактів зі шкірки цитрусових (апельсина, грейпфрута і мандарина) з метою створення нових препаратів. У даній роботі представлено результати порівняльного дослідження отриманих екстрактів на різних моделях окиснювального "стресу" *in vitro*.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Екстракція: подрібнену наважку сировини (10 г) поміщали в патрон з фільтрувального паперу в апарат Сокслетту і заливали 70 % етиловим спиртом об'ємом 250 мл. Вичерпну екстракцію проводили до зникнення забарвлення нової порції екстракту (приблизно 7-8 год).

В отриманих екстрактах визначали концентрацію сухих речовин [3] і вміст флавоноїдів за реакцією з хлоридом алюмінію [7].

Загальну антиоксидантну активність екстрактів оцінювали за мірою інгібування ними аскорбат- і фєроїндукованого окиснення твіну-80 до малонового діальдегіду (МДА), вміст якого визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою [2]. Антисупероксидну активність визначали за здатністю екстрактів конкурувати з нітросинім тетразолієм (НСТ) в реакції віднов-

© А.П. Левицький, О.А. Макаренко, І.П. Двуліт, О.П. Пустовойт, 2008.

лення супероксидних радикалів, утворених в системі "феназинметасульфат (ФМС) – NADH" [10]. Антирадикальну активність визначали за здатністю віддавати рухомий атом водню радикалові дифенілпікрилгідразилу (ДФПГ). Процес дегідрування за присутності ДФПГ супроводжується зниженням оптичної густини [4]. Хелатуючу активність екстрактів оцінювали за їх здатністю зв'язувати іони Fe<sup>2+</sup>, кількість яких визначали за допомогою ферозину [14]. Усі розрахунки проводили за здатністю визначеного розведення екстракту проявляти 50 % інгібуючу активність у модельних системах за формулою:

$$AOA = \frac{E_k - E_{on}}{E_k \cdot n}$$

де E<sub>k</sub> – оптична густина контролю без екстракту; E<sub>on</sub> – оптична густина дослідного екстракту; n – розведення екстракту. Антиоксидантну активність виражали в од./мл екстракту.

Крім того, визначали АОА сухих речовин (АОА/сухі), а також АОА флаваноїдів (АОА/флаваноїди).

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Як видно з представлених в таблиці даних, використаний метод екстракції дозволяє отримати приблизно однакову кількість речовин, що екстрагуються зі шкірки всіх цитрусових, які вивчали. При цьому вміст флаваноїдів в отриманих екстрактах був різним. Так, найменшу кількість даних сполук встановлено в екстракті апельсина – (0,82±0,09) мг/мл. При екстракції шкірки грейпфрута вихід флаваноїдів був в 1,76 раза більшим, а при екстракції мандаринової шкірки – в 3 рази більшим, ніж в екстракті апельсина. Ці дані свідчать про те, що флаваноїди шкірки мандарина найефективніше екстрагуються вибраним розчином (70 % етанолом).

Таблиця 1 – Вміст сухих речовин, флаваноїдів, антиоксидантна (АОА), антирадикальна (АРА), антисупероксидна (АСА) і хелатуюча активність (ХА) екстрактів шкірки цитрусових

Показник	Екстракт			
	Апельсиновий	Грейпфрутовий	Мандариновий	
Сухі речовини, мг/мл	16,1±1,2	19,2±2,3	14,0±0,9	
Вміст флаваноїдів, мг/мл	0,82±0,09	1,45±0,13	2,59±0,18	
АОА	АОА, од./мл	1,60±0,09	0,73±0,05	1,27±0,08
	АОА/сухі	0,099	0,038	0,091
	АОА/флаваноїди	1,95	0,50	0,49
АРА	АРА, од./мл	8,33±0,94	7,45±0,68	9,95±1,07
	АРА/сухі	0,517	0,388	0,711
	АРА/флаваноїди	10,16	5,14	3,84
АСА	АСА, од./мл	0,062±0,008	0,037±0,005	0,084±0,011
	АСА/сухі	0,004	0,002	0,006
	АСА/флаваноїди	0,076	0,026	0,032
ХА	ХА, од./мл	0,41±0,03	0,37±0,05	0,38±0,04
	ХА/сухі	0,026	0,019	0,027
	ХА/ флаваноїди	0,500	0,255	0,150

Усі екстракти цитрусових, які вивчали, здатні гальмувати окиснення твіну-80, що свідчить про наявність в екстрактах речовин з АОА. Комплекси біологічно активних речовин апельсинового і мандаринового екстрактів (АОА/сухі) проявляли більш виражену активність порівняно з речовинами грейпфрутового екстракту. При цьому АОА флаваноїдів (АОА/флаваноїди) апельсинового екстракту була майже в 4 рази вищою, ніж флаваноїдів грейпфрута або мандарина (табл. 1).

Дослідження антирадикальної активності (АРА) показало приблизно однакову ефективність всіх екстрактів цитрусових. При цьому АРА комплексу біологічно активних речовин (АРА/сухі) та флаваноїдів (АРА/ флаваноїди) екстрактів, які вивчали, була різною. Так, сухі речовини грейпфрута проявляли найнижчу АРА. Показник АРА/сухі апельсинового екстракту був на 33,2 % вищим, а мандаринового – на 83,2 % вищим, ніж відповідні значення грейпфрутового. Якщо показник АРА/сухі мандаринового екстракту був найвищим, то АРА/флаваноїди цього ж екстракту виявився найнижчим. А найбільшою АРА володіли флаваноїди апельсинового екстракту, вони були більш ніж у 2 рази вищими за своєю активністю, ніж флаваноїди мандаринового екстракту.

Комплекси біологічно активних речовин екстрактів цитрусових здатні відновлювати супероксидний аніон-радикал (АСА), найбільш виражено – мандаринового (АСА/сухі=0,006). Даний показник апельсинового екстракту був в 1,5 раза нижчим, а грейпфрутового – в 3 рази нижчим, ніж мандаринового. На тлі цього показник АСА/флаваноїди апельсинового екстракту був найвищим.

Хелатуюча активність як екстрактів цитрусових (ХА), так і біологічно активних речовин (ХА/сухі), що входять до їх складу, була при-

близно однаковою у всіх екстрактів. Флавоноїди апельсинового екстракту (ХА/флавоноїди) найбільшою мірою проявляли хелатуючу активність. Так, показник ХА/флавоноїди апельсинового екстракту майже в 2 рази перевищував цей показник грейпфрутового і в 3,2 раза був вищим, ніж ХА/флавоноїди мандаринового (див. табл. 1).

**ВИСНОВКИ.** Комплекси біологічно активних речовин, що входять до складу апельсинового і мандаринового екстрактів (при перерахунку на сухі речовини), є найбільш активними за здатністю гальмувати окиснення твіну-80, інгібувати утворення вільних радикалів і супероксидних аніон-радикалів, а також зв'язувати іони двовалентних металів. АРА й АСА сухих речовин мандаринового екстракту дещо перевищувала відповідні показники апельсинового. Комплекс антиоксидантів грейпфрута (при перерахунку на сухі речовини) проявляв менш виражену активність порівняно з антиоксидантами апельсина і грейпфрута. До речовин цитрусових, що володіють антиоксидантними властивостями, можна віднести флавоноїди й інші поліфеноли, аскорбінову кислоту,  $\beta$ -каротин [1, 8, 12].

Флавоноїди апельсинового екстракту також найбільш активні за всіма параметрами, які

вивчали. АОА, АРА, АСА і ХА екстракту апельсина при перерахунку на вміст флавоноїдів була в декілька разів вищою, ніж мандаринового і грейпфрутового.

Оскільки закономірність вираження антиоксидантних властивостей сухих речовин і флавоноїдів у більшості випадків була однаковою, можна вважати, що антиоксидантні механізми цитрусових реалізуються в основному за рахунок флавоноїдів. При цьому найбільш активними антиоксидантами є флавоноїди апельсина і мандарина. За даними [8], до них відносять гесперитин і його глікозидну форму – гесперидин. Основними флавоноїдами грейпфрута є нарингенін і глікозид нарингін, АОА яких значно поступається АОА флавоноїдів апельсина. Певний внесок в антиоксидантні властивості цитрусових робить рутин, що володіє дуже високою антиоксидантною активністю, але його вміст в десятки, в окремих випадках навіть у сотні, разів нижчий, ніж вміст основних флавоноїдів цитрусових [1, 8, 12].

Можна стверджувати, що найефективнішими антиоксидантами цитрусових є біологічно активні речовини, зокрема флавоноїди, шкірки апельсина.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Васильева О.В., Любицкий О.Б., Хлебанов Г.И., Владимиров Ю.А. Совместное действие флавоноидов, аскорбата и  $\alpha$ -токоферола на  $Fe^{2+}$ -индуцированное окисление фосфолипидных липосом // Биол. мембраны. – 2000. – **17**, № 1. – С. 42-49.
2. Горячковский А.М. Определение общей антиоксидантной активности плазмы и эритроцитов // В кн.: Клінічна біохімія в лабораторній діагностиці: Довідковий посібник. – 3-те вид., вип. і доп. – Одеса: Екологія, 2005. – С. 379-380.
3. Государственная фармакопея СССР. Вып. 2: Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1989. – 400 с.
4. Губский Ю.И., Юрженко Н.Н., Шаповал Н.Н. и др. Антирадикальная и антиокислительная активность некоторых мембранотропных препаратов синтетического и растительного происхождения // Укр. биохим. журн. – 1998. – **70**, № 3. – С. 128-134.
5. Дудченко Л.Г., Кривенко В.В. Пищевые растения – целители. – К.: Наукова думка, 1988. – 272 с.
6. Костюк В.А., Потапович А.И., Терещенко С.М., Афанасьев И.Б. Антиокислительная активность флавоноидов в различных системах перекисного окисления липидов // Биохимия. – 1988. – **53**, вып. 8. – С. 1365-1370.
7. Рехлецька О.В., Калинюк Т.Г., Гудзь Н.І., Федущак Н.К. Кількісне визначення флавоноїдів у лосьйонах для лікування інфекційних захворювань шкіри // Мед. хімія. – 2007. – **9**, № 2. – С. 87-90.
8. Тутельян В.А., Батурич А.К., Мартинчик Э.А. Флавоноиды, содержание в пищевых продуктах, уровень потребления, биодоступность // Вопр. питания. – 2004. – **73**, № 6. – С. 43-48.
9. Формазюк В.И. Энциклопедия пищевых лекарственных растений. – К.: Изд-во А.С.К., 2003. – С. 178-185.
10. Чевари С., Чаба И., Секей И. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее активности в биологических материалах // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678-681.
11. Andersen O.M., Markham K.R. Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Application. – CRC Press, 2005. – 1256 p.
12. Kroger G. The antioxidant activity of citrus fruit peels // Z. Ernährungswiss. – 1986. – **25**. – P. 63-69.
13. Middleton E., Kandaswami C., Theoharides T.

The effect of plant flavonoides on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease and cancer // Pharmacological Review. – 2000. – 52, № 4. – P. 673-701.

14. Nadaroglu H., Demir Y., Demir N. Antioxidant and radical scavenging properties of *Iris Germanica* // Химико-фарм. журн. – 2007. – 41, № 8. – С. 13-18.

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ ЭКСТРАКТОВ ЦИТРУСОВЫХ

**А.П. Левицкий, О.А. Макаренко, И.П. Двулит<sup>1</sup>, Е.П. Пустовойт**  
ГУ "ИНСТИТУТ СТОМАТОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ", ОДЕССА  
ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО<sup>1</sup>

### Резюме

Основным предметом исследования явилось сравнительное изучение антиоксидантных, антирадикальных, антисупероксидных и хелатирующих свойств спиртовых экстрактов кожуры апельсина, грейпфрута и мандарина в модельных системах *in vitro*. Показано, что флавоноиды апельсиновой кожуры наиболее эффективно подавляют окисление твина-80, восстанавливают свободный радикал дифенилпикрилгидразил и супероксидный радикал, а также связывают ионы двухвалентных металлов. Полученные результаты дают основание использовать экстракт апельсиновой кожуры в фармацевтической промышленности для создания лечебно-профилактических средств.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: экстракты кожуры цитрусовых, антиоксидантные свойства, модельные системы *in vitro*.

## COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF ANTIOXIDANT PROPERTIES OF CITRUS EXTRACTS

**A.P. Levytsky, O.A. Makarenko, I.P. Dvulit<sup>1</sup>, O.P. Pustovoyt**  
SE "INSTITUTE OF DENTISTRY OF AMS OF UKRAINE", ODESSA  
LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY<sup>1</sup>

### Summary

The main subject of the study is the comparative study of antioxidant, antiradical, antisuperoxidant and chelating characteristics of spirit extracts of orange, grapefruit and mandarin peel in simulated systems *in vitro*. The flavonoids of the orange peel were shown to depress the most effectively tween-80, restore the free radical diphenylpicrylhydrazyl and superoxide radical and they bind the ions of divalent metals. The findings allow to use the orange peel extract in pharmaceutical industry for the production of medicinal and preventive preparations.

KEY WORDS: citrus peel extracts, antioxidant characteristics, simulated systems *in vitro*.

Отримано 17.06.2008 р.

Адреса для листування: А.П. Левицкий, ДУ "Інститут стоматології АМН України", Одеса, Україна.

## ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ НОВИХ КОМБІНОВАНИХ ЗАСОБІВ АДАПТОГЕННОЇ ДІЇ НА ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ СТАНУ ПЕЧІНКИ В УМОВАХ ХРОНІЧНОГО ГЕПАТИТУ

О.Я. Міщенко

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Вивчено вплив нових комбінованих засобів адаптогенної дії (феполену, поллентару і фелентару) та препаратів порівняння на стан перекисного окиснення ліпідів, антиоксидантної системи і глікогенсинтетичної функції печінки в умовах хронічного тетрахлорметанового гепатиту в щурів. Нові комбіновані засоби, як і гепатопротектор – силібор, БАД – пивні дріжджі з бурштиновою кислотою та класичний адаптоген тонізуючої дії – елеутерокок, підвищують активність антиоксидантного захисту органа. Усі препарати, крім елеутерококу, відновлюють глікогенсинтетичну функцію печінки. Феполен, на відміну від інших досліджуваних препаратів, проявляє статистично вірогідний пригнічуючий вплив на процеси ліпопероксидації, що зумовлює його більш виражені гепатопротекторні властивості серед інших препаратів.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** хронічний тетрахлорметановий гепатит, комбіновані засоби поллентар, феполен, фелентар, гепатопротекторна активність, силібор, пивні дріжджі з бурштиновою кислотою, екстракт елеутерококу.

**ВСТУП.** Поліфункціональний характер дії адаптогенів забезпечує широке використання цих препаратів для профілактики та комплексної терапії ряду захворювань [1, 3]. Перш за все адаптогенні засоби підвищують неспецифічну резистентність організму [1, 3, 5]. Механізми реалізації адаптогенної дії багатогранні та включають вплив на нейрогуморальну регуляцію гомеостазу, систему енергозабезпечення органів, антиоксидантну систему та ін. [1, 3, 11, 14].

У ЦНДЛ НФаУ проводять вивчення нових комбінованих засобів адаптогенної дії на основі природної сировини: поллентару, фелентару та феполену, склад яких наведено в таблиці 1. За результатами досліджень встановлено, що всі препарати проявляють актопротекторну, антигіпоксичну та стреспротекторну дії. При вивченні актопротекторної активності виявлено здатність препаратів пригнічувати інтенсивність перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та активізувати антиоксидантний захист організму щурів при фізичному навантаженні [6].

Відомо, що підвищена інтенсивність процесів ПОЛ є одним з головних порушень метаболізму та функціонування клітинних мембран, що виникає під час дії несприятливих факторів зовнішнього середовища, інтенсивного фізичного навантаження та супроводжує практично всі захворювання, в тому числі й печінкові [2, 5, 9, 12, 13, 14].

© О.Я. Міщенко, 2008.

З огляду на те, що адаптогенні засоби зазвичай використовуються тривалий час та здатні підвищувати активність ендогенної антиоксидантної системи (АОС), було доцільним оцінити вплив нових комбінованих засобів адаптогенної дії на стан ПОЛ та АОС в умовах хронічного тетрахлорметанового гепатиту, в патогенезі розвитку якого процесам ліпопероксидації належить провідна роль.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** В експерименті використовували білих нелінійних щурів масою 200-220 г, яких утримували в стандартних умовах віварію. Хронічний гепатит викликали шляхом 16-кратного підшкірного введення 50,0 % розчину тетрахлорметану на олії в дозі 0,2 мл/100 г маси тіла тварин протягом 2 місяців 2 рази на тиждень [4]. Тварин поділили на 8 груп: 1-ша – інтактні тварини; 2-га – група контрольної патології (щурам вводили тільки тетрахлорметан). Тварини 3-ї, 4-ї та 5-ї груп на тлі введення гепатотоксину внутрішньощлунково отримували нові комбіновані адаптогенні засоби (поллентар, фелентар, феполен) в середньоєфективних дозах за актопротекторною дією 25 мг/кг. Щури 6-ї, 7-ї та 8-ї груп одержували, відповідно, препарати порівняння: гепатопротекторний препарат антиоксидантної дії силібор в дозі 30 мг/кг (ЕД<sub>30</sub>), аналог за складом та дією – пивні дріжджі з бурштиновою кислотою в дозі 586 мг/кг (біологічно активна добавка, яка зареєстрована в Україні) та

класичний адаптоген – екстракт елеутерококу в дозі 1 мл/кг. Дози останніх двох препаратів перераховано з добової дози людини на дозу для щурів з використанням коефіцієнта стійкості за методом Ю.Р. Риболовлева [8]. Досліджувані препарати вводили щоденно протягом двох місяців, у дні введення тетрахлорметану за 1 год до підшкірної ін'єкції гепатотоксину. Через 24 год після останнього введення тетрахлорметану тварин декапітували під легким ефірним наркозом, збирали кров та готували гомогенат печінки для проведення біохімічних досліджень.

Інтенсивність процесів ПОЛ в печінці оцінювали за рівнем ТБК-активних продуктів (ТБК-реактив) у гомогенаті органа [4]. Визначення рівня відновленого глутатіону (G-SH) у гомогенаті печінки [3] та активності антиоксидантного ферменту супероксиддисмутази (СОД) [4] дозволило характеризувати функціональний стан антиоксидантної системи організму тварин. Інтенсивність запального (альтеративного) процесу в печінці оцінювали за величиною коефіцієнта маси органа (КМП) [4]. Показником синтетичної функції органа був рівень глікогену [7]. Статистичну обробку результатів проводили параметричним методом з використанням коефіцієнта Стьюдента [10].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Класичний мембранотропний токсин – тетрахлорметан, метаболізуючись монооксигеназною системою гепатоцитів, утворює високоактивні ради-

кали  $CCl_3$  та  $CCl_2OH$ , які індукують процеси вільнорадикального окиснення, взаємодіють з поліненасиченими жирними кислотами мембран і призводять до порушення їх структури та функції і органа в цілому [2, 12].

Аналіз наведених в таблиці 2 даних свідчить про розвиток патологічних порушень у печінці під впливом тетрахлорметану. Спостерігали посилення процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та зниження активності захисної антиоксидантної системи організму (АОС): вміст ТБК-реактивів у гомогенаті печінки щурів групи контрольної патології підвищився в 1,4 раза, а рівень G-SH став нижчим в 3 рази, активність антиоксидувального ферменту супероксиддисмутази (СОД) зменшилась в 2 рази порівняно з інтактними тваринами. Порушення структури клітинних мембран та активності мембранозв'язаних ферментів призвело до пригнічення процесів енергозабезпечення та синтетичної функції органа. Глікогенсинтетична функція печінки вірогідно знизилась в 2 рази. Достовірно підвищення КМП у групі контрольної патології вказує на розвиток альтеративних процесів та набряку органа в результаті прооксидантної дії тетрахлорметану.

Усі нові адаптогенні засоби, елеутерокок та пивні дріжджі, як і гепатопротектор силібор, сприяли вірогідному зростанню активності антиоксидантного захисту печінки. Про це свідчать достовірно вищі показники рівня відновленого глутатіону в щурів дослідних груп відносно групи тварин контрольної патології.

Таблиця 1 – **Склад нових засобів адаптогенної дії**

Препарати	Феполен	Поллентар	Фелентар
Фенольний гідрофобний екстракт прополісу	+	–	+
Квітковий пилок	+	+	+
Бурштинова кислота	–	+	+

Таблиця 2 – **Вплив нових комбінованих засобів та препаратів порівняння на функціональний стан печінки в умовах хронічного тетрахлорметанового гепатиту**

Показники	КМП, %	Глікоген, мг/г	ТБК-реактив, ммоль/г	G-SH, мкмоль/г	СОД, ум.од.
Інтактний контроль	2,68±0,13	25,40±2,88	76,28±7,41	2,98±0,16	3,25±0,42
Контрольна патологія	5,82±0,11*	11,86±2,83*	106,62±9,78*	0,94±0,20*	1,60±0,15*
Патологія+поллентар, 25 мг/кг	5,24±0,21 */**	26,46±6,92**	114,10±16,89*	3,85±0,91**	2,07±0,12 */**
Патологія+фелентар, 25 мг/кг	4,95±0,26 */**	37,61±4,19 */**	108,08±10,67*	4,76±0,57 */**	1,99±0,10 */**
Патологія+феполен, 25 мг/кг	4,50±0,18 */**	23,28±2,44**	62,82±4,71**	4,35±1,24**	2,23±0,10 */**
Патологія+силібор, 30 мг/кг	4,79±0,16 */**	23,80±1,94**	109,61±17,66*	4,10±1,02**	1,85±0,25*
Патологія+елеутерокок, 1 мл/кг	5,06±0,25*/**	16,19±3,82	178,9±22,08 */**	4,48±0,93**	1,98±0,13*
Патологія+пивні дріжджі, 86 мг/кг	4,80±0,67*	24,73±1,93**	87,39±5,71	4,78±0,16*/**	2,00±0,19*

Примітка. \* – відхилення статистично вірогідні щодо даних інтактного контролю ( $p \leq 0,05$ ); \*\* – відхилення статистично вірогідні щодо даних контрольної патології ( $p \leq 0,05$ ).

Активність антиоксидантного ферменту СОД вірогідно підвищувалась під дією тільки нових засобів, проте не досягала рівня інтактного контролю. Зростання антиоксидантного захисту під впливом препаратів по-різному забезпечувало зниження інтенсивності перекисного окиснення ліпідів.

Статистично вірогідне зниження рівня ТБК-реактивності щодо групи контрольної патології спостерігали тільки під дією феполену, в складі якого антиоксидантний компонент – фенольний гідрофобний препарат прополісу становив відносно більшу частку, ніж у фелентарі. У групі тварин, яким вводили пивні дріжджі, рівень ТБК-реактивності, що свідчив про інтенсивність ПОЛ, достовірно не відрізнявся від рівнів інтактного контролю та контрольної патології, але за абсолютною величиною мав тенденцію до зближення з величиною інтактного контролю. Поллентар, фелентар, силібор та елеутерокок не справили істотного пригнічувального впливу на рівень ТБК-реактивності у гомогенаті печінки відносно групи контрольної патології. Більш виражений позитивний вплив на стан АОС можна пояснити відомими антиоксидантними властивостями природних фенольних сполук, які входять до складу засобів, а також опосередкованим стимулювальним впливом на синтез та активність антиоксидувальних ферментів, імовірно, в результаті нормалізувальної дії на енергетичний обмін клітин. Підтвердженням цього є поліпшення глікогенсинтетичної функції під дією всіх препаратів, окрім елеутерококу.

Збільшення вмісту ТБК-реактивності та зменшення рівня відновленого глутатіону в гомогенаті печінки тварин групи контрольної патології свідчать про неспроможність антиоксидантного захисту органа, внаслідок токсичної дії тетрахлорметану відбувалось підвищення ПОЛ, що призводило до порушення функції органа, в тому числі зниження синтезу глікогену та виснаження пулу G-SH. Під впливом нових адаптогенних засобів, на відміну від класичного адаптогену тонізуючої дії екстракту елеутерококу, нормалізувався вміст глікогену, що вказувало на активацію метаболічних процесів і сприяло зростанню вихідного рівня ліпопероксидації на тлі високого рівня антиокси-

дантного захисту. Підтвердженням цього був характер зміни величини КМП, що корелювала з рівнем процесів ПОЛ. Під дією препаратів показники КМП були вірогідно нижчими, ніж у групі тварин контрольної патології, проте не досягали рівня інтактного контролю.

Нові комбіновані засоби адаптогенної дії на основі природної сировини в умовах хронічного гепатиту сприяють підвищенню метаболічних процесів в органі: підвищують глікогенсинтетичну функцію органа, активізують антиоксидантний захист органа, збільшують рівень відновленого глутатіону та СОД печінки, але, за винятком феполену, не спроможні запобігати інтенсифікації процесів ПОЛ. Це пояснюється складом БАД, що містять поллентар, фелентар та феполен. Наявність природних фенольних сполук в більшій кількості (феполен) зумовлює як антирадикальну дію, так і здатність відновлювати окиснений глутатіон. Амінокислоти, вітаміни, фосфоліпіди, вуглеводи, макрота мікроелементи квіткового пілку забезпечують обмінні процеси в тканинах та функціонування ферментних систем.

Отже, аналіз одержаних результатів свідчить про відсутність гепатотоксичної дії у нових препаратів адаптогенної дії поллентару, фелентару та про виражені гепатопротекторні властивості феполену за умов хронічного експериментального гепатиту, що необхідно враховувати при їх використанні в практичній медицині.

**ВИСНОВКИ.** 1. Нові комбіновані засоби адаптогенної дії – поллентар, феполен та фелентар, як і гепатопротектор – силібор, БАД – пивні дріжджі з бурштиновою кислотою та класичний адаптоген тонізуючої дії – елеутерокок, на моделі хронічного тетрахлорметанового гепатиту в щурів сприяють підвищенню антиоксидантного захисту органа.

2. Усі препарати, крім елеутерококу, зберігають глікогенсинтетичну функцію печінки.

3. Феполен, на відміну від інших препаратів, проявляє вірогідний пригнічувальний вплив на процеси ПОЛ, що зумовлює його найбільш виражені гепатопротекторні властивості серед досліджуваних препаратів.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А. Адаптационные реакции и резистентность организма. – Ростов-на-Дону, 1979. – 119 с.
2. Губский Ю.И. Коррекция химического поражения печени. – К.: Здоров'я, 1989. – 168 с.
3. Дземан М.І. Погляд на проблему резистентності, реактивності та загальноадаптивних реакцій організму в клініці внутрішніх захворювань // Укр.

мед. часопис. – 1999. – № 4 (12). – С. 97-100.

4. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. О.В. Стефанова. – К., 2001. – С. 139-152.

5. Каплан Е.Я., Цыренжакова О.Д., Шантанова Л.Н. Оптимизация адаптивных процессов организма. – М.: Наука, 1990. – 94 с.

6. Міщенко О.Я., Яковлева Л.В. Порівняльне ви-



вчення актопротекторної дії засобу "Поллентар" та його окремих субстанцій // Фармаком. – 2003. – № 2. – С. 100-104.

7. Прохорова М.И., Тупикова З.Н. Большой практикум по углеводному и липидному обмену. – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1995. – С. 53-65.

8. Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности // Доклады АН СССР. – 1979. – **247**, № 6. – С. 1513-1516.

9. Сейфулла Р.Д. Фармакологическая коррекция факторов, лимитирующих работоспособность человека // Эксперим. и клин. фармакол. – 1998. – **61**, № 1. – С. 3-12.

10. Стентон Г. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1999. – 459 с.

11. Федоров В.Н. Фармакодинамика адаптогенов: экспериментальное и клиническое исследо-

вание: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 1999. – 47 с.

12. Bagchi D., Hassoun E.A., Bagchi M., Stohs S.J. Protective effects of antioxidants against endrin-induced hepatic lipid peroxidation, DNA damage, and excretion of urinary lipid metabolites // Free Rad. Biol. Med. – 1993. – № 15. – P. 217-222.

13. Borsa Wolf and Michela Christa. Antioxidant capacity of flavanols and gallate esters: pulse radiolysis // Free Rad. Biol. Med. – 1999. – **27**, № 11-12. – P. 1413-1426.

14. Voskresensky O.N., Levitsky A.P., Skiba O.I. et al. Anti-stress effects regulatory mechanisms of plant adaptogens // Тези доп. наук.-практ. конф. "Актуальні питання тканинної терапії та перспективи застосування природних біологічно активних речовин у сучасній медицині" (17-18 вересня 2003 р.). – 2003. – С. 14.

## ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НОВЫХ КОМБИНИРОВАННЫХ СРЕДСТВ АДАПТОГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА

О.Я. Мищенко

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

### Резюме

*Изучено влияние новых комбинированных средств адаптогенного действия (феполена, поллентара, фелентара) и препаратов сравнения на состояние перекисного окисления липидов, антиоксидантной системы и гликогенсинтетической функции печени в условиях хронического тетрахлорметанового гепатита у крыс. Новые комбинированные средства, как и гепатопротектор – силибор, БАД – пивные дрожжи с янтарной кислотой и классический адаптоген тонизирующего действия – элеутерококк, повышают активность антиоксидантной защиты органа. Все препараты, кроме элеутерококка, восстанавливают гликогенсинтетическую функцию печени. Феполен, в отличие от других изучаемых препаратов, оказывает статистически достоверное угнетающее влияние на процессы липопероксидации, что обуславливает его более выраженные гепатопротекторные свойства среди других препаратов.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** хронический тетрахлорметановый гепатит, комбинированные средства поллентар, феполен, фелентар, гепатопротекторная активность, силибор, пивные дрожжи с янтарной кислотой, экстракт элеутерококка.

## STUDY OF INFLUENCE OF NEW COMPLEX DRUGS WITH ADAPTOGENIC ACTION ON SOME INDICES OF LIVER STATE UNDER CONDITIONS OF CHRONIC HEPATITIS

O.Ya. Mishchenko

NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

### Summary

*The influence of new complex adaptogenic drugs in comparison the some drugs on state of lipid peroxidation (POL), antioxidative system and liver glycogensynthetic function under conditions of chronic tetrachlormethane hepatitis in rats was studied. New complex drugs, like a hepatoprotective drug silibor, biologically-fissile component (BFC) – brewer yeast with succinic acid and classic adaptogenic tonic drug – eleuterococcus, raise organ's activity of antioxydative protection. All drugs, excepting eleuterococcus, maintain liver glycogensynthetic function. Phepolenum, differing from other researched drugs, has statistically reliable suppressive influence on lipid peroxidation processes, that shows its more expressing hepatoprotective properties among other drugs.*

**KEY WORDS:** chronic tetrachlormethane hepatitis, combined preparations pollentorum, phepolenum, phelentorum, hepatoprotective activity, silibor, brewer yeast with succinic acid, eleuterococcus.

Отримано 20.02.2008 р.

**Адреса для листування:** О.Я. Мищенко, Національний фармацевтичний університет, вул. Мельникова, 12, Харків, 61002, Україна.

## СИНТЕЗ І АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ N'-(2-(4-R-5-R<sub>1</sub>-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ІЛТІО)АЦЕТО)ГІДРАЗИДІВ

А.Г. Каплаушенко<sup>1</sup>, Д.С. Кравець<sup>2</sup>, Л.В. Чадова<sup>2</sup>  
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ<sup>1</sup>  
ЛУГАНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ<sup>2</sup>

Синтезовано ряд N'-(2-(4-R-5-R<sub>1</sub>-1,2,4-тріазол-3-ілтїо)ацето)гідрозидів, структура яких підтверджена зустрічним синтезом, елементним аналізом, ІЧ-спектроскопією та ПМР-спектрометрією. Для отриманих сполук вивчено антиоксидантну активність. Встановлено взаємозв'язок між будовою синтезованих речовин та досліджуваною дією.

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

ВСТУП. Серед 3-тіо-1,2,4-тріазолів [3, 4] останнім часом виявлено сполуки, що знайшли своє застосування як лікарські засоби. Займаючись синтезом і біологічним скринінгом в ряді похідних 1,2,4-тріазолу, ми вважали за доцільне отримати ряд N'-(2-(4-R-5-R<sub>1</sub>-1,2,4-тріазол-3-ілтїо)ацето)гідрозидів та вивчити їх антиоксидантну активність, а також встановити залежність між досліджуваною біологічною дією та особливостями хімічної будови речовин цього класу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Синтез N'-(2-(4-R-5-R<sub>1</sub>-1,2,4-тріазол-3-ілтїо)ацето)гідрозидів (3-17) (табл. 1) здійснений нами двома методами.

Сполуки 3-5, 10, 12, 16, 17 синтезовано в результаті взаємодії гідрозидів 2-(4-R-5-R<sub>1</sub>-1,2,4-тріазол-3-ілтїо)ацетних кислот (1, рис. 1) з естерами ацетатної, 3,5-динітробензойної, піридин-3- і піридин-4-карбонової кислот. Як середовище використовували етилацетат (в разі отримання сполук 10, 16), чи пропанол. Реакційну суміш нагрівали протягом 30 год, залишали на 48 год при кімнатній температурі, осади продуктів реакції відфільтровували.

N'-(2-(4-R-5-R<sub>1</sub>-1,2,4-тріазол-3-ілтїо)ацето)гідрозиди (1-9, 11, 13-15) отримано шляхом 30-годинного нагрівання в пропанолі відповідних естерів 2-(4-R-5-R<sub>1</sub>-1,2,4-тріазол-3-ілтїо)ацетних кислот (2, рис. 1) з гідрозидами ацетатної, бензойної, 4-нітробензойної, піридин-3- і піридин-4-карбонової кислот. Після нагрівання реакційну суміш утримували при кім-

натній температурі протягом 24 год, осади продуктів реакції відфільтровували.

Для підвищення виходу цільових продуктів 2-17 фільтрат на 2/3 випаровували. Синтезовані сполуки (див. табл. 1) являють собою білі (3-5, 13), жовті (6-12) або коричневу (17) кристалічні речовини, розчинні у воді й органічних розчинниках. Для аналізу сполуки 3, 5-7, 9, 10, 12, 13, 16 очищено шляхом перекристалізації з води. Речовини 2, 8, 11, 14, 15, 17 перекристалізовано з етанолу.

N'-ацетил-(2-(5-(фуран-2-іл)-1,2,4-тріазол-3-ілтїо)ацето)гідрозид (10) та N'-ацетил-(2-(4-(2-метилфеніл)-5-(піридин-4-іл)-1,2,4-тріазол-3-ілтїо)ацето)гідрозид (16) (див. табл. 1).

Суміш 0,01 моль гідрозиду 2-(5-(фуран-2-іл)-1,2,4-тріазол-3-ілтїо)ацетної кислоти чи гідрозиду 2-(4-(2-толїл)5-(4-піридил)-1,2,4-тріазол-3-ілтїо)ацетної кислоти в 100 мл етилацетату нагрівають протягом 30 год, залишають на 48 год при кімнатній температурі, осади сполук 10, 16 відфільтровують.

N'-(2-(4-R-5-R<sub>1</sub>-1,2,4-тріазол-3-ілтїо)ацето)гідрозиди (3-5, 12, 17) (див. табл. 1).

Суміш 0,01 моль гідрозиду відповідної 2-(4-R-5-R<sub>1</sub>-1,2,4-тріазол-3-ілтїо)ацетної кислоти (1) і 0,01 моль естеру 3,5-динітробензойної, піридин-3- і піридин-4-карбонової кислот в 50 мл пропанолу нагрівають протягом 30 год, залишають на 48 год при кімнатній температурі, осади продуктів реакції відфільтровують.

N'-(2-(4-R-5-R<sub>1</sub>-1,2,4-тріазол-3-ілтїо)ацето)гідрозиди (1-9, 11, 13-15) (див. табл. 1).

Суміш 0,01 моль відповідного естеру 2-(4-R-5-R<sub>1</sub>-1,2,4-тріазол-3-ілтїо)ацетної кислоти (2)

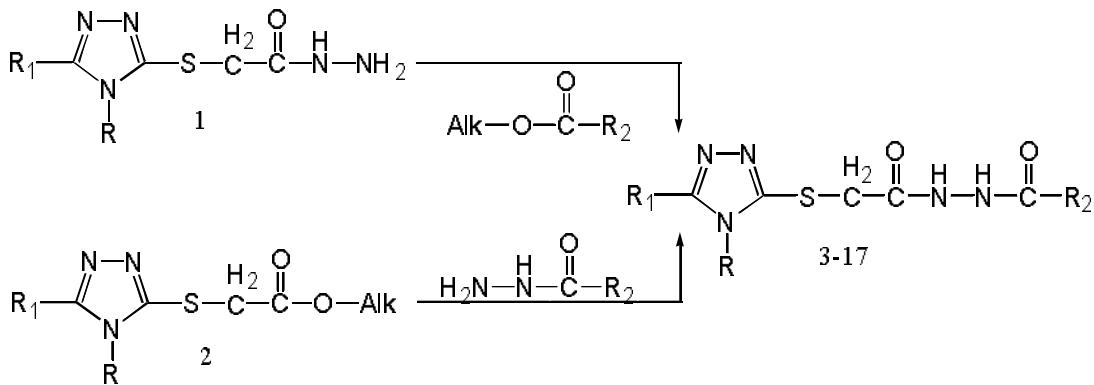
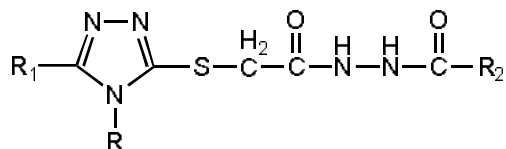


Рис. 1. Схема синтезу N'-(2-(4-R-5-R<sub>1</sub>-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацето)гідрозидів.

Таблиця 1 – Фізико-хімічні константи  
N'-(2-(4-R-5-R<sub>1</sub>-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацето)гідрозидів



№ сполук	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	T пл., °C	Вихід, %
3	H	H	4-піридил	75-77	87
4	H	CH <sub>3</sub>	3-піридил	161-163	81
5	H	CH <sub>3</sub>	4-піридил	96-98	87
6	H	4-нітрофеніл	CH <sub>3</sub>	70-72	83
7	H	4-нітрофеніл	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	201-203	41
8	H	4-нітрофеніл	4-нітрофеніл	196-198	80
9	H	4-нітрофеніл	4-піридил	148-150	74
10	H	фуран-2-іл	CH <sub>3</sub>	71-73	84
11	H	4-піридил	4-піридил	113-115	73
12	Феніл	2-піридил	4-піридил	60-62	94
13	Феніл	3-піридил	4-піридил	125-127	73
14	2-толуіл	фуран-2-іл	3-піридил	94-96	71
15	2-толуіл	фуран-2-іл	4-піридил	79-81	85
16	2-толуіл	4-піридил	CH <sub>3</sub>	176-178	49
17	2-метоксифеніл	4-піридил	3,5-динітрофеніл	57-59	76

Продовження табл. 1

№ сполук	Брутто-формула	Знайдено, %			Обчислено, %		
		C	H	N	C	H	N
3	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>6</sub> O <sub>2</sub> S	43,22	3,68	30,27	43,17	3,60	30,22
4	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>6</sub> O <sub>2</sub> S	45,15	4,18	28,81	45,21	4,11	28,77
5	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>6</sub> O <sub>2</sub> S	45,18	4,03	28,83	45,21	4,11	28,77
6	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> S	42,93	3,61	25,07	42,86	3,57	25,00
7	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> S	51,25	3,55	21,17	51,26	3,52	21,11
8	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> N <sub>7</sub> O <sub>6</sub> S	46,18	2,63	22,24	46,15	2,71	22,17
9	C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> N <sub>7</sub> O <sub>4</sub> S	48,18	3,15	24,63	48,12	3,26	24,56
10	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> N <sub>5</sub> O <sub>2</sub> S	45,31	4,19	24,30	45,28	4,15	24,42
11	C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> N <sub>7</sub> O <sub>6</sub> S	58,47	3,50	26,51	48,51	3,53	26,40
12	C <sub>21</sub> H <sub>17</sub> N <sub>7</sub> O <sub>2</sub> S	58,53	3,91	22,84	58,47	3,94	22,74
13	C <sub>21</sub> H <sub>17</sub> N <sub>7</sub> O <sub>2</sub> S	58,44	3,97	22,81	48,51	3,53	26,40
14	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> N <sub>6</sub> O <sub>3</sub> S	57,91	4,21	19,33	57,93	4,37	19,31
15	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> N <sub>6</sub> O <sub>3</sub> S	57,91	4,41	19,29	57,93	4,37	19,31
16	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> N <sub>6</sub> O <sub>2</sub> S	56,61	4,68	21,93	56,54	4,71	21,99
17	C <sub>23</sub> H <sub>18</sub> N <sub>6</sub> O <sub>7</sub> S	50,03	3,27	20,37	50,18	3,30	20,35

і 0,01 моль гідразиду ацетатної, бензойної, 4-нітробензойної, піридин-3- і піридин-4-карбонових кислот в 50 мл пропанолу нагрівають протягом 30 год, залишають на 48 год при кімнатній температурі, осади продуктів реакції відфільтровують.

ІЧ-спектри синтезованих сполук визначали у таблетках калію броміду (концентрація речовини 1 %) на спектрофотометрі Specord M-80 в ділянці 4000-500  $\text{cm}^{-1}$  (умови сканування: цільова програма 3.0, постійна часу –  $\tau=3$  с, час сканування – 33 хв). Таблетки готували шляхом спільного розтирання 200 мг калію броміду і 2 мг досліджуваної сполуки з наступним пресуванням. ПМР-спектри визначали на спектрофотометрі ядерного магнітного резонансу Varian VXR-300, розчинник DMSO- $D_6$ , на внутрішній стандарт – тетраметилсилан. Температуру плавлення визначали капілярним способом за НФУ на приладі ПТП (М).

Дослідження антиоксидантної активності (АОА) синтезованих сполук проводили *in vitro* методом неферментативного ініціювання вільнорадикального окиснення (ВРО), її оцінювали за концентрацією ТБК-реактивів (ТБК – тіобарбітурова кислота) [2]. Контрольну пробу готували аналогічно, але без додавання досліджуваних сполук. Як препарат порівняння використовували аскорбінову кислоту.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Будову синтезованих сполук підтверджено зустрічним синтезом (в разі отримання сполук 1-3), а також комплексним використанням елементного аналізу (див. табл. 1), ІЧ-спектроскопії та ПМР-

спектрометрії. В ІЧ-спектрах синтезованих сполук 3-17 відсутні характерні для гідразидів 2-(4-R-5-R<sub>1</sub>-1,2,4-тріазол-3-ілтію)ацетних кислот (1) смуги поглинання  $\text{NH}_2$ -груп у межах 3550-3200  $\text{cm}^{-1}$ . Також були відсутні смуги при 1750-1735  $\text{cm}^{-1}$ , що свідчили б про наявність складної естерної групи  $-\text{CH}_2-\text{COOR}$ . Натомість спостерігались дуже чіткі смуги Амід I при 1670-1650  $\text{cm}^{-1}$  і смуги Амід II при 1570-1550  $\text{cm}^{-1}$  [1].

Результати вивчення АОА сполук 3-17 вказують на те, що заміна в п'ятому положенні 1,2,4-тріазолового циклу метильного радикала (сполука 5) на 4-нітрофенільний замісник (речовина 9) знижувала показник АОА, натомість введення по даному положенню 4-піридинового субституента (сполуки 3, 5, 9, 11, 16, 17) посилювало досліджувану біологічну дію, а введення фуранового кільця дещо зменшувало АОА. Сполуками-лідерами в даному ряді є N'-(2-(4-R-5-R<sub>1</sub>-1,2,4-тріазол-3-ілтію)ацето)гідразиди (12, 16). АОА цих сполук на 12 і 16 % перевищувала активність еталону порівняння – аскорбінової кислоти.

**ВИСНОВКИ.** 1. Розроблено ефективний спосіб отримання, синтезовано і підтверджено будову ряду N'-(2-(4-R-5-R<sub>1</sub>-1,2,4-тріазол-3-ілтію)ацето)гідразидів.

2. Вивчено антиоксидантну активність даного класу сполук та виявлено речовини, які перевищують еталон порівняння – аскорбінову кислоту.

3. Встановлено деякі закономірності між хімічною будовою і досліджуваною біологічною дією.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Казицина Л.А., Куплетская Н.Б. Применение УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии в органической химии. – М.: Высш. шк., 1971. – 264 с.
2. Лук'ячук В.Д., Савченкова Л.В., Немитих О.Д. та ін. Пошук і експериментальне вивчення потенційних протигіпоксичних засобів // Методичні рекомендації. – ДФЦ МОЗ України, 2002. – 26 с.
3. Панасенко О.І. Синтез, перетворення, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних 1,2,4-тріазолу: Дис. ... д-ра фармац. наук. – К., 2005. – 396 с.

4. Пат. 20388 Україна, С 07D 413/12 А 61 К 31/41. Морфоліній 3-(4-піридил)-1,2,4-тріазоліл-5-тіоацетат, що виявляє антиоксидантну, церебропротективну та кардіопротекторну активність / Візір А.Д., Візір В.А., Дроговоз С.М., Зайченко Г.В., Лозюк Л.В., Головін В.О., Філімонов В.І., Кечин І.Л., Книш Є.Г., Панасенко О.І., Мартиновський О.О., Краснов Є.І. – № 97052457; Заявл. 28.05.97; Опубл. 15.04.02, Бюл. № 4.

# СИНТЕЗ И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ N'-(2-(4-R-5-R<sub>1</sub>-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ИЛТИО)АЦЕТО)ГИДРАЗИДОВ

А.Г. Каплаушенко<sup>1</sup>, Д.С. Кравец<sup>2</sup>, Л.В. Чадова<sup>2</sup>  
ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ<sup>1</sup>  
ЛУГАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ<sup>2</sup>

## Резюме

Синтезирован ряд N'-(2-(4-R-5-R<sub>1</sub>-1,2,4-триазол-3-илтио)ацето)гидразидов, структура которых подтверждена встречным синтезом, элементным анализом, ИК-спектроскопией и ПМР-спектрометрией. Для полученных соединений изучена антиоксидантная активность. Установлена взаимосвязь между строением синтезированных соединений и их антиоксидантным действием.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: 1,2,4-триазолы, антиоксидантная активность.

# SYNTHESIS AND ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF N'-(2 (4-R-5-R<sub>1</sub>-1,2,4-TRIAZOL-3-ILTHIO) ACETO) HYDRAZIDES

A.H. Kaplaushenko<sup>1</sup>, D.S. Kravets<sup>2</sup>, L.V. Chadova<sup>2</sup>  
ZAPORIZHYAN STATE MEDICAL UNIVERSITY<sup>1</sup>  
LUHANSK STATE MEDICAL UNIVERSITY<sup>2</sup>

## Summary

We had synthesized a number of N'-(2-(4-R-5-R<sub>1</sub>-1,2,4-triazol-3-ilthio) aceto)hydrazides. Their structure had been confirmed by counter synthesis, ultimate analysis, IR-spectroscopy and PMR-spectrometry. We had studied the antioxidative activity for the obtained compounds. We have established the regularity between chemical structure of the synthesized compounds and their antioxidative action.

KEY WORDS: 1,2,4-triazols, antioxidative activity.

Отримано 20.02.2008 р.

Адреса для листування: А.Г. Каплаушенко, Запорізький державний медичний університет, пр. Маяковського, 26, Запоріжжя, 69035, Україна.

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

## СИНТЕЗ І ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ 5-БРОМ-3-СУЛЬФАМОЇЛ-2-ХЛОРБЕНЗОАТІВ ЗАМІЩЕНИХ 9-АМІНО-5-НІТРОАКРИДИНІЮ

С.Г. Ісаєв, Н.П. Кобзар, Л.В. Брунь, С.Г. Таран, Н.Ю. Шевельова, О.В. Антоненко  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Здійснено синтез метилзаміщених 9-аміно-5-нітроакридинію 5-бром-3-сульфамоїл-2-хлорбензоатів. Будову 9 синтезованих сполук підтверджено даними елементного аналізу та ІЧ-спектрів. Чистоту контролювали методом тонкошарової хроматографії. Встановлено, що синтезовані речовини проявляють бактеріостатичну, діуретичну, протизапальну та анальгетичну активність. За класифікацією К.К. Сидорова синтезовані речовини при внутрішньошлунковому введенні належать до класу малотоксичних сполук ( $DL_{50} > 1500-2000$  мг/кг). Дослідження свідчать про перспективність пошуку біологічно активних речовин у даному ряді хімічних сполук.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: синтез, солі 9-аміноакридину, фармакологічна активність.

ВСТУП. Похідні 9-аміноакридину – відомі протимікробні засоби [2, 17], дія яких зумовлена інактивацією ДНК. Бактеріостатична активність похідних акридину ґрунтується на здатності зв'язування з нуклеїновими кислотами, що зумовлює їх вплив на епісомальні генетичні елементи бактерій [2]. Результати попередніх досліджень [1, 2, 4-16] свідчать про те, що сполуки катіонно-аніонної будови, до складу яких входять заміщені 9-аміноакридину, проявляють високу протимікробну, протизапальну, жовчогінну, антиоксидантну активність і потенціюють дію антибіотиків. З огляду на вищенаведене, об'єктом досліджень було обрано солі, що містять у своєму складі як катіонну частину метилзаміщені 9-аміно-5-нітроакридинію, як аніонну – 5-бром-3-сульфамоїл-2-хлорбензойні кислоти.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Заміщені 9-аміноакридинію 5-бром-3-сульфамоїл-2-хлорбензоати (I-IX) синтезовано шляхом зливання гарячих етанольних розчинів відповідних кислот із заміщеними 9-аміноакридину (рис. 1). Будову та індивідуальність підтверджено даними елементного, ІЧ-спектрального та хроматографічного аналізу. Як свідки при хроматографуванні використовували вихідні речовини. В ІЧ-спектрах солей (I-IX) спостерігаються смуги поглинання, які підтверджують катіонно-ані-

онний характер синтезованих солей:  $1650-1622$   $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu^{as} \text{COO}^-$ ),  $1438-1407$   $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu^s \text{COO}^-$ ),

$3038-3016$   $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{NH, NH}_2}^+$ ),  $3406-3226$   $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{NH, NH}_2}$ ). Наведені ІЧ-спектральні характеристики свідчать на користь солеутворення по азоту гетероциклу, а не аміногрупи, що узгоджується з даними літератури (табл. 1). Дані елементного аналізу відповідають розрахованим.

Гостру токсичність синтезованих солей (I-IX) вивчали при внутрішньошлунковому їх введенні білим мишам [3]. Протизапальну активність досліджували на моделі карагенінового набряку в мишей у дозах 10 та 25 мг/кг. Препаратом порівняння обрано диклофенак натрію. Анальгетичну дію вивчали на білих безпородних щурах на моделі гарячої пластинки [3]. Досліджувані речовини вводили внутрішньошлунково у дозі 0,1  $DL_{50}$ . Як препарат порівняння було використано анальгін.

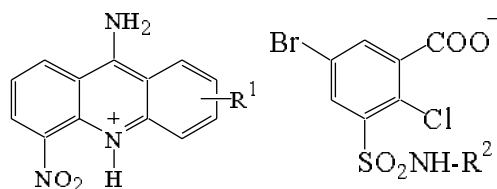
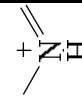


Рис. 1. Метилзаміщені 9-аміно-5-нітроакридинію 5-бром-3-сульфамоїл-2-хлорбензоати (I-IX).

© С.Г. Ісаєв, Н.П. Кобзар, Л.В. Брунь, С.Г. Таран, Н.Ю. Шевельова, О.В. Антоненко, 2008.

Таблиця 1 – Фізико-хімічні, ІЧ-спектральні, хроматографічні та фармакологічні характеристики метилзаміщених 9-аміно-5-нітроакридинію 5-бром-3-сульфамойл-2-хлорбензоатів

Сполука	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Вихід, %	Максимуми поглинання в ІЧ-спектрах, см <sup>-1</sup>						Протизапальна активність, % у дозі		Анальгетична активність, % у дозі 0,1 DL <sub>50</sub> мг/кг	R <sub>t</sub> *
					$\frac{\alpha s}{V s} \text{COO}^-$	$\frac{\alpha s}{V s} \text{NO}_2$	$\frac{\alpha s}{V s} \text{SO}_2$	N <sub>св</sub>	N <sub>сo</sub>	10 мг/кг	25 мг/кг		
I	1-CH <sub>3</sub>	H	90	1645 1428	1500 1316	перекр. 1105	1604	535	0	0	0	0,28	
II	1-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	93	1632 1420	1518 1306	перекр. 1100	1596	560	0	17,7±4,0	28,4	0,24	
III	1-CH <sub>3</sub>	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> -H	87	1622 1420	1526 1310	перекр. 1115	1596	542	-	-	-	0,22	
IV	1-CH <sub>3</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> -H	85	1632 1418	1518 1302	перекр. 1120	1590	545	0	9,3±1,9	42,6	0,24	
V	1-CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> OH	89	1626 1407	1516 1296	перекр. 1118	1594	545	0	-	21,6	0,23	
VI	2-CH <sub>3</sub>	H	90	1632 1426	1502 1318	перекр. 1106	1600	542	0	16,2±3,1	33,5	0,30	
VII	2-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	92	1635 1422	1526 1316	1296 1105	1598	546	9,0±1,2	29,3±4,8	36,1	0,27	
VIII	3-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	89	1638 1430	1528 1320	1302 1110	1600	548	9,2±1,3	14,1±3,0	30,1	0,22	
IX	4-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	93	1650 1438	1530 1326	1306 1108	1605	544	0	0	0	0,20	
	Диклофенак натрію (DE <sub>50</sub> =8 мг/кг)			-	-	-	-	-	-	37,5	-	-	
	Мефенамова кислота у дозі 100 мг/кг			-	-	-	-	-	-	30,0	-	-	
	Анальгін (DE <sub>50</sub> =55мг/кг)			-	-	-	-	-	-	-	52,0	-	

Примітка. \* – значення R<sub>t</sub> наведено в системі розчинників етанол-гексан-хлороформ-етилацетат (2:2:2:1).

Таблиця 2 – Діуретична, бактеріостатична активність та гостра токсичність метилзаміщених 9-аміно-5-нітроакридинію 5-бром-3-сульфамойл-2-хлорбензоатів

Сполука	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Діуретична активність, у дозі 50 мг/кг	Бактеріостатична, МПК, мкг/мл <sup>1</sup>								DL <sub>50</sub> , мг/кг (внутрішньо-шлунково)	
				1	2	3	4	5	6	7	8		
I	1-CH <sub>3</sub>	H	121,5±4,2	62,5	125	15,6	62,5	62,5	62,5	62,5	31,2	62,5	>2000
II	1-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	189,7±7,7	62,5	62,5	31,2	62,5	–	–	–	–	–	>1500
III	1-CH <sub>3</sub>	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> -н	–	15,6	62,5	7,8	62,5	62,5	31,2	31,2	31,2	–	–
IV	1-CH <sub>3</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> -н	244,5±11,3	125	125	62,5	125	–	–	–	–	–	>1500
V	1-CH <sub>3</sub>	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> OH	246±9,4	15,6	31,2	7,8	62,5	–	–	–	–	–	>1500
VI	2-CH <sub>3</sub>	H	162,1±70,1	31,2	62,5	31,2	125	–	–	–	–	–	>1500
VII	2-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	218,4±9,8	62,5	125	31,2	62,5	62,5	62,5	62,5	31,2	–	>1500
VIII	3-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	204±8,0	31,2	125	31,2	125	–	–	–	–	–	>1500
IX	4-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	80,7±2,8	31,2	125	31,2	125	–	–	–	–	–	>2000
Етакридину лактат			–	31,2	15,6	31,2	62,5	125	250	125	125	–	21 (внутрішньо-черевно)
Гіпотіазид у дозі 50 мг/кг			212	–	–	–	–	–	–	–	–	–	320

Примітка. Як тест-мікроорганізми використовували:

1. *Staphylococcus aureus*.
2. *Bacillus subtilis*.
3. *Escherichia coli*.
4. *Pseudomonas aeruginosa*.
5. *Salmonella choleraesuis*.
6. *Salmonella dublin*.
7. *Salmonella thyphimurium*.
8. *Salmonella thyphisuis*.

Діуретичний ефект у нових сполук та гіпотіазиду вивчали на білих щурах за методом Е.Б. Берхіна [3]. Тварини контрольної групи отримували водне навантаження 1 мл на 20 г маси тіла. Щурам 2-ї та 3-ї груп за 30 хв до водного навантаження вводили внутрішньо-черевно досліджувані сполуки або гіпотіазид у дозі 5 мг/кг у вигляді 3-5 % водної суспензії, стабілізованої твіном-80. Показником інтенсивності сечовиділення слугувала кількість сечі, яку виділили тварини за 4 год.

Дослідження бактеріостатичної активності проводили *in vitro* за методикою двократних серійних розведень у рідкому живильному середовищі [3].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** За класифікацією К.К. Сидорова метилзаміщені 9-аміно-5-нітроакридинію 5-бром-3-сульфамойл-2-хлорбензоати при внутрішньошлунковому введенні належать до малотоксичних речовин, їх DL<sub>50</sub> >1500-2000 мг/кг (табл. 2).

Результати проведених мікробіологічних досліджень показали, що солі (I-IX) відносно золотистого стафілокока, сінної, кишкової та синьогнійної паличок інгібують ріст мікроорганізмів у концентрації 7,8-125 мкг/мл. Факт наявності досить високої бактеріостатичної дії на кишкову паличку став поштовхом до дослідження впливу сполук (I, III, VII) на кишкову групу патогенних бактерій. Для цього було використано чотири штами роду *Salmonella* (*Salmonella dublin*, *S. choleraesuis*, *S. thyphimu-*

*rium*, *S. thyphisuis*). Як свідчать результати досліджень, солі (I, III, VII) інгібують ріст сальмонел у концентрації 31,2-62,5 мкг/мл і перевищують за дією етакридину лактат (див. табл. 2).

Таким чином, метилзаміщені 9-аміно-5-нітроакридинію 5-бром-3-сульфамойл-2-хлорбензоати проявляють високий рівень інгібуючої дії на кишкову паличку і мікроорганізми роду *Salmonella*, їх бактеріостатична активність визначається як катіонною, так і аніонною частинами молекули.

Солі метилзаміщених 9-аміно-5-нітроакридинію (IV, V, VII, VIII) проявляють діуретичні властивості у дозі 50 мг/кг на рівні гіпотіазиду (див. табл. 2).

Фармакологічний скринінг на протизапальну активність виявив одну сіль (VII) з антиексудативною дією на рівні мефенамової кислоти. Солі (IV, VI-VIII) також проявляють помірну анальгетичну активність, але за ефектом вони поступаються анальгіну (див. табл. 1).

**ВИСНОВКИ.** 1. З метою пошуку нових біологічно активних речовин здійснено синтез солей на основі метилзаміщених 9-аміно-5-нітроакридинію і 5-бром-3-сульфамойл-2-хлорбензойних кислот та встановлено їх будову сучасними інструментальними та фізико-хімічними методами.

2. Фармакологічний скринінг виявив сполуки з високою бактеріостатичною, діуретичною та помірною протизапальною, анальгетичною активністю.



## ЛІТЕРАТУРА

1. Бризицький О.А., Ісаєв С.Г., Свєчнікова О.М. та ін. Бензоати 6,9-діаміно-2-етоксіакридинію, їх синтез та біологічна активність // Мед. хімія. – 2002. – 4, № 2. – С. 43-46.
2. Волянський Ю.Л., Крестецько С.Л. Перспективи створення протимікробних препаратів на основі акридину і фенантридину // Мед. хімія. – 2002. – 4, № 3. – С. 92-98.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. О.В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.
4. Ісаєв С.Г. Методи синтезу, будова та біологічна активність похідних 5-нітроакридину // Фармац. журн. – 1999. – № 3. – С. 52-54.
5. Ісаєв С.Г. Синтез та біологічна активність 5-нітро-9-тіоакридинів: Зб. наук. статей "Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки і практики". – Запоріжжя, 2004. – Вип. 12. – С. 35-38.
6. Ісаєв С.Г. Фармакологічна активність заміщених 5-нітро-9-[2'оксі-2'-п-(нітрофеніл)-етил]аміноакридину // Ліки. – 2001. – № 3/4 – С. 72-74.
7. Ісаєв С.Г., Волкова Н.О., Алексеева Т.В. та ін. Біологічна активність нових похідних 5-нітро-9-N-R-аміноакридину // Ліки. – 2001. – № 5/6. – С. 86-88.
8. Ісаєв С.Г. Синтез, строение и антимікробная активность производных 5,7-дибромакридина // Лекарства-человеку. – Минск, 1999. – 12, № 1. – С. 77-79.
9. Ісаєв С.Г., Яременко В.Д., Садова Л.В., Долгарева Е.А. Получение, физико-химические свойства и биологическая активность гидразидов 3-нитро-N-фенилантралиновых кислот и 5-нітро-9-N-арил-аминопроизводных акридина // Лекарства-человеку. – 2000. – 12, № 1. – С. 59-64.
10. Кобзар Н.П., Ісаєв С.Г., Шевельова Н.Ю., Алексеева Л.М. Синтез і біологічні властивості солей на основі заміщених 9-аміноакридину та 5-бром-3-сульфамойл-N-фенілантралинових кислот // Фармац. журн. – 2005. – № 5. – С. 76-80.
11. Павлій О.О., Ісаєв С.Г., Бєвз Н.Ю. та ін. Фармакологічна активність 4-карбоксималонанілатів та адипінатів заміщених 9-аміноакридинію // Ліки. – 2002. – №1/2. – С. 34-37.
12. Пат. № 10454 Україна, МПК С07Д 219/08, А61К 31/435. 2-етокси-6,9-діаміноакридинію галогенбензоати, що проявляють антимікробну, протизапальну, антиоксидантну, мембраностабілізуючу та кардіопротекторну активність / С.Г. Ісаєв, В.Д. Яременко, О.П. Тимошенко та ін. (Україна). Заявл. 14.04.94; Опубл. 25.12.96; Бюл. № 4. – 8 с.
13. Пат. № 46181 Україна, МПК С07Д 219/08, 219/10, А61К 31/435. Похідні 4-метил-5-нітроакридину, що проявляють антимікробну та жовчогінну активність / І.С. Шульга, С.Г. Ісаєв, С.М. Дрогвоз та ін. (Україна). – Заявл. 02.08.98; Опубл. 15.05.02; Бюл. № 5. – 6 с.
14. Пат. № 48073 Україна, МПК С07Д 219/10, А61К 31/435. N-Ацетил-антранілати 2-етокси-6,9-діаміноакридинію, які проявляють антимікробну активність / С.Г. Ісаєв, Н.О. Волкова, І.А. Зупанець та ін. (Україна). – Заявл. 06.12.89; Опубл. 15.08.02; Бюл. № 8. – 5 с.
15. Пат. № 48689А Україна, МПК С07Д 219/08, А61К 31/435. 6,9-діаміно-2-етоксіакридинію 3,5-динітро-N-(4-етоксифеніл)антранілат, що проявляє антимікробну, протизапальну, анальгетичну, діуретичну активність та потенціюючу дію у відношенні до бензилпеніциліну натрієвої солі / С.Г. Ісаєв, І.А. Зупанець, Л.В. Ярцева та ін. (Україна). – Заявл. 15.08.02; Опубл. 15.08.02; Бюл. № 8. – 3 с.
16. Ткач А.О., Ісаєв С.Г., Миронюк П.Л. Тригідроксibenзоати заміщених 9-аміно-5-нітроакридинію, їх синтез та бактериостатична активність: Зб. наук. статей "Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки і практики". – Запоріжжя, 2001. – Вип. 7. – С. 90-95.
17. Choulga I.S., Issaev S.G. Les antipaludiques de synthese. – Kharkov, 1994. – 20 s.

## СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ 5-БРОМ-3-СУЛЬФАМОИЛ-2-ХЛОРБЕНЗОАТОВ ЗАМЕЩЕННЫХ 9-АМИНО-5-НИТРОАКРИДИНИЯ

С.Г. Ісаєв, Н.П. Кобзарь, Л.В. Брунь, С.Г. Таран, Н.Ю. Шевелева, О.В. Антоненко  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

### Резюме

Осуществлен синтез метилзамещенных 9-амино-5-нитроакридиния 5-бром-3-сульфамойл-2-хлорбензоатов. Строение 9 синтезированных веществ подтверждено данными элементного анализа и ИК-спектров. Чистоту контролировали методом тонкослойной хроматографии. Установлено, что синтезированные вещества проявляют бактериостатическую, диуретическую, противовоспалительную и анальгетическую активность. По классификации К.К. Сидорова, синтезированные вещества при

внутрижелудочном введении относятся к классу малотоксичных соединений ( $DL_{50} > 1500-2000$  мг/кг). Исследования свидетельствуют о перспективности поиска биологически активных веществ в данном ряду химических соединений.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: синтез, соли 9-аминоакридина, фармакологическая активность.

## SYNTHESIS AND RESEARCH OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF 5-BROM-3-SULFAMOYL-2-CHLOROBENZOATES SUBSTITUTED 9-AMINO-5-NITROACRIDINE

S.H. Isayev, N.P. Kobzar, L.V. Brun, S.H. Taran, N.Yu. Shevelyova, O.V. Antonenko  
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

### Summary

The synthesis of methylsubstituted 9-amino-5-nitroacridine 5-brom-3-sulfamoyl-2-chlorobenzoates was carried out. The composition of 9 synthesized compounds was proved by the data of element analysis and their IR-spectra. The purity was controlled by the method of thin-layer chromatography. It was established that the synthesized substances have bacteriostatic, diuretic, antiinflammatory and analgetic activity. According to classification by K.K. Sydorov, synthesized compounds at their intrastomach entering belong to low toxic compounds ( $DL_{50} > 1500-2000$ mg/kg). These investigations testify to prospects of search of biologically active substances among the given chemical compounds.

KEY WORDS: synthesis, salts of 9-aminoacridines, pharmacological activity.

Отримано 31.10.2007 р.

Адреса для листування: С.Г. Ісаєв, Національний фармацевтичний університет, вул. Мельникова, 12, Харків, 61002, Україна.

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

## СИНТЕЗ ТА ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНА АКТИВНІСТЬ 5'-НІТРОТІАЗОЛІЛ-2-АМІДІВ 1-R-4-ГІДРОКСИ-2-ОКСО-1,2-ДИГІДРОХІНОЛІН-3-КАРБОНОВИХ КИСЛОТ

**І.В. Українець, Л.В. Сидоренко, Л.О. Петрушова**  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

*Реакцією 1-R-4-гідрокси-3-карбетокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолінів з 5-нітротіазоліламіном здійснено синтез відповідних тіазоліл-2-амідів 1-R-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот. Обговорюються результати протитуберкульозної активності.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** аміді, 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонові кислоти, 5-нітротіазоліл-2-аміни, протитуберкульозна активність.

**ВСТУП.** Здатність похідних 5-нітротіазоліл-2-аміну активно знищувати патогенну мікрофлору широко застосовується практичною медициною в хіміотерапії різноманітних інфекційних захворювань [10, 11, 13, 16, 19, 21, 23]. Ніридазол, тенонітрозол, нітазоксанід, нітазол – ось далеко не повний перелік лікарських препаратів цієї групи. Разом з тим, нам так і не вдалося знайти бодай одне посилання щодо вивчення протитуберкульозної активності похідних означеної молекулярної системи, хоча інтерес (принаймні теоретичний) до таких досліджень, на наш погляд, досить очевидний. Крім того, обнадійливі результати одержано і при вивченні антимікобактеріальних властивостей незаміщених та метил-(карбетокси-метил-, арил-)заміщених тіазоліл-2-амідів 1-R-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот [5, 6-8].

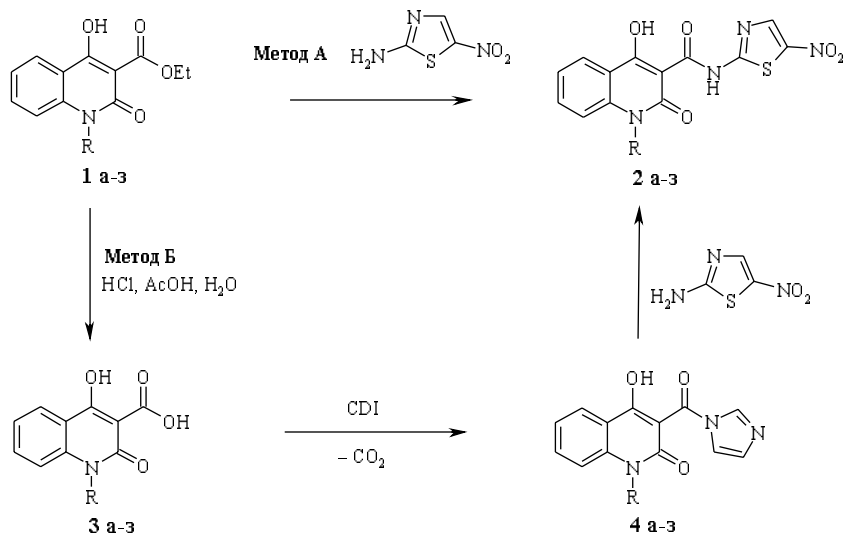
**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Враховуючи сказане вище, нами здійснено поєднання в одній молекулі двох біологічно активних гетероциклів – 5-нітротіазоліл-2-аміну та 1-R-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот, мета якого – подальші мікробіологічні випробування синтезованих сполук на культурі *Mycobacterium tuberculosis*.

Незважаючи на значну термолабільність 5-нітротіазоліл-2-аміну, 5'-нітротіазоліл-2-амідів 1-R-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот (2, табл. 1, 2) можна одержати традиційним методом, тобто амідуванням

1-R-4-гідрокси-3-етоксикарбоніл-2-оксохінолінів (1) за умов термолізу (метод А). Як було показано раніше [4], такі реакції зручніше проводити за присутності невеликої кількості ДМФА, що забезпечує краще перемішування реагентів і, крім того, запобігає місцевим перегріванням реакційної суміші, тим самим попереджуючи побічну реакцію – термічну циклізацію вихідних ефірів 1 в 5,9-ди-R-6,7,8-триоксодихіноліно-[3,4-b;3',4'-e]-4H-пірани [3]. Однак одержані таким чином сполуки мають буре забарвлення, позбавитися якого не вдається навіть після багаторазової кристалізації. Беручи до уваги дану обставину, виправдовує себе тристадійна синтетична схема, яка передбачає проведення ацилювання в більш м'яких умовах (схема 1).

1-R-4-Гідрокси-3-етоксикарбоніл-2-оксохіноліни (1), як відомо, надзвичайно стійкі до лужного гідролізу [2], тому першу стадію синтезу – їх перетворення у відповідні кислоти 3 – здійснювали в розчині хлористоводневої кислоти в оцтовому ангідриді (тобто фактично в розчині HCl в оцтовій кислоті з низьким вмістом води) за відомою методикою [14].

Наступна активація кислотної компоненти сполук 3 N,N'-карбонілдіімідазолом (CDI) дозволяє 5'-нітротіазоліл-2-амідів 1-R-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот (2) з препаративно високими виходами та значно вищим ступенем чистоти (метод Б). Досить зазначити, що одержані таким чином



1-4: а R = H; б R = CH<sub>3</sub>; в R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>; г R = C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>; д R = C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>; е R = i-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>; ж R = C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>; з R = C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>  
 Схема 1.

5'-нітротіазоліл-2-аміди 2 мають вже не темно-буре забарвлення, як після методу А, а світло-жовте.

Використання CDI запропоноване й описане Штабом [9]. Основане воно на утворенні високореакційноздатних ацилімідазолів (у даному випадку 4), які здатні спонтанно реагувати з амінами, утворюючи відповідні аміди. Побічний продукт таких реакцій – вільний імідазол – легко розчиняється як у воді, так і в багатьох органічних розчинниках, тому проблем з очисткою кінцевих амідів, як правило, не виникає. При необхідності ацилімідазоли можна виділити в чистому вигляді [20], хоча зазвичай їх піддають подальшим хімічним перетворенням безпосередньо в реакційній суміші. Як відомо [1], імідазоліди знайшли широке застосування в органічному синтезі й для інших перетворень карбонових кислот, оскільки за реакційною здатністю їх можна порівняти з хлорангідритами, а працювати з ними набагато зручніше.

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.** Спектри ЯМР <sup>1</sup>H синтезованих речовин зареєстровані на спектрометрах Varian Mercury-VX-200 (199,97 МГц) в розчині ДМСО-D<sub>6</sub>, внутрішній стандарт – ТМС. Синтез вихідних етилових ефірів 1-R-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот (1) здійснено за відомою методикою [2].

5'-Нітротіазоліл-2-амід 4-гідрокси-1-метил-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбоної кислоти (2б). Метод А. Суміш 2,47 г (0,01 моль) етилового ефіру 4-гідрокси-1-метил-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбоної кислоти (1б), 1,45 г (0,01 моль) 5-нітротіазоліл-2-аміну та 1 мл ДМФА нагрівають на металічній бані при 160-

165 °С протягом 2 хв. Реакційну суміш охолоджують, додають 50 мл етанолу і ретельно перемішують. Осад утвореного 5'-нітротіазоліл-2-аміду 2б відфільтровують, промивають спиртом, сушать. Кристалізують з ДМФА.

Метод Б. До розчину 2,19 г (0,01 моль) 4-гідрокси-1-метил-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбоної кислоти (3б) в 15 мл ДМФА (використовували безводний ДМФА для пептидного синтезу фірми "Fluka") додають 1,62 г (0,01 моль) N,N'-карбонілдіімідазолу і витримують на металічній бані при температурі 80 °С до припинення виділення CO<sub>2</sub> (близько 60 хв). Після цього додають 1,45 г (0,01 моль) 5-нітротіазоліл-2-аміну і залишають на 2-3 год при температурі 80 °С. Реакційну суміш розбавляють холодною водою. Осад утвореного 5'-нітротіазоліл-2-аміду 2б відфільтровують, промивають холодною водою, сушать.

Змішана проба зразків 5'-нітротіазоліл-2-аміду 2б, одержаних різними методами, не дає депресії температури плавлення, їх спектри ЯМР <sup>1</sup>H ідентичні.

Аналогічна методика використана у синтезі інших 5'-нітротіазоліл-2-амідів 1-R-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот (2 а-з).

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Вивчення протитуберкульозних властивостей усіх синтезованих нами 5'-нітротіазоліл-2-амідів 1-R-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот здійснено в Національному інституті алергічних та інфекційних захворювань США в межах програми ТААСФ (Tuberculosis Antimicrobial Acquisition & Coordinating Facility). Мікробіологічні випробовування проведені in

Таблиця 1 – Характеристики 5'-нітротіазоліл-2-амідів  
1-R-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот (2 а-з)

Сполука	Емпірична формула	Т.пл., °С	Знайдено, %			Виразувано, %			Вихід за способом	
			С	Н	N	С	Н	N	А	Б
2а	C <sub>13</sub> H <sub>8</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> S	> 355	46,84	2,52	16,73	46,99	2,43	16,86	80	95
2б	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> S	317-319	48,48	2,98	18,27	48,55	2,91	18,18	74	91
2в	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> S	286-288	50,12	3,45	15,68	50,00	3,36	15,55	72	90
2г	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> S	264-266	51,24	3,70	14,89	51,33	3,77	14,97	70	87
2д	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> S	241-243	52,66	4,08	14,33	52,57	4,15	14,42	–	91
2е	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> S	260-262	52,70	4,04	14,30	52,57	4,15	14,42	–	89
2ж	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> S	225-227	53,64	4,62	13,88	53,72	4,51	13,92	–	90
2з	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> S	212-214	54,75	4,95	13,57	54,80	4,84	13,45	–	94

Таблиця 2 – Спектри ЯМР <sup>1</sup>H 5'-нітротіазоліл-2-амідів  
1-R-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот (2 а-з)

Сполука	ОН (1H, с)	NH (1H, с)	Спектри ЯМР <sup>1</sup> H, δ, м.д.					Наром. тіазолу (1H, с)	R
			Наром. хінолону				R		
			5-Н (1H, д)	7-Н (1H, τ)	8-Н (1H, д)	6-Н (1H, τ)			
2а	15,12	14,38	8,01	7,78	7,40	7,33	8,64	12,44 (1H, с, NH)	
2б	15,24	14,42	8,14	7,80	7,74	7,32	8,60	3,70 (3H, с, Me)	
2в	15,18	14,38	8,11	7,81	7,75	7,35	8,62	4,44 (2H, к, NCH <sub>2</sub> ); 1,31 (3H, τ, Me)	
2г	15,28	14,34	8,15	7,84	7,72	7,33	8,60	4,31 (2H, τ, NCH <sub>2</sub> ); 1,70 (2H, м, NCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ); 1,01 (3H, τ, Me)	
2д	15,20	14,35	8,17	7,86	7,71	7,43	8,61	4,32 (2H, τ, NCH <sub>2</sub> ); 1,54 (4H, м, (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Me); 0,96 (3H, τ, Me)	
2е	15,17	14,40	8,18	7,88	7,69	7,44	8,53	4,21 (2H, д, NCH <sub>2</sub> ); 2,25 (1H, м, CH); 0,97 (6H, д, Me x 2)	
2ж	15,22	14,45	8,16	7,89	7,70	7,45	8,58	4,24 (2H, τ, NCH <sub>2</sub> ); 1,65 (2H, кв, NCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ); 1,36 (4H, м, (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Me); 0,93 (3H, τ, Me)	
2з	15,23	14,25	8,14	7,87	7,67	7,41	8,57	4,29 (2H, τ, NCH <sub>2</sub> ); 1,64 (2H, кв, NCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ); 1,38 (6H, м, (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> Me); 0,90 (3H, τ, Me)	

vitro на штамх Mycobacterium tuberculosis H37Rv ATCC 27294 з використанням радіометричної системи ВАСТЕС 460 та живильного середовища ВАСТЕС 12В [12, 15, 17, 18, 22].

Експериментальні дані першого етапу досліджень (первинного мікробіологічного скринінгу – всі речовини тестують в початковій концентрації 12,5 мкг/мл (останнім часом вона знижена до 6,25 мкг/мл) на штамх Mycobacterium tuberculosis H37Rv ATCC 27294) наведені в таблиці 3. В ряду 5'-нітротіазоліл-2-амідів 1-R-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот на увагу заслуговують тільки дві сполуки – 1Н- (2а) та 1-гексильне (2з) похідні.

Згідно з прийнятими в ТААСФ критеріями, на другий етап досліджень (визначення дійсної мінімальної інгібуючої концентрації – МІК) потрапляють тільки ті речовини, які в концен-

трації 12,5 чи 6,25 мкг/мл затримують розвиток мікобактерій туберкульозу не менш ніж на 90 %. За цим показником тільки 5'-нітротіазоліл-2-амід 1-гексил-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонової кислоти (2з) переведений на наступний етап, оскільки перспективними, як правило, вважаються зразки з МІК ≤ 1 мкг/мл.

Одночасно з визначенням дійсної МІК на другому рівні сполуки піддають випробуванню на цитотоксичність (IC<sub>50</sub>) при концентраціях 10xМІК відносно Mycobacterium tuberculosis H37Rv. Результати представляють у вигляді індексу селективності (SI), що визначають як відношення цитотоксичності до МІК. Задовільними звичайно вважають речовини, індекс селективності яких складає не менше 10. Цитотоксичність 5'-нітротіазоліл-2-аміду 1-гексил-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-

Таблиця 3 – Антимікробна активність 5'-нітротіазоліл-2-амідів 1-R-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот (2 а-з)

Сполука	Mycobacterium tuberculosis H37Rv ATCC 27294	
	Затримка росту в концентрації 12,5 мкг/мл, %	МІК, мкг/мл
2а	99	3,13
2б	2	–
2в	99	12,5
2г	0	–
2д	0	–
2е	0	–
2ж	4	–
2з	100	0,78

карбонової кислоти (2з) просто не вдалось визначити з причини недостатньої розчинності досліджуваного зразка у водному ДМСО.

**ВИСНОВКИ.** 1. Показано, що термічно нестійкі 5'-нітротіазоліл-2-аміди доцільно одержувати взаємодією 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот з 5-нітротіазоліл-2-аміном в середовищі безводного

ДМФА та за присутності N,N'-карбонілдіімідазолу, хоча можливий і термоліз складно-ефірної та аміної компонент. Хімічна будова синтезованих сполук підтверджена даними елементного аналізу і спектрами ЯМР <sup>1</sup>H.

2. За результатами мікробіологічних досліджень серед синтезованих сполук виявлені речовини з високою протитуберкульозною активністю.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Общая органическая химия / Под ред. Бартона и У.Д. Оллиса. – Т. 4. Карбоновые кислоты и их производные. Соединения фосфора / Под ред. О.И. Сазерленда: Пер. с англ. – М.: Химия, 1983. – С. 47-52.

2. Українець І.В., Горохова О.В., Таран С.Г. и др. 4-Оксихинолоны-2. 22. Синтез и биологические свойства 1-алкил(арил)-2-оксо-3-карбетокси-4-гидроксихинолинов и их производных // Химия гетероцикл. соединений. – 1994. – № 7. – С. 958-966.

3. Українець І.В., Таран Е.А., Шишкин О.В. и др. 4-Оксихинолоны-2. 43. Термоліз етилових ефіров 1-R-2-оксо-4-гидроксихинолин-3-карбоновых кислот // Химия гетероцикл. соединений. – 2000. – № 4. – С. 516-522.

4. Українець І.В., Таран С.Г., Горохова О.В. и др. 4-Оксихинолоны-2. 40. Синтез и биологические свойства анилидов <sup>1</sup>H-2-оксо-4-гидроксихинолин-3-карбоновой кислоты // Химия гетероцикл. соединений. – 2000. – № 2. – С. 203-206.

5. Українець І.В., Горлачева І.В., Горохова О.В. та ін. Синтез та біологічні властивості метилзаміщених тіазоліл-2-амідів 1-R-2-оксо-4-гідроксихінолін-3-карбонових кислот // Фармац. журн. – 2000. – № 1. – С. 75-80.

6. Українець І.В., Петрушова Л.О., Горохова О.В. та ін. 4'-Карбетоксиметилтіазоліл-2-аміди 1-R-2-оксо-4-гідроксихінолін-3-карбонових кислот. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості // Вісник

фармації. – 2003. – № 3 (35). – С. 24-28.

7. Українець І.В., Петрушова Л.О., Сидоренко Л.В., Горохова О.В. Синтез та біологічні властивості тіазоліл-2-амідів 1-R-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот // Вісник фармації. – 2006. – № 1 (45). – С. 3-7.

8. Українець І.В., Петрушова Л.О., Сидоренко Л.В., Горохова О.В. Синтез та вивчення закономірностей взаємозв'язку "будова – протитуберкульозна дія" в ряду 4-арилзаміщених тіазоліл-2-амідів 1-R-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот // Журн. орган. та фармац. хімії. – 2006. – Т. 4, вип. 1 (13). – С. 49-54.

9. Физер Л., Физер М. Реагенты для органического синтеза: Пер. с англ. – М.: Мир, 1970. – Т. 2. – С. 119-121.

10. Bialek R., Overkamp D., Rettig I., Knobloch J. Case report: Nitazoxanide treatment failure in chronic isosporiasis // Am. J. Trop. Med. Hyg. – 2001. – **65**, № 2. – P. 94-95.

11. Cimerman S., Laderia M.C., Iuliano W.A. Blastocystosis: nitazoxanide as a new therapeutic option // Rev. Soc. Bras. Med. Trop. – 2003. – **36**, № 3. – P. 415-417.

12. Collins L., Franzblau S.G. Microplate alamar blue assay versus BACTEC 460 system for high-throughput screening of compounds against Mycobacterium tuberculosis and Mycobacterium avium // Antimicrob. Agents Chemother. – 1997. – **41**. – P. 1004-1009.

13. Grover J.K., Vats V., Uppal G., Yadav S. Anthelmintics: a review // Trop. Gastroenterol. – 2001. – **22**, № 4. – P. 180-189.
14. Jonsson S., Andersson G., Fex T. et al. Synthesis and biological evaluation of new 1,2-dihydro-4-hydroxy-2-oxo-3-quinolinecarboxamides for treatment of autoimmune disorders: structure-activity relationship // J. Med. Chem. – 2004. – **47**, № 8. – P. 2075-2088.
15. Heifets L.B. Drug susceptibility test in the management of chemotherapy of tuberculosis // In: Drug Susceptibility in the Chemotherapy of Mycobacterial Infections / Ed. Heifets L.B. – Boca Raton: CRC Press, 1991. – P. 89-122.
16. Hof H., Stroder J. Antibacterial activity of GO 10213, a Nitroimidazole derivate // Antimicrob. Agents Chemother. – 1986. – **29**, № 5. – P. 953-954.
17. Inderleid C.B., Nash K.A. Antimycobacterial agents: in vitro susceptibility testing, spectra of activity, mechanisms of action and resistance, and assays for activity in biological fluids // In: Antibiotics in Laboratory Medicine / 4-th ed. – Ed. Lorian V. – Baltimore: Williams and Wilkins, 1996. – P. 127-175.
18. Inderleid C.B., Salfinger M. Antimycobacterial agents and susceptibility tests: mycobacteria // In: Manual of Clinical Microbiology / Ed. Murray P.R., Baron E.J., Tenover F.C., Tenover R.H. – Washington D.C.: ASM Press, 1995. – P. 1385-1404.
19. McVay C.S., Rolfe R.D. In vitro and in vivo activities of nitazoxanide against *Clostridium difficile* // Antimicrob. Agents Chemother. – 2000. – **44**, № 9. – P. 2254-2258.
20. Pat. 4959363 USA. Quinolonecarboxamide compounds, their preparation and use as antivirals / Wentland M.P. – Опубл. 25.09.90. // <http://ep.espacenet.com>
21. Pat. 5925622 USA. Synthesis of aryl glucuronide of 2-hydroxy-N-(5-nitro-2-thiazolyl)benzamide, and pharmaceutical compositions comprising same / Rossignol J.-F., Ayers M.S. – Опубл. 20.07.99 // <http://ep.espacenet.com>
22. Siddiqui S.H. Radiometric (BACTEC) tests for slowly growing mycobacteria // In: Clinical Microbiology Procedures Handbook / Ed. Isenberg H.D. – Washington D.C.: American Society for Microbiology, 1992. – **1**. – P. 5 14 2-5 14 25.
23. Ternansky R.J., Jordan C.L., Eudaly J.A., Kasher J.S. Synthesis and anaerobic activity of novel 1-carba-1-dethiacephalosporins // J. Med. Chem. – **36**, № 16. – P. 2332-2334.

## СИНТЕЗ И ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНАЯ АКТИВНОСТЬ 5'-НИТРОТИАЗОЛИЛ-2-АМИДОВ 1-R-4-ГИДРОКСИ-2-ОКСО-1,2-ДИГИДРОКИНОЛИН-3-КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

**И.В. Украинец, Л.В. Сидоренко, Л.А. Петрушова**  
ХАРЬКОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

### Резюме

Реакцией 1-R-4-гидрокси-3-карбэтокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолинов с 5-нитротиазолиламином осуществлен синтез соответствующих тиазолил-2-амидов 1-R-4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновых кислот. Обсуждаются результаты противотуберкулезной активности.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: амиды, 4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновые кислоты, 5-нитротиазолил-2-амины, противотуберкулезная активность.

## SYNTHESIS AND ANTI-TUBERCULOSIS ACTIVITY OF 5'-NITROTHIAZOLYL-2-AMIDES OF 1-R-4-HYDROXY-2-OXO-1,2-DIHYDROQUINOLINE-3-CARBOXYLIC ACIDS

**I.V. Ukrainets, L.V. Sydorenko, L.O. Petrushova**  
NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

### Summary

The synthesis of thiazolyl-2-amides of 1-R-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolines-carboxylic acids has been carried out by reaction of 1-R-4-hydroxy-2-oxo-3-carbaethoxy-1,2-dihydroquinolines with 5-nitrothiazolylamines. The results of anti-tuberculosis activity have been discussed.

KEY WORDS: amides; 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acids, 5-nitrothiazolyl-2-amines, anti-tuberculosis activity.

Отримано 20.02.2008 р.

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

## РАНОЗАГОЮВАЛЬНА АКТИВНІСТЬ МАЗІ З ОЛІЄЮ АРОНІЇ ЧОРНОПЛІДНОЇ НА МОДЕЛІ РІЗАНОЇ РАНИ У ЩУРІВ

Д.В. Семенів, Г.В. Белік, Я.О. Бутко  
ІВАНО-ФРАНКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

*На моделі лінійної різаної рани у щурів вивчено ранозагоювальні властивості мазі з олією аронії чорноплідної. У ході експерименту встановлено, що досліджуваний препарат проявляє ранозагоювальну дію і має перевагу над референс-препаратом – обліпиховою олією. Отримані дані є перспективними для подальшого вивчення мазі з олією аронії чорноплідної з метою застосування її при лікуванні ранового процесу.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** рани, обліпихова олія, ранозагоювальна активність, поліфенольні сполуки.

ВСТУП. Незважаючи на значні успіхи, досягнуті за останні роки в лікуванні ран, місцева терапія з використанням існуючого асортименту лікарських засобів не завжди є ефективною. Це пов'язано з невідповідністю багатьох ліків лікувально-фармацевтичним вимогам до лікування ран [10].

Одним із шляхів вирішення цієї проблеми є створення і вивчення нових ефективних ранозагоювальних засобів на основі природних сполук. Природні компоненти, які входять до складу таких препаратів, завдяки широті фармакологічної дії і низькій токсичності проявляють м'яку комплексну дію на: 1-шу фазу ранового процесу – запалення (альтерація, ексудація, проліферація); 2-гу – репарації та 3-тю – епітелізації і утворення рубця, рідше викликають побічні реакції, ніж синтетичні засоби, що дозволяє забезпечити ефективне і безпечне лікування ранового процесу [9].

За даними літератури [3, 7] відомо, що найбільш оптимальною лікарською формою для місцевого лікування ран є мазі завдяки ряду переваг: проявляють місцеву дію, можна вводити до їх складу різні за механізмом, фармакодинамікою гідрофільні й ліпофільні речовини, регулювати, за рахунок мажевої основи, їх вивільнення і біодоступність, вводити речовини, які проявляють потенціуючу дію, керувати ефективністю і безпечністю препаратів. Особливо цим якостям відповідають мазі при-

© Д.В. Семенів, Г.В. Белік, Я.О. Бутко, 2008.

родного походження. Крім того, мазі фітохімічної природи дешевші. Як правило, вони містять комплекс біологічно активних сполук, які мають різнобічну дію на рановий процес: проти-запальну, репаративну, антимікробну, антиоксидантну [1, 2].

Враховуючи спрямованість фармакологічно активних речовин аронії чорноплідної, перспективним є створення м'якої лікарської форми з олією плодів аронії чорноплідної.

Аналіз даних літератури про фітохімічний склад аронії [3, 5, 8] показав наявність у її плодах поліфенольних сполук, каротиноїдів, оксикоричних кислот, дубильних і пектинових речовин, цукрів, антиоксидантів, мікроелементів і вітамінів, що дозволяє ліпофільному екстракту з плодів горобини чорноплідної проявляти протизапальні, антимікробні, антиоксидантні, антиалергічні, коагулюючі властивості, у тому числі й ранозагоювальні.

Метою даної експериментальної роботи було вивчення репаративної активності мазі з олією аронії чорноплідної, тому що її ранозагоювальні властивості передбачають здатність впливати на 2-гу фазу ранового процесу – репарації.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Репаративну активність мазі з олією аронії чорноплідної вивчали на моделі лінійних різаних ран у щурів. Дана модель є найбільш інформативною щодо патології ран людини – різана рана [4].



Враховуючи склад і фармакологічні властивості мазі, яку досліджували, як референс-препарат було використано обліпихову олію (Київський вітамінний завод).

Дослід проводили на 28 білих безпородних щурах масою 190-220 г. Усіх тварин було поділено на 4 групи по 7 щурів у кожній: 1-ша – інтактні тварини; 2-га – контрольні щури, яких не лікували; на рану тварин 3-ї експериментальної групи накладали мазь з олією аронії чорноплідної в дозі 0,45 г; тваринам 4-ї групи – референс-препарат обліпихову олію в аналогічній дозі. Дану дозу мазей було встановлено при проведенні скринінгових досліджень з вивчення протизапальної активності препарату.

Для відтворення лінійної рани щурам під барбаміловим наркозом (0,8 мл 1 % водного розчину барбамілу на 100 г маси тіла) в асептичних умовах (операційну ділянку обробляли 5 % спиртовим розчином йоду) ножицями робили розріз шириною 7x3 см<sup>2</sup>. Препарати наносили в лікувальному режимі 2 рази на добу протягом 5-ти днів з моменту моделювання патології. На 5-й день щурів виводили з експерименту і вирізали депільовану ділянку шкіри з утвореним рубцем [4].

За допомогою ранотензіометра випробували міцність рубцювання країв рани. Репаративну активність розраховували за формулою:

$$A_p = \frac{(M_d - \Delta M_k) \cdot 100 \%}{\Delta M_k}$$

де  $A_p$  – репаративна активність, %;

$\Delta M_k$  – навантаження, при якому розходився шов у щурів групи контрольної патології;

$\Delta M_d$  – навантаження, при якому розходився шов у експериментальних тварин.

У зв'язку з тим, що одним з факторів, які визначають швидкість репаративних процесів, є білковий обмін, доцільним було провести розрахунок вмісту загального білка. Даний показник визначали в сироватці крові за біуретовою реакцією [6].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Результати експериментальних тензіометричних і біохімічних методів дослідження з вивчення репаративних властивостей мазі з олією аронії чор-

ноплідної представлено в таблиці 1 і на рисунку 1.

При проведенні експериментальних досліджень було встановлено, що мазь з олією аронії чорноплідної проявила більш виражену активність порівняно з референс-препаратом, про що свідчила достовірно велика міцність рубцевої тканини, яка відповідала показнику тензіометрії 419 г, що в 1,7 раза перевищував даний показник у групі тварин з контрольною патологією (див. табл. 1).

На даній моделі ранового процесу мазь з олією аронії чорноплідної проявила більш виражену репаративну активність (68 %) порівняно з обліпиховою олією (42 %).

Розвиток ранового процесу супроводжувався зміною білкового обміну, що підтверджувалось біохімічними показниками – на 5-й день дослідження відмічалось зменшення вмісту загального білка в сироватці крові в 1,3 раза в групі щурів контрольної патології (див. рис. 1).

За даними літератури [3, 10] відомо, що в механізмі порушення білкового обміну значну роль відіграє надмірне прискорення процесу протеолізу в рані, в результаті чого загоєння рани затягується, підвищується активність протеаз і продуктів деградації фібрину та фібриногену. До складу плодів аронії чорноплідної входять незамінні амінокислоти: лізин, треонін, валін, метіонін, лейцин, ізолейцин, фенілаланін, які сприяють синтезу білків, пригнічують протеолітичні ферменти [5]. Тому біологічно активні речовини аронії чорноплідної здатні прискорювати процеси загоєння ран, що і було підтверджено в наших експериментальних дослідженнях. Нанесення препаратів на пошкоджені ділянки шкіри сприяло посиленню білоксинтетичних процесів. Так, під впливом мазі з олією аронії чорноплідної рівень загального білка у сироватці крові підвищився в 1,3 раза, обліпихової олії – в 1,2 раза порівняно з групою тварин контрольної патології (див. рис. 1).

Таким чином, в результаті проведених експериментальних досліджень з вивчення репаративних властивостей мазі з олією аронії чорноплідної на моделі лінійної різаної рани в щурів було встановлено, що даний фармако-

Таблиця 1 – Репаративна активність мазі з олією аронії чорноплідної на моделі лінійної різаної рани у щурів, n=7

Умови досліджу	Показники тензіометрії, г	Репаративна активність, %
Контрольна патологія	250,0±23,61	–
Мазь з олією аронії	419,0±20,14*	68
Обліпихова олія	354,3±19,44*	42

Примітка. \* – відхилення вірогідні відносно контрольної патології,  $p \leq 0,05$ .

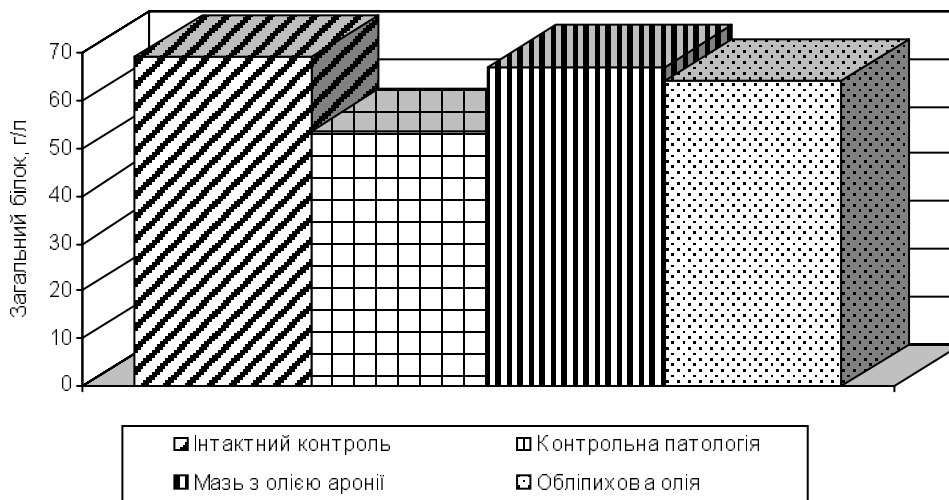


Рис. 1. Вплив мазі з олією аронії чорноплідної на вміст загального білка в сироватці крові.

логічний препарат аронії чорноплідної проявив репаративну активність і перевищував референс-препарат на 26 %. Отримані результати підтверджені позитивними клінічними випробуваннями мазі з олією аронії чорноплідної.

Дана активність мазі з олією аронії чорноплідної зумовлена перш за все впливом поліфенольних сполук, каротиноїдів, незамінних амінокислот, які входять до складу ліпофільної фракції аронії чорноплідної [1, 8]. Під впливом цих речовин при місцевому нанесенні мазі на ранову поверхню посилюється синтез білка, що створює сприятливі умови для утворення

колагену, що зумовлює ранозагоювальні властивості мазі з олією аронії чорноплідної.

**ВИСНОВКИ.** 1. На моделі лінійних ран у щурів встановлено, що мазь з олією аронії чорноплідної проявляє репаративні властивості.

2. За репаративною активністю мазь з олією аронії чорноплідної перевершує референс-препарат – обліпихову олію.

3. Репаративна активність проявляється за рахунок фармакологічно активних речовин (поліфенольних сполук, каротиноїдів), які входять до складу дослідженої мазі.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Белоногова В.Д., Корепанова Н.С., Олешко Г.И. и др. Некоторые аспекты изучения биологически активных веществ и фармакологических свойств лекарственных растений // *Вопр. биол. мед. и фарм. химии.* – 2003. – № 4. – С. 16-24.
2. Бессчетнов В.П., Никитина Г.П., Жуков Ю.В. Облепиха, шиповник, черноплодная рябина. – Алма-Ата: Кайнар, 1989. – С. 182-231.
3. Горчакова Н.О., Олійник С.А., Гаркава К.Г. Антиоксидантні засоби – необхідні компоненти комплексної фармакотерапії // *Фітотерапія в Україні.* – 2000. – № 1. – С. 7-13.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.
5. Запрометов М.Н. Фенольные соединения: Распространение, метаболизм и функции в растениях. – М.: Наука, 1993. – 272 с.

6. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: В 2 т. – Мн.: Беларусь, 2000. – Т. 1. – 495 с.
7. Колесник А.А., Елизарова Л.Г. Динамика антоциановых пигментов в плодах черноплодной рябины // *Фенольные соединения и их биологические функции.* – М., 1968. – С. 233.
8. Куянцева А.М., Давыдов В.С., Левшин В.И. Исследование некоторых фармакологических свойств густого экстракта жомы плодов аронии черноплодной // *Материалы V Всерос. съезда фармацевтов: Тез. докл.* – Ярославль, 1987. – С. 456-457.
9. Раны и раневая инфекция: Руководство для врачей / Под ред. М.И. Кузина, Б.М. Костюченко. – 2-е изд. – М.: Медицина, 1990. – 592 с.
10. Теория и практика местного лечения гнойных ран (проблемы лекарственной терапии) / Под ред. Б.М. Даценко. – К.: Здоров'я, 1995. – 383 с.

## РАНОЗАЖИВЛЯЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ МАЗИ С МАСЛОМ АРОНИИ ЧЕРНОПЛОДНОЙ НА МОДЕЛИ РЕЗАНОЙ РАНЫ У КРЫС

Д.В. Семенов, Г.В. Белик, Я.А. Бутко  
ИВАНО-ФРАНКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

### Резюме

На модели линейной резаной раны у крыс изучены ранозаживляющие свойства мази с маслом арони черноплодной. В ходе эксперимента установлено, что исследуемый препарат проявляет ранозаживляющее действие и превосходит референс-препарат – облепиховое масло. Полученные данные являются перспективными для дальнейшего изучения мази с маслом арони черноплодной с целью применения ее в лечении раневого процесса.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: раны, облепиховое масло, ранозаживляющая активность, полифенольные соединения.

## REPARATIVE ACTIVITY OF OINTMENT CONTAINING ARONIA MELANOCARPA OIL ON THE MODEL OF CUT-INDUCED WOUND IN RATS

D.V. Semeniv, H.V. Belik, Ya.O. Butko  
IVANO-FRANKIVSK STATE MEDICAL UNIVERSITY  
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

### Summary

The reparative activity of ointment containing Aronia melanocarpa oil in cut-induced wounds in rats was investigated. It was learnt that drug which is under study has reparative activity and it is more effective than the drug of reference – Hippophaae oil. The results obtained prove that further investigation of ointment containing Aronia melanocarpa oil as a drug for treatment of wound process is useful.

KEY WORDS: wound, Hippophaae oil, reparative activity, polyphenolic compounds.

Отримано 31.03.2008 р.

Адреса для листування: Я.О. Бутко, Національний фармацевтичний університет, вул. Мельникова, 12, Харків, 61002, Україна.

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

## ВПЛИВ БЛОКАТОРА ОПІАТНИХ РЕЦЕПТОРІВ НАЛОКСОНУ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ ПРОЦЕСУ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ ТА СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В ПОШКОДЖЕНОМУ АДРЕНАЛІНОМ СЕРЦІ ЗАЛЕЖНО ВІД СТАТІ

Г.С. Сатурська

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

*Введення кардіотоксичної дози адреналіну викликає накопичення дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду в щурів різної статі. Реакція системи антиоксидантів проявляється активацією супероксиддисмутази і каталази, а також зростанням вмісту сульфгідрильних груп. Ізольоване застосування налоксону в дозі 1 мг/кг не вплинуло на функціонування систем про- та антиоксидантів. При моделюванні адреналінового пошкодження міокарда у самців і самок на тлі блокування опіатних рецепторів налоксоном спостерігається зниження вмісту продуктів ліпопероксидації у міокарді, що відображає менш інтенсивні мембраноруйнівні та деструктивні процеси, а також вищу активність антиоксидантної системи, що проявилася зростанням активності ферментів супероксиддисмутази, каталази і вмісту сульфгідрильних груп. Вираження цього впливу було більшим у самок, що свідчить про залежність ефектів препарату від статі.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** міокард, адреналінове пошкодження, налоксон, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантна система.

ВСТУП. Патологія серцево-судинної системи залишається найактуальнішою для сучасної медицини, адже дана група захворювань впродовж останніх десятиліть домінує в статистичних звітах ВООЗ про смертність та інвалідизацію працездатної частини населення. Вирішення проблеми профілактики та лікування найтяжчих ускладнень патології серця можливе через проведення широкомасштабних досліджень препаратів, що мають здатність змінювати активність регуляторних систем. Вченими доведено, що одним із механізмів, які визначають високу природну резистентність організму до гіпоксичних та катехоламінових уражень міокарда, є переважання у них холінергічних регуляторних впливів [5, 9]. Зростає кількість наукових досліджень, які доводять суттєву відмінність у перебігу некротичного процесу в міокарді залежно від статі, виявлено переважання впливів парасимпатичної ланки автономної нервової системи у щурів-самок, що сприяє розвитку в них кращих компенсаторно-адаптаційних механізмів за умов серцевої патології [9, 11].

До біологічно активних речовин, що проявляють кардіопротекторну дію, відносять опіоїдні

пептиди. Опіатні рецептори (ОР) ідентифіковано в серці, й після того як було отримано дані про наявність у тканині серця опіоїдних пептидів [3], інтерес науковців до цієї проблеми значно зріс.

У наших попередніх дослідженнях ми показали вплив активації периферичних ОР на процеси ліпопероксидації і стан антиоксидантної системи при моделюванні адреналінового пошкодження міокарда (АПМ) у щурів різної статі [8], проте невивченим залишається стан про- та антиоксидантної систем за умов блокади ОР.

Метою наших досліджень було вивчення активності пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидантного захисту в серці тварин різної статі в динаміці АПМ за умов блокади ОР налоксоном.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Досліди провели на нелінійних лабораторних щурах різної статі масою 190-210 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Усі експерименти та евтаназію тварин проводили з дотриманням “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених на Першому національному конгресі з біоетики (Київ, 2001) [2].

АПМ викликали шляхом внутрішньом'язового введення кардіонекрозогенної дози адреналіну (1 мг/кг) [5, 9]. Спостереження проводили на 1 та 24 год після ін'єкції, оскільки початок некротизування кардіоміоцитів спостерігається через 1 год після введення адреналіну, а через добу досягає повного розвитку [6]. За 30 хв до моделювання АПМ тваринам внутрішньо-очеревинно вводили конкурентний блокатор ОР налоксон в дозі 1 мг/кг [7]. Тварин було поділено на групи: інтактні (I) самці й самки; контрольні групи тварин, яким вводили тільки налоксон ( $K_{\text{налоксон}}$ ); самці й самки, яким АПМ моделювали без попередньої блокади ОР; тварини, яким вводили адреналін на тлі блокади ОР налоксоном. Активність ПОЛ в серці оцінювали за вмістом в міокарді шлуночків діє-нових кон'югатів (ДК) та малонового діальдегіду (МДА), активність антиоксидантної системи (АОС) – за активністю супероксиддисмутази (СОД), каталази (КАТ) та вмістом SH-груп в гомогенаті шлуночків. Результати оброблено параметричними методами варіаційної статистики з визначенням t-критерію Стьюдента [10].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** При моделюванні АПМ кардіотоксична доза адреналіну може реалізуватися як мінімум за рахунок двох механізмів. По-перше, через систему  $\beta$ -адрено-рецептор-аденілатциклаза, тобто за рахунок дії цАМФ і збільшення входу іонів кальцію;

по-друге, адреналін може модифікувати мембранний ліпідний бішар за рахунок активації ПОЛ. У цьому випадку в результаті окиснення надлишку адреналіну в адренохром утворюється семіхінон адреналіну, який може скидати електрон на кисень і генерувати утворення супероксидрадикала, що є важливим індуктором ПОЛ [1]. Активні форми кисню є небезпечними для клітин, тому існують захисні механізми, які реалізуються через функціонування АОС, що підтримує на постійному рівні окисні процеси в організмі. Тому при моделюванні АПМ у самців і самок спостерігається накопичення продуктів ліпопероксидації з одночасною реакцією системи антиоксидантів, як свідчать дані, наведені в таблицях 1 і 2.

У міокарді шлуночків самців на 1 год моделюваного АПМ концентрація ДК зросла на 21,9 %, МДА – на 23,4 %. На період піку некротичних змін (24 год АПМ) спостерігалось подальше нагромадження ДК та МДА і відмінність від контролю збільшилася, відповідно, до 28,6 та 59,3 %. Реакція АОС міокарда самців на 1 год експерименту проявилася підвищенням активності СОД на 12,1 % і КАТ – на 34,8 %, вміст SH-груп переважав показник інтактних тварин на 10,1 %. Через добу активність СОД у самців переважала аналогічний показник інтактних самців на 14,8 %, КАТ – на 40,2 %, а вміст SH-груп продовжував зростати і становив на 37,6 % більше, ніж у групі інтактних тварин.

Таблиця 1 – Вміст ДК та МДА в міокарді шлуночків самців і самок при розвитку АПМ

Показник	Самці			Самки		
	I	АПМ 1 год	АПМ 24 год	I	АПМ 1 год	АПМ 24 год
	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=7
ДК, відн.од.	146,8±2,4	179,0±4,2	188,8±5,0	142,8±3,9	157,8±4,4	175,7±4,8
	1	2	3	4	5	6
МДА, ммоль/кг	4,18±0,18	5,10±0,19	6,58±0,24	3,92±0,16	5,07±0,26	5,63±0,29
	7	8	9	10	11	12

Примітка.  $p_{1,2}<0,001$ ;  $p_{1,3}<0,001$ ;  $p_{4,5}<0,05$ ;  $p_{4,6}<0,001$ ;  $p_{2,5}<0,01$ ;  $p_{7,8}<0,01$ ;  $p_{7,9}<0,001$ ;  $p_{10,11}<0,01$ ;  $p_{10,12}<0,001$ ;  $p_{9,12}<0,05$ .

Таблиця 2 – Показники АОС міокарда шлуночків самців і самок при розвитку АПМ

Показник	Самці			Самки		
	I	АПМ 1 год	АПМ 24 год	I	АПМ 1 год	АПМ 24 год
	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=7
СОД, од.акт.	13,8±0,4	15,5±0,4	15,8±0,5	14,5±0,2	16,8±0,3	15,7±0,3
	1	2	3	4	5	6
КАТ, мкат/кг	64,7±2,4	87,2±2,1	90,7±2,7	66,8±3,7	91,2±3,6	93,3±3,4
	7	8	9	10	11	12
SH, ммоль/кг	3,15±0,08	3,47±0,10	3,33±0,15	3,28±0,15	4,62±0,18	4,73±0,18
	13	14	15	16	17	18

Примітка.  $p_{1,2}<0,01$ ;  $p_{1,3}<0,01$ ;  $p_{2,5}<0,02$ ;  $p_{4,5}<0,01$ ;  $p_{4,6}<0,01$ ;  $p_{7,8}<0,001$ ;  $p_{7,9}<0,001$ ;  $p_{10,11}<0,001$ ;  $p_{10,12}<0,001$ ;  $p_{13,14}<0,05$ ;  $p_{13,15}<0,001$ ;  $p_{14,17}<0,001$ ;  $p_{16,17}<0,001$ ;  $p_{16,18}<0,001$ .

Дещо менш інтенсивні процеси ліпопероксидації спостерігали у міокарді шлуночків самок. Так, на 1 год АПМ рівень ДК зріс лише на 10,5 %, а МДА – на 29,4 %, а через 24 год концентрація ДК збільшилася на 23,0 %, МДА – на 43,8 %. Про активацію АОС на 1 год розвитку АПМ свідчило зростання активності СОД на 15,4 % і КАТ – на 36,4 %. Концентрація SH-груп була на 40,6 % більшою, ніж в інтактних самок. На 24 год спостереження за модельованою патологією активність СОД дещо знизилася і переважала аналогічний показник інтактних самок лише на 7,8 %, активність КАТ утримувалася на попередньому рівні й відрізнялася від контролю на 39,7 %, а вміст SH-груп був на 44,2 % більшим, ніж у групі інтактних самок.

При порівнюванні даних показників у групах інтактних тварин різної статі не було виявлено достовірних відмінностей за рівнем продуктів ПОЛ та активністю АОС. Однак за умов некрозу міокарда стан процесів ліпопероксидації та АОС мав суттєві відмінності у самців і самок. Так, на 1 год АПМ у шлуночках самців вміст ДК був більшим, ніж у самок, на 11,8 %. За рівнем МДА відмінність у групах тварин різної статі проявилася на 24 год АПМ, коли зростання цього показника у самців переважило зміни у самок на 14,6 %. При аналізі реакції АОС виявлено, що на етапі початкових некротичних змін (1 год АПМ) реакція була потужнішою у самок. Активність СОД у них була більшою на 8,5 %, а вміст SH-груп у міокарді шлуночків самок також переважав аналогічний показник у самців на 35,8 %. Активність каталази у самців і самок достовірно не відрізнялася на обох етапах модельованої патології.

Відмінності у функціонуванні про- та антиоксидантної систем за умов патології у тварин різної статі показують, що реалізація токсичного ефекту адреналіну супроводжується активацією ПОЛ у тварин обох статей та активацією ферментативної ланки системи антиоксидантного захисту. Ключовим ферментом цієї системи є СОД, яка каталізує реакцію знешкодження двох молекул супероксиданіона, перетворюючи одну з них в молекулярний кисень, а іншу – в пероксид водню (менш сильний окиснювач, ніж супероксиданіон). Тому СОД працює в парі з КАТ. SH-група цистеїну входить до складу глутатіону і, віддаючи атом водню, бере участь в пероксидазній реакції. Тому зростання вмісту SH-груп свідчить про наявність резервних можливостей АОС, спрямованих на захист організму від вільних радикалів. Однак більш інтенсивне та прогресуюче нагромадження переокисних метаболітів у міокарді шлуночків самців вказує на потужнішу пошкоджувальну дію адреналіну на тварин цієї статі. У самок головна роль у захисті мембран кардіоміоцитів уже на етапі початкових змін відводиться інтенсивнішому зростанню активності СОД та концентрації SH-груп, що, очевидно, і стримує подальше нагромадження переокисів. У самців даний захисний ефект АОС менший, що виявляє недостатність пристосувально-компенсаторних реакцій за умов АПМ.

При неселективній блокаді ОР налоксоном (НАЛ) спостерігалися певні зміни процесів ліпопероксидації і стану АОС у тварин обох статей у процесі моделювання АПМ, тоді як ізольоване введення НАЛ не вплинуло на вміст ДК, МДА та показники активності АОС у шлуночках самців і самок (табл. 3).

Таблиця 3 – Вплив налоксона на показники ПОЛ та АОС міокарда шлуночків самців і самок при АПМ

Показник		Інтактні	$K_{\text{налоксон}}$	АПМ, 1 год	АПМ, 24 год
		n=6	n=6	n=6	n=6
ДК, відн.од.	♂	146,8±2,4 <sub>1</sub>	145,5±2,6 <sub>2</sub>	171,7±2,9 <sub>3</sub>	182,2±3,4 <sub>4</sub>
	♀	142,8±3,9 <sub>5</sub>	145,2±3,7 <sub>6</sub>	154,8±2,6 <sub>7</sub>	170,7±3,4 <sub>8</sub>
МДА, ммоль/кг	♂	4,13±0,18 <sub>9</sub>	4,15±0,19 <sub>10</sub>	5,03±0,19 <sub>11</sub>	5,58±0,26 <sub>12</sub>
	♀	3,92±0,16 <sub>13</sub>	3,87±0,21 <sub>14</sub>	4,77±0,18 <sub>15</sub>	4,97±0,13 <sub>16</sub>
СОД, од.акт.	♂	13,8±0,3 <sub>17</sub>	14,0±0,4 <sub>18</sub>	16,9±0,4 <sub>19</sub>	16,3±0,4 <sub>20</sub>
	♀	14,5±0,2 <sub>21</sub>	14,3±0,3 <sub>22</sub>	18,1±0,3 <sub>23</sub>	18,0±0,4 <sub>24</sub>
КАТ, мкат/кг	♂	64,7±2,4 <sub>25</sub>	64,2±2,3 <sub>26</sub>	82,2±2,6 <sub>27</sub>	77,5±2,6 <sub>28</sub>
	♀	66,8±3,7 <sub>29</sub>	67,5±3,6 <sub>30</sub>	90,7±3,9 <sub>31</sub>	90,0±4,0 <sub>32</sub>
SH, ммоль/кг	♂	3,15±0,08 <sub>33</sub>	3,03±0,11 <sub>34</sub>	3,75±0,18 <sub>35</sub>	4,42±0,16 <sub>36</sub>
	♀	3,28±0,15 <sub>37</sub>	3,33±0,16 <sub>38</sub>	4,85±0,18 <sub>39</sub>	4,90±0,19 <sub>40</sub>

Примітка.  $p_{1-3} < 0,001$ ;  $p_{1-4} < 0,001$ ;  $p_{5-7} < 0,05$ ;  $p_{5-8} < 0,001$ ;  $p_{3-7} < 0,002$ ;  $p_{4-8} < 0,05$ ;  $p_{9-11} < 0,01$ ;  $p_{9-12} < 0,001$ ;  $p_{12-16} < 0,05$ ;  $p_{13-15} < 0,02$ ;  $p_{13-16} < 0,001$ ;  $p_{17-19} < 0,001$ ;  $p_{17-20} < 0,001$ ;  $p_{21-22} < 0,02$ ;  $p_{21-23} < 0,001$ ;  $p_{21-24} < 0,001$ ;  $p_{19-23} < 0,05$ ;  $p_{20-24} < 0,02$ ;  $p_{25-27} < 0,001$ ;  $p_{25-28} < 0,01$ ;  $p_{29-31} < 0,002$ ;  $p_{29-32} < 0,002$ ;  $p_{28-32} < 0,05$ ;  $p_{33-35} < 0,02$ ;  $p_{33-36} < 0,001$ ;  $p_{37-39} < 0,001$ ;  $p_{37-40} < 0,001$ ;  $p_{35-39} < 0,001$ .

На 1 год АПМ, що розвивалося на тлі блокади ОР, концентрація ДК в міокарді самців зросла на 16,9 %, вміст МДА збільшився на 21,8 %. Прогресування змін до 24 год АПМ характеризувалося подальшим нагромадженням ДК та МДА, і відмінність від контролю збільшилася, відповідно, до 24,1 і 31,1 %.

Моделювання АПМ у щурів-самців на тлі НАЛ спричинило такі зміни активності АОС. На 1 год активність СОД була більшою за показник інтактних самців на 22,7 %, активність КАТ зросла на 27,1 %, а вміст SH-груп – на 19,0 %. На 24 год експерименту активність СОД дещо зменшилася і перевищувала показник інтактних самців на 18,4 %, активність КАТ дещо знизилася, проте була більшою за контроль на 19,8 %, а вміст SH-груп продовжував зростати і відрізнявся від контролю на 40,2 %.

У самок на 1 год модельованого АПМ на тлі НАЛ вміст ДК в міокарді зріс на 8,4 %, а вміст МДА – на 21,7 %. Через добу прогресування некротичних змін у міокарді супроводжувалося подальшим нагромадженням ДК та МДА і відмінність від показника інтактних самок збільшилася, відповідно, до 19,5 і 26,8 %. Зміни функціонування АОС в період початкових некротичних змін проявилися збільшенням активності СОД на 24,3 %, КАТ – на 35,7 % проти аналогічного показника інтактних самок, а вміст SH-груп зріс на 47,7 % від показника інтактних тварин. У період піку некрозоутворення активність СОД та КАТ залишалася на попередньому рівні й перевищувала контрольні показники на 23,9 та 34,7 % відповідно. А вміст SH-груп утримувався на попередньому рівні й на 49,2 % був вищим, ніж у групі контрольних самок.

Порівнювання тварин різної статі показує достовірну відмінність вже на 1 год АПМ на тлі НАЛ. Вміст ДК був більшим у самців (на 9,8 %), ніж у самок. Прогресування патології зумовило подальше зростання концентрації ДК, і на 24 год кількість цього метаболіту була більшою у самців (на 6,3 %). Відмінність концентрації МДА між статями проявилася в період піку некрозоутворення і склала 11,0 %. АОС зреагувала інтенсивніше у самок, про що свідчать вища на 6,8 % активність СОД у них на 1 год АПМ, і збільшення цього розриву до 10,3 %. Активність КАТ виявилася також вищою у самок (на 16,1 %), ніж у самців, у період піку некрозоутворення. Вміст SH-груп на 1 год АПМ за умов блокади ОР був більшим у самок на 29,3 %, у подальшому цей показник зростав інтенсивніше у самців, і станом на 24 год експерименту достовірної відмінності між тваринами різної статі вже не спостерігалось.

Отримані результати показують, що реалізація токсичного ефекту адреналіну на тлі блокади ОР налоксоном характеризується накопиченням токсичних продуктів ПОЛ як у самців, так і в самок. Помічено закономірність, що ступінь накопичення продуктів ліпопероксидації був менш вираженим, ніж у групах тварин, де НАЛ не використовували. При порівнюванні тварин різної статі встановлено більш інтенсивне та прогресуюче накопичення ДК і МДА в міокарді шлуночків самців. Це може свідчити про те, що НАЛ у запропонованій дозі проявляє кардіопротекторний ефект і сприяє легшому перебігу модельованої патології. Причому даний ефект більш виражений у самок. Одним із механізмів стримування надмірної активації ПОЛ в особин жіночої статі була потужніша, ніж у самців, активація АОС. Оцінюючи вплив налоксону на стан ферментативної ланки АОС організму піддослідних тварин, особливу увагу приділяли СОД і КАТ, які беруть безпосередню участь в нейтралізації вільних радикалів.

У наших попередніх дослідженнях [8] було показано кардіопротекторний вплив синтетичного аналога лей-енкефаліну даларгіну при моделюванні АПМ. На перший погляд, може здатися парадоксальним наявність кардіопротекторного ефекту і в НАЛ, який є конкурентним блокатором ОР у даній патології. Проте деякі дослідники [4] позитивний ефект НАЛ на гемодинаміку пов'язують із блокадою центральних ОР, а захисну дію опіоїдів, які майже не проходять через гематоенцефалічний бар'єр, – з активацією периферичних ОР. В інтактних тварин ОР, очевидно, не зайняті ендogenousними лігандами, тому введення їм інгібіторів не викликає гемодинамічної відповіді. Позитивний ефект НАЛ може бути пов'язаний зі здатністю цього препарату знижувати рівень аденілатциклази [12], стримуючи надмірне надходження іонів кальцію в клітини, що відіграє провідну роль в реалізації кардіонекрозогенної дії адреналіну.

**ВИСНОВКИ.** 1. Введення кардіотоксичної дози адреналіну за умов блокади ОР налоксоном в дозі 1 мг/кг супроводжується накопиченням продуктів ПОЛ та активацією АОС, що свідчить про реалізацію негативного ефекту катехоламіну.

2. Моделювання АПМ при застосуванні блокатора опіатних рецепторів налоксону супроводжується менш інтенсивним нагромадженням продуктів ліпопероксидації та активацією системи антиоксидантів.

3. Ступінь впливу блокади ОР на функціонування про- та антиоксидантної систем більше

виражений в самок, що свідчить про гендерні аспекти даних процесів, які проявляються за умов патології.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов. – М.: Медицина, 1989. – 368 с.
2. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2003. – 8, № 1. – С. 142-145.
3. Зозуля А.А., Степура О.Б., Кост Н.В. и др. Эндогенные опиоиды при заболеваниях сердечно-сосудистой системы // Кардиология. – 1999. – 39, № 7. – С. 40-48.
4. Лишманов Ю.Б., Маслов Л.Н. Опиатергическая регуляция состояния центральной гемодинамики // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 2003. – № 1. – С. 2-10.
5. Маркова О.О. Миокардиодистрофия і реактивність організму. – Тернопіль: Укрмедкнига, 1998. – 150 с.
6. Мельник В.И., Глебов Р.Н. Динамика изменения Na,K-АТФазной активности в процессе развития вызванного изопроterenолом некроза миокарда крыс // Бюлл. exper. биол. и мед. – 1984. – № 8. – С. 184-186.
7. Осадчий О.Е., Покровский В.М., Челябинский И.Л., Курзанов А.Н. Действие метенкефалина на синусовую аритмию при залповом раздражении блуждающего нерва // Бюлл. exper. биол. и мед. – 1993. – № 7. – С. 4-6.
8. Сатурська Г.С., Хара М.Р. Вплив активатора опіатних рецепторів даларгіну на інтенсивність процесу ліпопероксидації в пошкодженому адреналіном серці залежно від статі // Здобутки клінічної та експериментальної медицини. – 2008. – 8, № 1. – С. 60-63.
9. Хара М.Р. Роль холинергічної системи в патогенезі адреналінової міокардіодистрофії у тварин різної статі: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Тернопіль, 2006. – 32 с.
10. Шевченко И.Т., Богатов О.П., Хрипта Ф.П. Элементы вариационной статистики для медиков. – К.: Здоров'я, 1970. – 107 с.
11. Andreotti F, Conti E., Lanza G.A., Crea F. Sex, survival bias, and mortality following acute myocardial infarction // Ital. Heart J. – 2003. – 4, № 8. – P. 508-510.
12. Effect of Low-Dose Naloxone Infusion on Fentanyl Requirements in Critically Ill Children / Cindy Darnell, Jennifer Thompson, Daniel Stromberg – <http://www.narcozona.ru/peredoz.html>

## ВЛИЯНИЕ БЛОКАТОРА ОПИАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ НАЛОКСОНА НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ПРОЦЕССА ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ И СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В ПОВРЕЖДЕННОМ АДРЕНАЛИНОМ СЕРДЦЕ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛА

**А.С. Сатурская**

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

#### Резюме

Введение кардиотоксической дозы адреналина вызывает накопление диеновых конъюгатов и малонового диальдегида у крыс разного пола. Реакция системы антиоксидантов проявляется активацией супероксиддисмутазы и каталазы, а также возрастанием содержания сульфгидрильных групп. Изолированное применение налоксона в дозе 1 мг/кг не повлияло на функционирование систем про- и антиоксидантов. При моделировании адреналинового повреждения миокарда у самцов и самок на фоне блокады опіатних рецепторів налоксонем наблюдается снижение содержания продуктов липопероксидации в миокарде, отображающее менее интенсивные мембраноразрушительные и деструктивные процессы, а также более высокую активность антиоксидантной системы, проявляющаяся возрастанием активности



ферментов супероксиддисмутази, каталазы и содержания сульфгидрильных групп. Выраженность этого влияния была большей у самок, что свидетельствует о зависимости эффектов препарата от пола.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** миокард, адреналиновое повреждение, налоксон, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система.

## **INFLUENCE OF OPIOID RECEPTORS BLOCKATOR NALOXONE ON INTENSITY OF LIPID PEROXIDATION PROCESS AND CONDITION OF ANTIOXIDANT SYSTEM IN THE HEART IMPAIRED BY ADRENALINE DEPENDING ON GENDER**

**H.S. Saturska**

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

### **Summary**

*The injection of cardiotoxic dose of adrenaline (1 mg/kg) leads to the accumulation of dien conjugates and malonic dialdehyde in myocardial tissue of different-sex rats. The reaction of antioxidant system showed the activation of superoxide dismutase, catalase and increase of SH-groupes concentration. Isolated application of naloxone in a dose 1 mg/kg did not influence upon lipid peroxidation process and functioning of antioxidant system. Previous injection of naloxone in a dose 1 mg/kg leads to accumulation of lipid peroxidation products due to more active reaction of the antioxidative system. Naloxone increases myocardial tolerance to the adrenaline damage of myocardium. The degree of this influence was greater in females, that testifies to dependence of naloxone effects on the gender.*

**KEY WORDS:** myocardium, adrenaline damage, naloxone, lipid peroxidation, antioxidant system.

Отримано 3.09.2008 р.

**Адреса для листування:** Г.С. Сатурська, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м.Воли, 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)**

## ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТА КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ДІЮЧИХ РЕЧОВИН В ТАБЛЕТКАХ КИСЛОТИ БУРШТИНОВОЇ З КИСЛОТОЮ АСКОРБІНОВОЮ ТА РУТИНОМ

М.В. Лелека, Т.А. Groшовий, Л.В. Вронська, Н.П. Свистун

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

*Розроблено методики ідентифікації та кількісного визначення кислоти бурштинової і аскорбінової кислоти та рутину в складі таблеток на їх основі.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** ідентифікація, кількісне визначення, кислота бурштинова, кислота аскорбінова, рутин.

**ВСТУП.** Поєднання аскорбінової і бурштинової кислот та рутину здатне забезпечити взаємне доповнення фармакологічних властивостей названих компонентів у напрямку розширення спектра фармакотерапевтичних ефектів, а розробка таблеток на їх основі розширить асортимент лікарських засобів адаптогенної дії, а також лікарських засобів для профілактики та лікування синдрому хронічної втоми [10, 11].

Перед нами стояло завдання дослідити оптимальні умови якісного та кількісного визначення діючих речовин таблеток на основі бурштинової і аскорбінової кислот та рутину [2, 4-6].

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Кислоту бурштинову ідентифікували з барій хлоридом в розчині, попередньо нейтралізованому аміаком. Експериментально доведено, що рутин і кислота аскорбінова не утворюють осадів з  $\text{BaCl}_2$  за цих умов, завдяки чому не перешкоджають ідентифікації кислоти бурштинової.

Для ідентифікації кислоти аскорбінової використали відому реакцію з розчином йоду, оскільки реакції ідентифікації, які описані в ДФУ, не дозволяють виявити кислоту аскорбінову в досліджуваній суміші. Рутин ідентифікували методом тонкошарової хроматографії.

Для кількісного визначення кислоти бурштинової застосовували методи:

– потенціометричне титрування стандартним розчином  $\text{NaOH}$  [8];

© М.В. Лелека, Т.А. Groшовий, Л.В. Вронська, Н.П. Свистун, 2008.

– кислотно-основне титрування стандартним розчином  $\text{NaOH}$  з індикатором фенолфталеїном.

Встановлено, що потенціометричне титрування має значні переваги, оскільки точка еквівалентності фіксується інструментально, що виключає похибку індикатора. Точність і правильність потенціометричного титрування вищі від класичного титрування з фенолфталеїном. Оскільки константи кислотності аскорбінової ( $K_{a1}^T=9,1 \cdot 10^{-5}$ ) і бурштинової ( $K_{a1}^T=1,6 \cdot 10^{-5}$ ); ( $K_{a2}^T=2,3 \cdot 10^{-6}$ ) кислот є одного порядку, то ці кислоти за обома іонами гідрогену титруються одночасно і на кривій потенціометричного титрування їм відповідає один стрибок.

Підтверджено, що рутин не впливає на потенціометричне визначення кислот.

Для вибору найбільш оптимального методу кількісного визначення кислоти аскорбінової досліджували титрування трьома титрантами [1, 3]:

– йодиметрично (пряме титрування стандартним розчином йоду);

– йодатометрично (пряме титрування стандартним розчином калій йодату);

– титрування стандартним розчином 2,6-дихлорфеноліндофенолятом натрію.

Експериментально встановлено, що найбільш оптимальними є умови йодатометричного титрування, оскільки воно проходить в кислому середовищі, коли рутин найменш розчинний і не надає жовтого відтінку розчину та дозволяє чітко фіксувати кінцеву точку титрування. При йодатометричному титруванні рутин

та кислота бурштинова не впливають на результати титрування кислоти аскорбінової.

Для вибору оптимальної методики визначення рутину експериментально було апробовано варіанти спектрофотометричного визначення [7, 9]. Водний розчин кислоти аскорбінової має у спектрі поглинання смугу з максимумом при довжині хвилі  $(243 \pm 2)$  нм. Спиртовий розчин кислоти аскорбінової – максимум поглинання в УФ-спектрі при  $(250 \pm 2)$  нм. Спиртовий розчин рутину – дві смуги поглинання з максимумом при  $(259 \pm 2)$  і  $(362,5 \pm 2)$  нм. Тому спектри обох речовин (кислоти аскорбінової і рутину) накладаються і пряме спектрофотометричне визначення рутину стає неможливим. Ось чому було вирішено застосувати методику диференціальної спектрофотометрії для визначення рутину. Суть даного методу полягає в зв'язуванні рутину в комплекс з  $AlCl_3$ , що дозволяє зсунути максимум поглинання у видиму ділянку спектра при довжині хвилі  $(412 \pm 2)$  нм, де кислота аскорбінова не впливає на кількісне визначення рутину. Як розчин порівняння використовували досліджуваний розчин, але без додавання алюмінію хлориду. Тобто погли-

нання всіх компонентів, крім рутину, в досліджуваному розчині буде компенсовано розчином порівняння.

Експериментально встановлено, що бурштинова та аскорбінова кислоти, створюючи кисле середовище і знижуючи розчинність рутину, не дозволяють повністю вилучати його спиртом з досліджуваної суміші. Тому вирішено було проводити вилучення рутину з таблетної маси спиртом, підлужненим  $0,1$  моль/дм<sup>3</sup> розчином NaOH.

Дослідження лінійності залежності оптичної густини від концентрації рутину у вимірювальному розчині проводили в межах діапазону вимірювання (оптичні густини від 0 до 1). Для цього готували серію стандартних розчинів і вимірювали оптичну густину. За результатами вимірювань (табл. 1) будували градувальний графік (рис. 1).

Як впливає з результатів дослідження, залежність оптичної густини від концентрації рутину не є випадковою (коефіцієнт кореляції  $R=0,9995$ ), графік практично проходить через початок координат (точка перетину з віссю ординат  $(a=-0,002)$ ), тангенс кута нахилу прямої

Таблиця 1 – Результати дослідження лінійності залежності оптичної густини від концентрації рутину

№ з/п	$C_i$ МКГ/МЛ	$A_{\text{вим}}$	$A_{\text{розр}}$	$ A_{\text{розр}} - A_{\text{вим}} $	$ A_{\text{розр}} - A_{\text{вим}} ^2$	
1	1	0,117	0,115	-0,002	0,000004	Коефіцієнт кореляції $R=0,999$ Залишкова сума квадратів відхилень $7,2 \cdot 10^{-5}$ Коефіцієнти рівняння лінійної залежності $a=-0,002$ $b=0,0117$
2	2	0,233	0,232	-0,001	0,000001	
3	3	0,345	0,349	0,004	0,000016	
4	4	0,461	0,466	0,005	0,000025	
5	5	0,585	0,583	-0,002	0,000004	
6	6	0,702	0,700	-0,002	0,000004	
7	7	0,820	0,817	-0,003	0,000009	
8	8	0,933	0,936	0,003	0,000009	

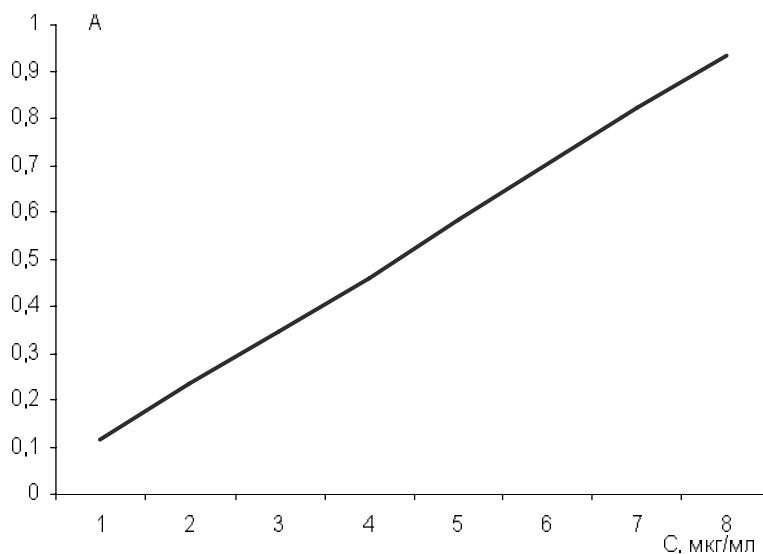


Рис. 1. Залежність оптичної густини розчину рутину з алюміній хлоридом від концентрації рутину.

є значним ( $b=0,0117$ ), що забезпечує високу точність і чутливість визначення; залишкова сума квадратів відхилень є незначущою.

Для кількісного визначення рутину так підбирали масу наважки препарату та розведення, щоб оптична густина досліджуваного розчину була в межах 0,4-0,5, тобто всередині ділянки дослідженої лінійності, а отже, діапазон застосування (від 80 до 120 %) повністю знаходився в межах лінійності.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** *Ідентифікація бурштинової і аскорбінової кислот та рутину.*

0,1 г порошку розтертих таблеток поміщають у плоскодонну колбу місткістю 100 мл, додають 50 мл води Р, струшують протягом 10 хв. Отриманий розчин фільтрують через паперовий фільтр "червона стрічка". У пробірку відбирають 2 мл фільтрату, нейтралізують аміаку розчином розведеним (контроль за універсальним індикаторним папірцем), додають 1 мл розчину барію хлориду Р1 (ДФУ, 4.1.1.), утворюється аморфний білий осад (кислота бурштинова).

0,1 г порошку розтертих таблеток поміщають у плоскодонну колбу місткістю 100 мл, додають 50 мл води Р, струшують протягом 10 хв. Отриманий розчин фільтрують через паперовий фільтр "червона стрічка". У плоскодонну колбу відбирають 10 мл фільтрату, при додаванні по краплях 0,05 моль/дм<sup>3</sup> розчину йоду коричневе забарвлення йоду зникає (кислота аскорбінова).

0,18 г порошку розтертих таблеток поміщають у конічну колбу місткістю 50 мл, додають 20 мл 96 % спирту етилового, закривають поліетиленовим корком і струшують протягом 10 хв. Отримане спиртове вилучення фільтрують через паперовий фільтр.

На лінію старту хроматографічної пластинки "Sorbfil" ПТСХ – А – В УФ254 розміром 10×15 см з товщиною шару 100 мкм наносять окремими смугами завдовжки 1 см по 5 мкл отриманого розчину і 10 мкл розчину зразка речовини свідка (ЗРС) рутину з концентрацією 5 мкг/мкл. Пластинку сушать на повітрі протягом 5 хв, потім поміщають у камеру із сумішшю розчинників етилацетат – оцтова кислота льодяна – вода (5:1:1) і хроматографують висхідним методом. Коли фронт розчинників пройде 10 см від лінії старту, пластинку виймають із камери і сушать на повітрі протягом 5 хв. Пластинку обробляють 3 % спиртовим розчином алюмінію хлориду та нагрівають у сушильній шафі при температурі 100-105 °С протягом 2-3 хв.

Пластинку проглядають в УФ-світлі при довжині хвилі 365 нм.

На хроматограмі досліджуваного розчину повинна проявитися пляма жовто-зеленої флуоресценції на рівні плями хроматограми розчину ЗРС рутину.

Для кількісного визначення бурштинової і аскорбінової кислот та рутину проводили такі дослідження: 0,7 г (точна наважка) порошку розтертих таблеток поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, додають 50 мл води і струшують протягом 20 хв. Об'єм розчину доводять водою до мітки і перемішують. Отриманий розчин фільтрують, відкидаючи перших 10 мл фільтрату.

20,0 мл отриманого фільтрату поміщають у конічну колбу місткістю 100 мл, додають 1,0 мл 3 % розчину кислоти хлористоводневої, 0,5 мл 1 % калію йодиду, 1 мл крохмалю та титрують 0,05 моль/дм<sup>3</sup> розчином калію йодату до появи стійкого синього забарвлення.

*Кількісне визначення кислоти аскорбінової.*

Вміст кислоти аскорбінової в грамах, рахуючи на середню масу таблетки, визначають за формулою:

$$X = \frac{V \cdot K_n \cdot 0,06661b}{m}$$

де V – об'єм 0,05 моль/дм<sup>3</sup> розчину калію йодату, витрачений на титрування досліджуваного розчину, мл;

$K_n$  – коефіцієнт поправки до концентрації 0,05 моль/дм<sup>3</sup> розчину калію йодату;

0,06661 – титр 0,05 М розчину калію йодату по кислоті аскорбінової, г/мл;

b – середня маса таблетки, г;

m – маса наважки препарату, взята для аналізу, г.

*Кількісне визначення кислоти бурштинової.*

У стакан місткістю 50 мл відбирають 10 мл фільтрату і титрують 0,1 моль/дм<sup>3</sup> розчином натрію гідроксиду потенціометрично.

За результатами титрування визначають вміст кислоти бурштинової в грамах, рахуючи на середню масу таблетки, за формулою:

$$X = \frac{(V_1 K_1 - V_2 K_2) \cdot 0,0059b}{m}$$

де  $V_1$  – об'єм 0,1 моль/дм<sup>3</sup> розчину натрію гідроксиду, витрачений на титрування досліджуваного розчину, мл;

$K_1$  – коефіцієнт поправки до концентрації 0,1 моль/дм<sup>3</sup> розчину натрію гідроксиду;

0,07564 – нормальна концентрація 0,05 моль/дм<sup>3</sup> розчину калію йодату;

$V_2$  – об'єм 0,05 моль/дм<sup>3</sup> розчину калію йодату, витрачений на титрування кислоти аскорбінової, мл;

$K_2$  – коефіцієнт поправки до концентрації 0,05 моль/дм<sup>3</sup> розчину калію йодату;  
 $b$  – середня маса таблетки, г;  
0,0059 – титр 0,1 моль/дм<sup>3</sup> натрію гідроксиду по кислоті бурштиновій, г/мл;  
 $m$  – маса наважки препарату, взята для аналізу, г.

*Кількісне визначення рутину.*

0,175 г (точна наважка) порошку розтертих таблеток поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, додають 50 мл 70 % спирту етилового, 0,1 моль/дм<sup>3</sup> розчину натрію гідроксиду до появи яскраво-жовтого забарвлення розчину, нагрівають на киплячому водяному огрівнику, періодично струшуючи, протягом 10 хв та охолоджують, доводять 70 % розчином спирту етилового до позначки. Перемішують, фільтрують через паперовий фільтр "червона стрічка", відкидаючи перших 10 мл фільтрату.

1,0 мл отриманого фільтрату переносять у мірну колбу місткістю 25 мл, додають 0,3 мл оцтової кислоти льодяної, 2,0 мл 3 % розчину алюмінію хлориду в 70 % спирті та 10 мл 70 % розчину спирту етилового. Нагрівають на водяному огрівнику до кипіння, охолоджують, доводять 70 % розчином спирту до позначки. Вимірюють оптичну густину отриманого розчину при довжині хвилі (412±2) нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як порівняння розчин, що містить 1,0 мл одержаного з препарату фільтрату, 0,3 мл оцтової кислоти льодяної та 10 мл 70 % розчину спирту етилового та підготовлений як досліджуваний розчин, починаючи зі слів "...нагрівають на водяному огрівнику..."

Паралельно вимірюють оптичну густину розчину рутину, який містить 1,0 мл стандартного розчину рутину і підготовлений аналогічно досліджуваному, починаючи зі слів "...додають 0,3 мл кислоти оцтової льодяної..."

Вміст рутину в грамах, рахуючи на середню масу таблетки, визначають за формулою:

$$X = \frac{A_x \cdot m_0 \cdot b}{A_0 \cdot m_x}$$

де  $A_x$  – оптична густина досліджуваного розчину;

$A_0$  – оптична густина стандартного розчину;

$m_x$  – маса наважки препарату, взятого для аналізу, г;

$m_0$  – маса наважки стандартного зразка рутину, г;

$b$  – середня маса таблетки, г.

*Приготування стандартного розчину рутину.*

0,01 г (точна наважка) стандартного зразка рутину ДФ X, попередньо висушеного до постійної маси при температурі 120 °С, поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, додають 70 мл 70 % спирту етилового і розчиняють при нагріванні, доводять об'єм розчину 70 % спиртом етиловим до мітки і перемішують.

Термін придатності розчину – 1 місяць.

**ВИСНОВКИ.** Розроблено методики ідентифікації та кількісного визначення бурштинової і аскорбінової кислот та рутину при одночасному вмісті в складі таблеток на їх основі. Дані методики характеризуються необхідними селективністю, точністю і правильністю та можуть бути покладені в основу аналітичної нормативної документації на дані таблетки.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Безуглий П.О. Фармацевтична хімія. – Харків: Золоті сторінки, 2000. – 346 с.

2. Берштейн И.Я., Каминский Ю.Л. Спектрофотометрический анализ в органической химии. – Л.: Химия, 1986. – 200 с.

3. Бірюк І.А., Петренко В.В. Кількісне визначення кислоти аскорбінової в її лікарських формах // Фармац. журн. – 1999. – № 1. – С. 52-55.

4. Государственная Фармакопея СССР. – 10-е изд. – М.: Медицина, 1968. – С. 916.

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

6. Державна Фармакопея України / Державне

підприємство "Науково-експериментальний фармакопейний центр". – 1-ше вид. – Харків: РІПЕГ, 2001. – 556 с.

7. Ерина О.В., Мокшина Н.Я., Селеменов В.Ф. Экстракционно-фотометрическое определение рутин в водных средах // Весник ВГУ. – 2005. – № 2. – С. 26-28.

8. Лелека М.В. Методика кількісного визначення бурштинової кислоти в капсулах Поллентар // Мед. хімія. – 2003. – 5, № 3. – С. 23-26.

9. Лобанова А.А., Будаева В.В., Сакович Г.В. Исследование биологически активных флавоноидов в экстрактах из растительного сырья // Химия растительного сырья. – 2004. – № 1. – С. 47-52.

10. Міщенко О.Я., Яковлева Л.В., Лелека М.В.

Експериментальне вивчення впливу нового адаптивного засобу "Поллентар" на витривалість щурів // Мед. хімія. – 2002. – 4, № 4. – С. 48-51.

11. Міщенко О.Я., Яковлева Л.В. Порівняльне вивчення актопротекторної дії засобу "Поллентар" та його окремих субстанцій // Фармаком. – 2003. – № 2. – С. 100-104.

## **ИДЕНТИФИКАЦИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЕЙСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ В ТАБЛЕТКАХ КИСЛОТЫ ЯНТАРНОЙ С КИСЛОТОЙ АСКОРБИНОВОЙ И РУТИНОМ**

**М.В. Лелека, Т.А. Грошовый, Л.В. Вронская, Н.П. Свистун**  
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

### **Резюме**

*Разработаны методики идентификации и количественного определения янтарной и аскорбиновой кислот и рутина в составе таблеток на основе указанных компонентов.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** идентификация, количественное определение, кислота янтарная, кислота аскорбиновая, рутин.

## **IDENTIFICATION AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF ACTIVE SUBSTANCES IN TABLETS OF SUCCINIC ACID WITH ASCORBIC ACID AND ROUTINE**

**M.V. Leleka, T.A. Hroshovy, I.V. Vronska, N.P. Svystun**  
TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

### **Summary**

*The methods for identification and quantitative determination of succinic and ascorbic acids as well as routine in composition of tablets on their basis have been elaborated.*

**KEY WORDS:** identification, quantitative determination, succinic acid, ascorbic acid, routine.

*Отримано 20.08.2008 р.*

**Адреса для листування:** М.В. Лелека, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м.Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

## ДОСЛІДЖЕННЯ ЛІПОФІЛЬНИХ ФРАКЦІЙ ТРАВИ ДЕЯКИХ ПЕРЕДСТАВНИКІВ РОДУ ФІАЛКА

К.Д. Мішнева, Т.М. Гонтова, О.П. Хворост  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

*Проведено порівняльний аналіз якісного складу та числових показників ліпофільних фракцій, отриманих з трави фіалки фармакопейного ґатунку та трави братків садових. Доведено наявність каротиноїдів, речовин порфіринової природи, ненасичених ліпідів, низькомолекулярних фенолів, кумаринів, ідентифіковано саліцилову кислоту і скополетин, визначено числові показники ліпофільних фракцій, у тому числі вміст суми каротиноїдів та хлорофілів, вивчено жирнокислотний склад ліпофільних фракцій.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** ліпофільна фракція, трава, фіалка, братки садові, числові показники, каротиноїди, хлорофіли, жирні кислоти.

ВСТУП. У світлі фармакогностичного вивчення рослин роду Фіалка нашу увагу як найпоширеніші привернули ф. триколірна, ф. польова, а також ф. Вітрока, або братки садові (широко культивовані гібрид ф. триколірної, ф. жовтої та ф. алтайської). Суміш трави ф. польової та ф. триколірної під назвою "трава фіалки" застосовують в офіціальній медицині для лікування запальних та алергічних захворювань в пульмонології, урології та дерматології [6, 8]. У ДФ СРСР XI видання включено ФС 62 ДФ, що регламентує якість трави фіалки [1].

Метою роботи було отримання ліпофільних фракцій (ЛФ) з трави фіалки фармакопейного ґатунку та трави братків садових, встановлення якісного складу та кількісного вмісту ряду груп БАР, а також ряду числових показників цих фракцій.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Як об'єкти дослідження використовували траву фіалки фармакопейного ґатунку, заготовлену та розфасовану ЗАТ "Ліктрави" (м. Житомир), та траву братків садових, культивовану та заготовлену в фазу масового цвітіння на території Харківської області в 2006 році. ЛФ одержували шляхом вичерпної екстракції хлороформом за загальновідомою методикою з наступним видаленням розчинника у вакуумі [3]. Отримані фракції аналізували за допомогою ТШХ на пластинках "Сорбфіл ПТСХ-П-А-УФ": на наяв-

© К.Д. Мішнева, Т.М. Гонтова, О.П. Хворост, 2008.

ність речовин порфіринової природи та каротиноїдів у двовимірному варіанті в системах розчинників гексан-ацетон 6:2 (I напрямом) і гексан-ацетон 6:4 (II напрямом); саліцилової кислоти – в системі розчинників хлороформ-толуол-діетилової ефір-мурашина кислота (60:60:15:5). На наявність кумаринів ЛФ аналізували методом ПХ на папері "Фільтрак FN № 3" низхідним способом в системі розчинників хлороформ-формамід з достовірними зразками похідних кумарину. Локалізацію речовин на хроматограмах визначали за характерним забарвленням плям у видимому та УФ-світлі до і після обробки специфічними реактивами [5, 9]. Для дослідження якісного складу ЛФ також отримували тримірні спектри за методом тримірної скануючої спектрофлуориметрії в ультрафіолетовому та видимому діапазонах спектра із застосуванням спектрофлуориметра "Hitachi F4010" [7]<sup>1</sup>.

Відносну густину, кислотне, ефірне, йодне числа та число омилення ЛФ встановлювали за методиками ДФУ I видання [2]. Визначення кількісного вмісту суми хлорофілів (у перерахунку на хлорофіл а) та суми каротиноїдів (у перерахунку на β-каротин) в ЛФ проводили спектрофотометричним методом шляхом деконволюції спектрів поглинання на складові смуги в розрахунку на абсолютно сухий залишок (програми комплексу SpectraDataLab, розробка А.О. Дорошенко, НДІ хімії при ХНУ ім. В.Н. Каразіна) [7]<sup>1</sup>. Для вивчення якісного

складу та кількісного вмісту жирних кислот ЛФ отримували їх метилові ефіри та аналізували методом газорідинної хроматографії на хроматографі "Shimadzu GC-14B" за таких умов: колонка 30 мх0,25 мм, HP-225 0,25 мкм, стаціонарна фаза – ціанопропіл-метилсилоксан (1:1), газ-носії – водень, швидкість подання газу-носія – 0,3 мл/хв; температура колонки – 175 °С, інжектора – 240 °С; твердофазний носій – "Інертон-AW" із зернінням 0,16-0,20 мм, рідинна фаза – діетиленглікольсукцинат у кількості 10 % від маси носія [4]<sup>2</sup>.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Вихід ЛФ, у розрахунку на абсолютно суху сировину, складав: для трави фіалки – не менше 3 %, для трави братків садових – не менше 2 %.

Дослідження якісного складу ЛФ за допомогою ТШХ показало наявність 5 речовин порфіринової природи, однакових в обох ЛФ, а також 2 каротиноїдів у ЛФ із трави братків садових та 3 – в ЛФ із трави фіалки. Окрім того, в ЛФ з обох видів сировини ідентифіковано саліцилову кислоту та скополетин.

На рисунку 1 наведено тримірні спектри флуоресценції ЛФ та їх проекції на площину збудження/емісія. Наявність групи піків у ділянках  $\lambda_{exc}$  – 400-680 нм,  $\lambda_{em}$  – 660-680 нм була характерна для флуоресценції суміші хлорофілів а та b, а піки в ділянках  $\lambda_{exc}$  – 250-270 нм,

$\lambda_{em}$  – 300-310 нм свідчили про наявність ненасичених ліпідів та низькомолекулярних фенолів у ЛФ з обох видів сировини, що досліджувалися. Результати визначення числових показників ЛФ наведено в таблиці 1. Такі показники, як відносна густина, кислотне число, число омилення, ефірне та йодне числа для обох ЛФ мали близькі значення (див. табл. 1). Найвищий вміст суми каротиноїдів спостерігався в ЛФ із трави братків садових ((19,50±0,50) мг/%), що незначно переважало вміст цих сполук в ЛФ із трави фіалки ((17,60±0,50) мг/%). У ЛФ із трави фіалки визначено (1240,00±32,00) мг/% хлорофілів, що в 1,5 раза вище за вміст цієї групи в ЛФ із трави братків садових ((806,00±37,00) мг/%).

Результати вивчення жирнокислотного складу ЛФ наведено в таблиці 2. Так, у ЛФ із трави фіалки виявлено не менше 7, у ЛФ із братків садових – не менше 8 жирних кислот. У ЛФ з обох видів фіалок переважає вміст насичених жирних кислот (66,60 % в ЛФ із трави фіалки та 66,47 % в ЛФ із трави братків садових від суми жирних кислот). Ці жирні кислоти в якісному відношенні представлено 5 однаковими сполуками, з яких в більшій кількості міститься арахінова кислота (33,00 % в ЛФ із трави фіалки та 39,31 % в ЛФ із трави братків садових від суми жирних кислот). З ненасичених жирних кислот, виявлених в ЛФ,

Таблиця 1 – Деякі показники ЛФ із трави фіалки фармакопейного ґатунку та братків садових (n=5, в перерахунку на абсолютно сухий залишок)

Показник	Ліпофільна фракція	
	Трава фіалки фармакопейного ґатунку	Трава братків садових
відносна густина, г/мл	0,97±0,01	0,93±0,01
кислотне число, мг КОН/г	1,47±0,09	1,45±0,09
число омилення, мг КОН/г	187,92±5,57	184,56±8,46
ефірне число, мг КОН/г	186,45±5,50	183,11±8,43
йодне число, г I/100г	93,40±3,00	91,06±3,31
сума каротиноїдів (в перерахунку на $\beta$ -каротин), мг/%	17,60±0,50	19,50±0,50
сума хлорофілів (в перерахунку на хлорофіл а), мг/ %	1240,00±32,00	806,00±37,00

Таблиця 2 – Кількісний вміст жирних кислот в ЛФ із трави фіалки фармакопейного ґатунку та братків садових

№ з/п	Назва жирної кислоти та її скорочене хімічне позначення	Вміст жирних кислот в ЛФ, % від суми жирних кислот	
		Трава фіалки фармакопейного ґатунку	Трава братків садових
1	міристинова (14:0)	25,27	12,23
2	пентадеканова (15:0)	2,11	4,20
3	пальмітинова (16:0)	5,09	7,72
4	пальмітолеїнова (16:1n 9)	–	10,10
5	олеїнова (18:1n 9)	8,20	8,19
6	лінолева (18:2n 9,12)	25,20	15,24
7	арахінова (20:0)	33,00	39,31
8	бегенова (22:0)	1,03	3,01
сума насичених жирних кислот		66,60	66,47
сума ненасичених жирних кислот		33,40	33,53



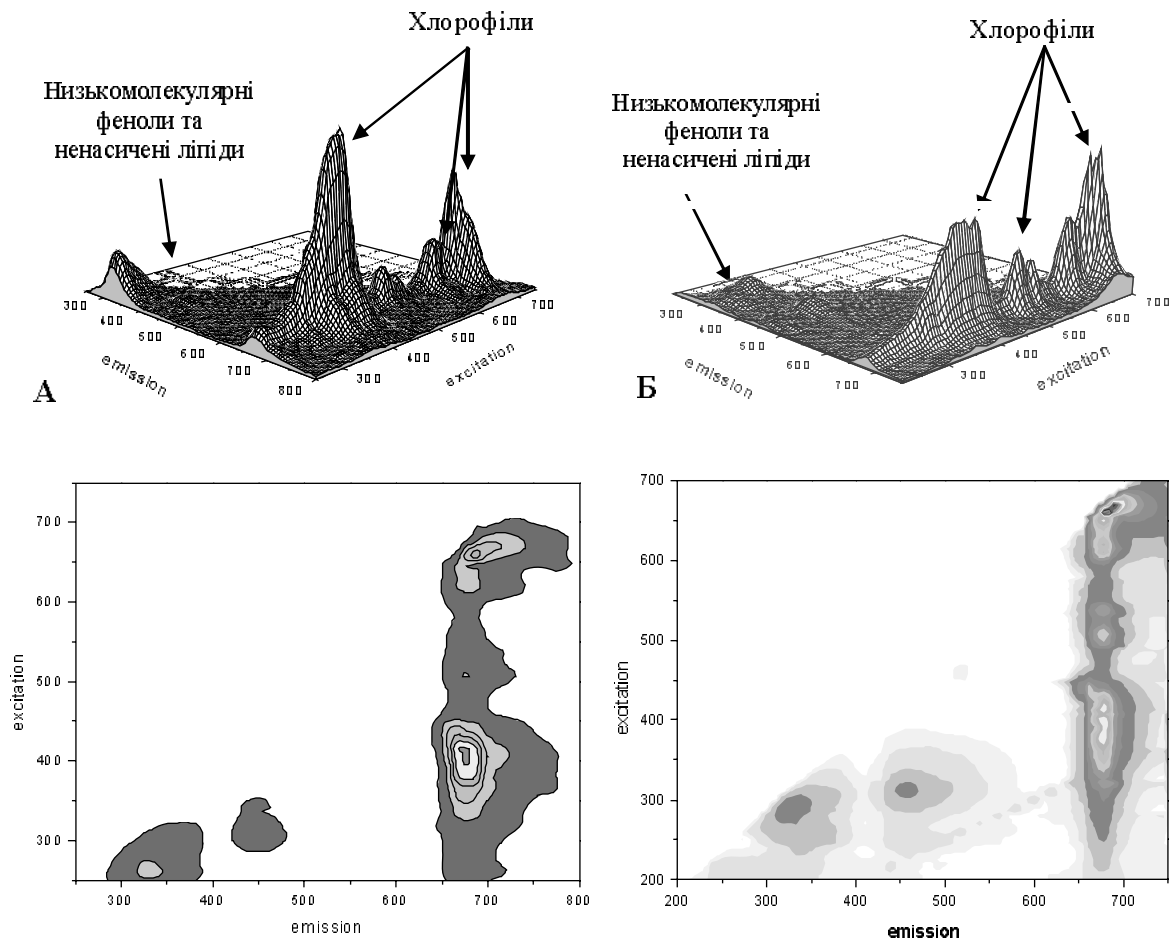


Рис. 1. Тримірні спектри флуоресценції ЛФ трави фіалки фармакопейного гатунку (А), трави братків садових (Б) та їх проєкції на площину збудження/емісія.

домінує ліолева кислота, її вміст складає в ЛФ трави фіалки та братків садових 25,20 і 15,24 % відповідно від суми жирних кислот. Пальмітолеїнову кислоту виявлено тільки в ЛФ із трави братків садових, що є видоспецифічною ознакою цього виду сировини.

**ВИСНОВКИ.** 1. Отримано ЛФ із трави фіалки фармакопейного гатунку та трави братків садових. Досліджено їх якісний склад та встановлено наявність каротиноїдів, речовин порфіринової природи, ненасичених ліпідів, низькомолекулярних фенолів, у тому числі саліцилової кислоти та кумаринів, ідентифіковано скополетин.

2. Визначено числові показники ЛФ. У ЛФ із сировини, що вивчалася, встановлено вміст

суми каротиноїдів та суми хлорофілів у перерахунку на абсолютно сухий залишок: вищий вміст суми хлорофілів характерний для ЛФ із трави фіалки ((1240,00±32,00) мг%), суми каротиноїдів – для ЛФ із трави братків садових ((19,50±0,50) мг%).

3. Вивчено якісний склад та кількісний вміст жирних кислот в отриманих ЛФ. Так, в ЛФ із трави фіалки виявлено 7 жирних кислот, в траві братків садових – 8, в обох субстанціях переважає вміст насичених жирних кислот.

*Колектив авторів висловлює велику подяку за допомогу в проведенні досліджень:*

<sup>1</sup>проф. Рошалью О.Д., старшому науковому співробітнику НДІ хімії при Харківському національному університеті ім. В.Н. Каразіна,

<sup>2</sup>Зінченко О.А., завідувачу лабораторії фарманалізу ДП "Науково-експертний фармакопейний центр".

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Государственная Фармакопея СССР: Вып. 2. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1987. – 336 с.

2. Державна Фармакопея України. – Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". – 1-ше вид. – Х.: PIPEГ, 2001. – 556 с.

3. Ємельянова І.В., Ковальов В.М., Журавель І.О. Динаміка накопичення суми ліпофільних сполук в екстрактах грінделії розчепіреної // Фармаком. – 2003. – № 1. – С. 57-64.

4. Котова Э.Э., Зинченко А.А., Куликов А.Ю. и др. К вопросу о методах стандартизации рыбьего жира. Определение жирнокислотного состава и количественного содержания витамина D<sub>3</sub> в рыбьем жире // Фармаком. – 2002. – № 2. – С. 83-91.

5. Кудрицкая С.Е. Каротиноиды плодов и ягод. – К.: Вища школа, 1990. – 221 с.

6. Литвиненко В.И., Бубенчиков Р.А., Попова Н.В. Фиалка трехцветная и фиалка полевая:

химический состав и применение // Фармаком. – 2004. – № 1. – С. 62-66.

7. Параніч В.А., Дорошенко А.О., Рошаль О.Д. та ін. Визначення видового походження рослинних олій // Фармац. журн. – 2000. – № 5. – С. 86-90.

8. Семейство Фиалковые Violaceae // В кн.: Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. – М.: Наука, 1986. – 2. – С. 20-29.

9. Шаршунова М., Шварц В., Михалем Ч. Тонко-слойная хроматография в фармации и клинической биохимии: В 2 ч. / Под ред. В.Г. Берукина и С.Д. Соколова. – М.: Мир, 1980. – 526 с.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИПОФИЛЬНЫХ ФРАКЦИЙ ТРАВЫ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА ФИАЛКА

Е.Д. Мишнева, Т.Н. Гонтовая, О.П. Хворост  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

### Резюме

Проведен сравнительный анализ качественного состава и числовых показателей липофильных фракций, полученных из травы фиалки фармакопейного качества и травы анютиных глазок. Доказано наличие каротиноидов, веществ порфириновой природы, ненасыщенных липидов, низкомолекулярных фенолов, кумаринов, идентифицированы салициловая кислота и скополетин, определены числовые показатели липофильных фракций, в том числе содержание суммы каротиноидов и хлорофиллов, изучен жирнокислотный состав липофильных фракций.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: липофильная фракция, трава, фиалка, анютины глазки, числовые показатели, каротиноиды, хлорофиллы, жирные кислоты.

## RESEARCH OF LIPOPHILIC FRACTIONS OF HERB SOME REPRESENTATIVES OF THE VIOLA GENUS

K.D. Mishnyeva, T.M. Hontova, O.P. Khvorost  
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

### Summary

The comparative analysis of qualitative composition and also number indexes of the lipophilic fractions from the viola herb of pharmacopic quality and herb of viola wittrockiana was is conducted. The availability of carotenoids, porfirins, unsaturated lipids, low-molecular phenols, cumarins was proved presences, salicylic acid and skopoletin were identified in composition of the fractions. Number indexes of lipophilic fraction including contint of carotenoids and chlorophylls sum were de defined, fatty-acid composition of lipophilic fractions was studied.

KEY WORDS: lipophilic fraction, herb, Viola, Viola wittrockiana, number indexes carotenoids, chlorophylls, fatty acids.

Отримано 8.01.2008 р.

Адреса для листування: К.Д. Мішнева, Національний фармацевтичний університет, вул. Мельникова, 12, Харків, 61002, Україна.

## АНТИОКСИДАНТНІ ВЛАСТИВОСТІ ПРЕПАРАТУ “ЛІПОФЛАВОН” ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ГОСТРІЙ НИРКОВІЙ НЕДОСТАТНОСТІ

О.М. Горошко, І.І. Заморський

БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ЧЕРНІВЦІ

*В експерименті на білих щурах вивчено вплив ліпофлавану на перебіг гострої ниркової недостатності (ГНН), викликаній внутрішньом'язовим введенням 50 % розчину гліцеролу. Ліпофлаван вводили одноразово внутрішньоочеревинно у дозі 8 мг/кг через 40 хв після введення гліцеролу. Доведено, що ліпофлаван позитивно впливає на перебіг експериментальної ГНН за рахунок зниження утворення продуктів ліпопероксидації та активації ланок антиоксидантної системи.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** гостра ниркова недостатність, пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидант ліпофлаван, кверцетин.

ВСТУП. Відомо, що різноманітні негативні для організму впливи призводять до посилення реакцій пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), які є одними з факторів гомеостатичної рівноваги в клітині та відіграють важливу роль у механізмах клітинної сигналізації та апоптозу [8, 14]. Утворення вільних радикалів є процесом, який постійно перебігає в організмі й проходить під контролем системи антиоксидантного захисту, що в нормі надійно обмежує розвиток вільнорадикальних процесів [13]. Однак при збільшенні продуктів вільних радикалів, внаслідок прооксидантного впливу і неспроможності антиоксидантного захисту, розвивається окисний стрес, що супроводжується пошкодженням білків, ліпідів і ДНК [5].

Надмірне утворення метаболітів вільнорадикального окиснення є одним із шляхів патологічного впливу цитокінів на нирку, що призводить до порушення ниркових функцій з розвитку гострої та хронічної ниркової недостатності [4, 16, 17]. Зокрема, порушення функцій нирок у щурів за умов експериментальної гліцеринової ГНН пов'язують з активацією ПОЛ, що вважають одним з основних факторів у патогенезі ушкодження нирок при такій формі патології [9-11]. Введення антиоксидантів суттєво знижує ступінь ушкодження паренхіми нирок при ГНН.

Метою дослідження було вивчення впливу природного антиоксиданту, ліпосомального препарату “Кверцетину” на стан нирок за умов експериментальної ГНН.

© О.М. Горошко, І.І. Заморський, 2008.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на нелінійних статевозрілих білих щурах масою 120-180 г, які мали вільний доступ до їжі (зерно пшениці) та питної води. Їх поділили на 3 групи (n=7): 1-шу складали контрольні тварини, тваринам 2-ї групи вводили 50 % розчин гліцерину (“гліцеролова” модель ГНН), тваринам 3-ї групи – ліпофлаван (Біолек, Харків, Україна) одноразово через 40 хв після моделювання ГНН внутрішньоочеревинно в дозі 8 мг/кг. ГНН моделювали шляхом внутрішньом'язового введення 50 % розчину гліцерину в дозі 8 мг/кг.

Щурів забивали шляхом декапітації під легким ефірним наркозом, дотримуючись положення Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986). Забій тварин проводили на 48 та 96 год експерименту.

Стан пероксидного окиснення ліпідів оцінювали за вмістом дієнових кон'югат [2] і маленового діальдегіду (МДА) [15] в крові та гомогенаті нирок. Стан антиоксидантної системи – за активністю каталази [7], глутатіонпероксидази (ГП) [1], вмістом SH-груп [12] в крові та гомогенаті нирок, церулоплазмину (ЦП) [6] в плазмі крові.

Статистичну обробку даних проводили за допомогою програми “Statgraphics” із використанням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Для “гліцеролової” моделі ГНН, як було показано в наших

Таблиця 1 – Вплив одноразового введення ліпофлавоу на пероксидне окиснення білків та антиоксидантну систему ( $m \pm M$ ,  $n=7$ )

Показники	Контроль	ГНН	ГНН+ ліпофлавоу	ГНН	ГНН+ ліпофлавоу
		на 48 год експерименту		на 96 год експерименту	
Вміст МДА у плазмі крові, мкмоль/л	21,9±2,06	24,3±1,43	14,75±0,703 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,001$	22,4±2,30	15,26±0,790 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,05$
Вміст МДА у тканині нирок, мкмоль/г	0,42±0,045	0,47±0,041	0,45±0,023	0,69±0,051 $p_1 < 0,01$	0,61±0,042 $p_1 < 0,01$
Вміст дієнових кон'югат у тканині нирок, нмоль/мг	0,63±0,015	0,88±0,040 $p_1 < 0,005$	0,56±0,041 $p_2 < 0,002$	0,78±0,036 $p_1 < 0,02$	0,59±0,026 $p_2 < 0,002$
Активність каталази у плазмі крові, мкмоль/хв/г	15,2±0,69	21,9±0,93 $p_1 < 0,001$	22,36±0,723 $p_1 < 0,001$	25,2±1,63 $p_1 < 0,001$	22,20±1,017 $p_1 < 0,001$
Активність каталази у тканині нирок, мкмоль/хв/мг	29,5±2,30	34,8±6,99	37,43±1,191 $p_1 < 0,01$	28,2±2,54	47,97±4,351 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,01$
Активність глутатіон-пероксидази у тканині нирок, мкмоль/мг білка	0,27±0,027	0,16±0,016 $p_1 < 0,02$	0,25±0,011 $p_2 < 0,002$	0,18±0,011 $p_1 < 0,02$	0,29±0,029 $p_2 < 0,01$
Вміст церулоплазміну в плазмі крові, мг/л	137,8±9,21	239,1±26,39 $p_1 < 0,01$	169,7±4,12 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,05$	282,6±46,67 $p_1 < 0,01$	156,6±21,12 $p_2 < 0,05$
Вміст SH-груп у тканині нирок, мкмоль/г	1,83±0,131	1,55±0,0306 $p_1 < 0,05$	1,81±0,029 $p_2 < 0,001$	1,42±0,010 $p_1 < 0,01$	1,67±0,055 $p_2 < 0,01$

Примітка.  $p_1$  – показник вірогідності різниці щодо даних контролю;  
 $p_2$  – показник вірогідності різниці щодо даних за ГНН на відповідний термін експерименту.

попередніх дослідів [3], було характерне зростання ПОЛ, що проявлялось збільшенням рівня дієнових кон'югат і МДА у плазмі крові та тканині нирок (табл. 1). Одночасно спостерігалось пригнічення системи антирадикального захисту, що полягало у зниженні активності ГП та вмісту SH-груп у тканині нирок протягом всього експерименту. Збільшувались вміст ЦП та активність каталази як у плазмі, так і в тканині нирок порівняно з контрольними тваринами.

Таким чином, дана модель ГНН характеризується розвитком окисного стресу, при якому відбувається накопичення продуктів ПОЛ у крові й тканині нирок з одночасним пригніченням різних ланок антиоксидантної системи як на початку експерименту, так і протягом 4 днів розвитку цієї патології.

При введенні антиоксиданту ліпофлавоу відмічали зниження інтенсивності ПОЛ, оскільки вміст МДА в еритроцитах зменшувався на 48 год в 1,6 раза та 1,5 раза порівняно з показниками при ГНН без введення ліпофлавоу. Вміст дієнових кон'югат як проміжних продуктів ПОЛ достовірно зменшувався протягом всього експерименту порівняно з нелікованими тваринами: на 48 год – в 1,6 раза та 96 год – в 1,3 раза. При використанні ліпофлавоу також спостерігалось посилення активності показників

антиоксидантної системи. У тканині нирок активність каталази зростала порівняно як з контролем, так і з нелікованими щурами, найбільш виражено – на 96 год експерименту (див. табл. 1). Активність ГП в тканині нирок підвищилась порівняно з нелікованими тваринами: на 48 год – в 1,6 раза та 96 год – в 1,6 раза.

Вміст ЦП в плазмі зменшувався порівняно з нелікованими тваринами: на 48 год – в 1,4 раза та 96 год – в 1,8 раза. При цьому вміст сульфогідрильних груп у лікованих щурів, порівняно з нелікованими, зріс: на 48 год – в 1,2 раза та 96 год – в 1,4 раза.

Отже, згідно з отриманими даними можна відмітити, що ліпофлавоу позитивно впливає на перебіг експериментальної ГНН, зменшуючи утворення продуктів ПОЛ за рахунок активації різних ланок антиоксидантної системи.

**ВИСНОВКИ.** 1. При експериментальній “гліцероловій” ГНН відмічають активацію процесів ліпопероксидації як у крові, так і в тканині нирок.

2. Реакція антиоксидантної системи при ГНН супроводжується вірогідним зниженням рівня ЦП у плазмі крові та зменшенням вмісту SH-груп та МДА. При цьому активність каталази вірогідно не змінюється.

3. Ліпофлавіон, ліпосомальний препарат антиоксиданту кверцетину, має позитивний вплив на перебіг експериментальної ГНН за

рахунок зменшення утворення продуктів ПОЛ та нормалізації активності каталази і вмісту ЦП, а також збільшення активності ГП та вмісту SH-груп в організмі тварин.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Власова С.Н., Мабушна Е.И., Переслечина И.А. Активность глутатионзависимых ферментов эритроцитов при хронических заболеваниях печени у детей // Лаб. дело. – 1990. – № 8. – С. 19-21.

2. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33-35.

3. Горошко О.М., Гарас М.Н. Вплив антиоксидантних властивостей кверцетину на перебіг гострої експериментальної ниркової недостатності // Буковинський медичний вісник. – 2007. – 6, № 2. – С. 119-122.

4. Дудар І., Красюк Е., Афоніна Г. Стан про-антиоксидантної системи у хворих із хронічною нирковою недостатністю // Ліки України. – 2003. – № 10. – С. 14-16.

5. Жанатаев А.К., Дурнев А.Д., Севердин С.Б. Перспективы определения 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина в качестве биомаркера окислительного стресса в эксперименте и клинике // Весник РАМН. – 2002. – № 2. – С. 45-49.

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

7. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.

8. Кудряшов Ю.Б. Радиационная биофизика (ионизирующее излучение). – М.: ФИЗМАТЛИТ, 2003. – 442 с.

9. Матьков К.Г., Воробьева Н.Д., Аникин Г.Д.

Изменение водноэлектролитного состава почки при ишемии // Фармакология почек: III Всерос. науч. конф. – Барнаул, 1990. – С. 69-70.

10. Мерзон А.К., Титаренко О.Т., Андреева Е.К. Сравнительная оценка методов химической индикации креатинина // Лаб. дело. – 1970. – № 7. – С. 16-418.

11. Метелица В.И. Блокаторы рецепторов ангиотензина II // Тер. арх. – 1996. – № 8. – С. 64-67.

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

13. Орлова Е.А. Влияние даларгина на активность супероксиддисмутазы и лактатдегидрогеназы у крыс в условиях гиперпродукции оксида азота // Укр. мед. альм. – 2002. – 5, № 4. – С. 96-97.

14. Севериновська О.В., Зайченко О.Ю., Григорова М.О. Застосування природного адаптогену для корекції зсуву про-антиоксидантного балансу в організмі // Клінічна та експериментальна патологія. – 2006. – 5, № 1. – С. 114-117.

15. Стальная Л.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.

16. Pyrih I., Kolesnik M., Dudar I., Nikulina G. Activation of lipid peroxidation in patients with glomerulonephritis // Abstr. of XII Donau symposium nephrology, Crakow. 18-22.09.1996. – S. 2. – P. 101-105.

17. Woo K.T. Proteinuria perspectives and advances in clinical nephrology // Abstr. of XIV th International Congress of Nephrology (25-29, May 1997, Sidney, Australia). – 1997. – P. 57-59.

## АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ПРЕПАРАТА “ЛИПОФЛАВОН” ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОСТРОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

А.М. Горошко, И.И. Заморский

БУКОВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ЧЕРНОВЦЫ

#### Резюме

В эксперименте на белых крысах изучено влияние липофлавона на течение острой почечной недостаточности (ГНН), вызванной внутримышечным введением 50 % раствора глицерола. Липофлавоном вводили однократно внутривентриально в дозе 8 мг/кг через 40 мин после введения глицерола. Доказано,

что липофлавон положительно влияет на течение экспериментальной ГНН за счет снижения образования продуктов липопероксидации и активации звеньев антиоксидантной системы.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** острая почечная недостаточность, пероксидное окисление липидов, антиоксидант липофлавон, кверцетин.

## **ANTIOXIDANT PROPERTIES OF “LIPOFLAVON” MEDICATION IN EXPERIMENTAL ACUTE RENAL INSUFFICIENCY**

**O.M. Horoshko, I.I. Zamorsky**

*BUCOVYNIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY, CHERNIVTSI*

### **Summary**

*The effect of “Lipoflavon” on the course of acute renal insufficiency (ARI) caused by intramuscular injection of 50 % glycerol solution has been studied in experiments on albino rats. Lipoflavon was injected intraperitoneally in a single dose of 8 mg/kg in 40 minutes after glycerol administration. Lipoflavon has been found to exert a positive effect on ARI at the expense of diminishing the formation of lipoperoxidation products and activating the links of antioxidant system.*

**KEY WORDS:** acute renal insufficiency, lipid peroxidation, antioxidant lipoflavon, quercetin.

*Отримано 7.03.2008 р.*

**Адреса для листування:** О.М. Горошко, вул. Кочубея 40/14, Чернівці, 58003, Україна.

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

## СТАН ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ У ТВАРИН З РІЗНИМ ТИПОМ ЗАПАЛЬНОЇ РЕАКЦІЇ ПРИ АДРЕНАЛІНОВІЙ МІОКАРДІОПАТІЇ

**А.Б. Бойків**

*ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО*

*За дії кардіотоксичної дози адреналіну розвивається синдром ендогенної інтоксикації (EI), про що свідчить зростання її маркерів – середніх молекул (СМП/254, СМП/280) та сорбційної здатності еритроцитів. Ступінь вираження синдрому є більшим у першу годину і добу експерименту в гіперергічній групі, через 7 діб спостерігається значне збільшення EI в гіпоергічній групі.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** адреналінова міокардіопатія, нормергічний, гіпоергічний, гіперергічний перебіг запальної реакції, стан ендогенної інтоксикації.

ВСТУП. Проблематика патогенезу імунних порушень за розвитку дистрофічно-некротичних уражень міокарда, особливо внаслідок дії кардіотоксичних доз адреналіну, залишається актуальною і потребує подальшого вивчення. Достатньо важливим є й те, що імунній системі відводиться важлива роль у підтриманні гомеостазу за дії надзвичайних подразнень [5].

Значний вплив на стан імунного гомеостазу за цих умов має розвиток синдрому ендогенної інтоксикації (EI). Поняття "ендогенна інтоксикація" широко використовують як один із критеріїв оцінки стану організму за умов нагромадження кінцевих продуктів метаболізму білків, ліпідів та інших речовин, що спостерігається при гострій та хронічній патології, яка супроводжується посиленням катаболічних процесів [2]. Зважаючи на це, становило інтерес дослідити особливості змін показників ендогенної інтоксикації у тварин з різним перебігом запальної реакції після дії кардіотоксичної дози адреналіну.

Характер імунної відповіді за розвитку патології певною мірою залежить від вираження ендогенної токсемії, вмісту в крові молекул середньої маси (МСМ). Крім того, відомо, що МСМ характеризуються кардіодепресивною та мембранодеструктивною діями [6]. Тому з'ясування особливостей перебігу синдрому ендогенної інтоксикації у тварин за розвитку адреналінової міокардіопатії (АМП) з урахуванням змін реактивності, можливо, дасть новий

© А.Б. Бойків, 2008.

поступ в розумінні механізмів ураження міокарда, встановить залежність його від типу запальної реакції організму. Це й стало метою нашої роботи.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Досліди проведено на 60 білих нелінійних щурах-самцях масою 180-200 г, яких поділили на три групи: 1-ша – 18 білих щурів з адреналіновою міокардіопатією; 2-га – 18 білих щурів зі змодельованою гіпоергічною запальною реакцією; 3-тя – 18 білих щурів зі змодельованою гіперергічною запальною реакцією. Контрольна група – 6 білих щурів. АМП викликали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням адреналіну гідрохлориду з розрахунку 0,5 мг/кг [3]. Моделювання гіпоергічного типу запальної реакції проводили шляхом внутрішньом'язового введення алкілуючого цитостатика циклофосфану за 3 дні до моделювання АМП і протягом тижня щоденно з розрахунку 10 мг/кг. Моделювання гіперергічного типу запальної реакції – шляхом внутрішньом'язового введення імуностимулятора полісахаридної природи – пірогеналу за 1 день до моделювання АМП і протягом 7 днів щоденно з розрахунку на одну тварину 5-10 МПД на фізіологічному розчині [4].

Забір крові проводили через 1 год після моделювання АМП, через 1 добу і через 7 діб після введення адреналіну. Ступінь вираження ендогенного токсичного синдрому оцінювали за вмістом у сироватці крові МСМ, важкість EI визначали за величиною сорбційної здатності еритроцитів згідно з рекомендаціями проф.

М.А. Андрейчина і співавт. (1998) [1]. Кількісні показники обробляли методом варіаційної статистики.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Як видно з таблиці 1, вміст СМ/254 (вміст ланцюгових амінокислот у середньомолекулярних пептидах та продуктах їх розпаду) в сироватці крові щурів усіх груп спостереження збільшився. Так, через 1 год після дії адреналіну в нормергічній групі показник зріс з (301,6±8,1) ум. од. і склав (388,0±10,5) ум. од., тобто підвищення показника від аналогічного контрольного становило 28,65 % (p<0,001); в гіпоергічній групі він збільшився до (313,3±20,5) ум. од. Таким чином, приріст від контрольної величини склав 3,88 % (p>0,05). У групі з гіперергічним перебігом АМП через 1 год СМП/254 становив (481,3±38,3) ум. од., тобто 59,58 % (p<0,001). Слід зауважити, що вказані цифрові величини статистично достовірно відрізнялися між собою (p>0,05). Через 24 год від початку даного експерименту спостерігалось значне зростання СМП/254 у всіх групах спостережень. Так, в нормергічній групі показник склав (520,0±14,4) ум. од., що становило 72,41 % збільшення від контрольної величини (p<0,001); в гіпоергічній групі показник досягав (569,8±11,9) ум. од., тобто 88,92 % зростання від контрольної величини (p<0,001); в гіперергічній групі – (429,6±24,1) ум. од., тобто 42,44 % (p<0,001). Наведені цифрові величини також статистично достовірно відрізнялися між собою (p<0,05). Через 7 діб у змодельованих експериментальних умовах рівень СМП/254 теж змінювався, але в жодній групі не досягав контрольної величини. У групі з гіпоергічним перебігом АМП спосте-

рігалось збільшення вищезгаданого показника до (617,2±12,1) ум. од., що склало 104,64 % (у 2,05 раза) від контрольної величини; в групах з норм- і гіпоергічним перебігом АМП він зменшився і становив (364,0±24,0) та (372,0±8,0) ум. од. відповідно, що дорівнювало 20,69 % і 23,34 % і було статистично достовірним (p<0,01) (рис. 1). Різниця між показниками в даних групах була статистично недостовірною (p>0,05), між рештою цифрових величин на 7-й добі спостережень виявлено статистично достовірну різницю (p<0,001).

У ході аналізу представлених цифрових параметрів (див. табл. 1) встановлено, що через 1 год від початку дослідження рівень СМП/280 (ароматичні амінокислоти) був змінений. Так, в нормергічній групі показник зріс з (167,6±4,5) ум. од. і склав (217,0±10,8) ум. од., тобто на 29,47 % (p<0,002); в гіпоергічній групі він зменшився і становив (162,8±12,7) ум. од., тобто на 2,86 % (p>0,05); у групі спостережень з гіперергічним перебігом АМП – збільшився і склав (341,5±20,9) ум. од., тобто на 103,76 % (у 2,04 раза) (p<0,002). Слід зазначити, що наведені цифрові величини також статистично достовірно відрізнялися між собою (p<0,02). Зміни досліджуваних показників EI через 24 год від початку експерименту були більш вираженими порівняно з попереднім терміном спостережень. Рівень СМП/280 в нормергічній групі щурів зріс і склав (288,0±17,7) ум. од., тобто на 71,84 % від контрольної величини (p<0,001); в гіпоергічній – підвищився і становив (242,6±12,9) ум. од., тобто на 44,74 % від контрольної величини (p<0,001); в гіперергічній – також зріс і склав (270,6±11,8) ум. од., тобто на 61,46 % від контрольної величини

Таблиця 1 – Динаміка вмісту МСМ (ум. од.) у крові піддослідних груп тварин за дії кардіотоксичної дози адреналіну (M±m)

Показники	Інтактні тварини	Час дослідження після введення адреналіну								
		1 год			24 год			7 діб		
		нормерг.	гіпоерг.	гіперерг.	нормерг.	гіпоерг.	гіперерг.	нормерг.	гіпоерг.	гіперерг.
№ серії	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Кількість тварин	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6
СМП/254, ум. од.	301,6 ±8,1	388,0 ±10,5	313,3 ±20,5	481,3 ±38,3	520,0 ±14,4	569,8 ±11,9	429,6 ±24,1	364,0 ±24,0	617,2 ±12,1	372,0 ±8,0
p	p <sub>1-2</sub> < 0,001; p <sub>1-3</sub> > 0,05; p <sub>1-4</sub> < 0,001; p <sub>2-3</sub> < 0,001; p <sub>2-4</sub> < 0,05; p <sub>2-5</sub> < 0,001; p <sub>3-4</sub> < 0,05; p <sub>4-7</sub> > 0,05; p <sub>3-6</sub> < 0,001; p <sub>1-5</sub> < 0,001; p <sub>1-6</sub> < 0,001; p <sub>1-7</sub> < 0,002; p <sub>5-6</sub> < 0,002; p <sub>5-7</sub> < 0,05; p <sub>5-8</sub> < 0,01; p <sub>6-7</sub> < 0,002; p <sub>1-8</sub> < 0,01; p <sub>1-9</sub> < 0,001; p <sub>1-10</sub> < 0,001; p <sub>8-9</sub> < 0,001; p <sub>7-10</sub> > 0,05; p <sub>8-10</sub> > 0,05; p <sub>9-10</sub> < 0,001									
№ серії	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
СМП/280, ум. од.	167,6 ±4,5	217,0 ±10,8	162,8 ±12,7	341,5 ±20,9	288,0 ±17,7	242,6 ±12,9	270,6 ±11,8	218,0 ±14,0	294,8 ±15,8	194,5 ±20,5
p	p <sub>1-2</sub> < 0,002; p <sub>1-3</sub> > 0,05; p <sub>1-4</sub> < 0,002; p <sub>2-3</sub> < 0,02; p <sub>2-4</sub> < 0,001; p <sub>2-5</sub> < 0,02; p <sub>3-4</sub> < 0,001; p <sub>4-7</sub> < 0,02; p <sub>3-6</sub> < 0,01; p <sub>1-5</sub> < 0,001; p <sub>1-6</sub> < 0,001; p <sub>1-7</sub> < 0,001; p <sub>5-6</sub> > 0,05; p <sub>5-7</sub> > 0,05; p <sub>5-8</sub> < 0,05; p <sub>6-7</sub> > 0,05; p <sub>6-9</sub> < 0,05; p <sub>1-8</sub> < 0,01; p <sub>1-9</sub> < 0,001; p <sub>1-10</sub> < 0,05; p <sub>8-9</sub> < 0,05; p <sub>7-10</sub> < 0,05; p <sub>8-10</sub> < 0,05; p <sub>9-10</sub> < 0,05									



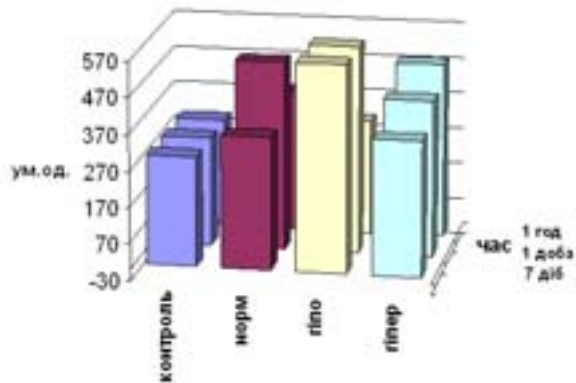


Рис. 1. Графічна характеристика змін рівня СМП/254 у крові піддослідних груп тварин.

( $p < 0,001$ ). Варто зазначити, що між собою в цей термін спостереження цифрові величини статистично достовірно не відрізнялись, а від попереднього терміну (1 год) статистично достовірно ( $p < 0,02$ ) відрізнялись. Через 7 діб від початку даного експерименту в жодній групі спостережень рівень СМП/280 не досягав контрольної величини. Так, у гіпоергічних щурів цей показник ще збільшився і дорівнював ( $294,8 \pm 15,8$ ) ум. од., тобто на 75,89 % від контрольної величини ( $p < 0,001$ ); у нормергічних тварин він склав ( $218,0 \pm 14,0$ ) ум. од., тобто зменшився від попереднього терміну спостереження на 41,77 % ( $p < 0,05$ ) і був більшим від контрольної величини на 30,07 % ( $p < 0,01$ ); у гіперергічних щурів рівень СМП/280 склав ( $194,5 \pm 20,5$ ) ум. од., тобто знизився від попереднього терміну спостереження на 45,41 % ( $p < 0,05$ ) і був вищим від контрольної величини на 16,05 % ( $p < 0,05$ ) (рис. 2). У цей термін спостереження цифрові величини статистично достовірно відрізнялися між собою ( $p < 0,05$ ).

Окрім змін рівня СМ, про зміни EI за умов розвитку АМП свідчать також величини сорбційної здатності еритроцитів (СЗЕ); результати, наведені в таблиці 2 та на рисунку 3, показують, що у всіх групах спостережень через 1 год після введення адреналіну рівень СЗЕ підвищувався.

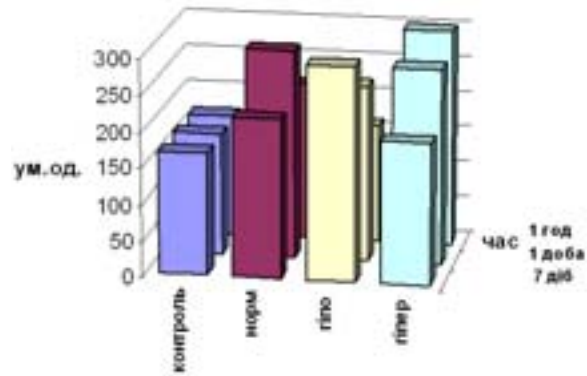


Рис. 2. Графічна характеристика змін рівня СМП/280 у крові піддослідних груп тварин.

У групі з нормергічним перебігом АМП він становив ( $43,52 \pm 3,41$ ) % (% сорбції метиленовою синього), тобто на 48,94 % (в 1,49 раза) ( $p < 0,001$ ) вище, ніж в контрольній групі щурів; у гіпоергічній групі показник зріс до ( $38,68 \pm 0,90$ ) %, тобто на 32,38 % (в 1,32 раза) ( $p < 0,001$ ); в гіперергічній – склав ( $46,65 \pm 2,90$ ) %, тобто вище за контрольну величину на 59,65 % (в 1,6 раза) ( $p < 0,001$ ). Наведені цифрові значення мали між собою статистично достовірну різницю ( $p < 0,05$ ). Через 24 год після введення адреналіну в групах спостережень реєстрували суттєве збільшення СЗЕ: в нормергічній групі вона склала ( $39,66 \pm 1,83$ ) %, тобто на 35,73 % (в 1,36 раза) ( $p < 0,001$ ); в гіпоергічній зростання досягло ( $53,20 \pm 11,29$ ) %, тобто на 82,07 % (в 1,82 рази) ( $p < 0,05$ ); в гіперергічній показник дорівнював ( $40,43 \pm 2,38$ ) %, тобто на 38,36 % (в 1,38 раза) ( $p < 0,002$ ). Слід вказати, що всі показники статистично достовірно відрізнялися між собою ( $p < 0,05$ ). Від показників попереднього терміну спостереження різниця була статистично недостовірною ( $p > 0,05$ ) в норма гіпоергічній групах і статистично достовірною ( $p < 0,05$ ) в гіперергічній.

Через 7 діб після початку експерименту в групах спостережень зі змодельованими патологічними умовами СЗЕ зменшувалася порів-

Таблиця 2 – СЗЕ крові піддослідних груп щурів у різні терміни дії кардіотоксичної дози адреналіну ( $M \pm m$ )

Показники	Інтактні тварини	Час дослідження після введення адреналіну								
		1 год			24 год			7 діб		
		нормерг.	гіпоерг.	гіперерг.	нормерг.	гіпоерг.	гіперерг.	нормерг.	гіпоерг.	гіперерг.
№ серії	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Кількість тварин	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6
СЗЕ, %	29,22 $\pm 1,35$	43,52 $\pm 3,41$	38,68 $\pm 0,90$	46,65 $\pm 2,90$	39,66 $\pm 1,83$	53,20 $\pm 11,29$	40,43 $\pm 2,38$	29,95 $\pm 4,25$	36,00 $\pm 1,84$	31,56 $\pm 1,51$
p	$p_{1,2} < 0,001$ ; $p_{1,3} < 0,001$ ; $p_{1,4} < 0,001$ ; $p_{2,3} < 0,05$ ; $p_{2,4} < 0,05$ ; $p_{2,5} > 0,05$ ; $p_{3,4} < 0,001$ ; $p_{3,6} > 0,05$ ; $p_{1,5} < 0,001$ ; $p_{1,6} < 0,05$ ; $p_{1,7} < 0,002$ ; $p_{4,7} < 0,002$ ; $p_{5,6} < 0,05$ ; $p_{5,7} < 0,05$ ; $p_{5,8} < 0,05$ ; $p_{6,7} < 0,05$ ; $p_{6,9} > 0,05$ ; $p_{1,8} < 0,001$ ; $p_{1,9} < 0,001$ ; $p_{1,10} < 0,002$ ; $p_{8,9} < 0,05$ ; $p_{7,10} < 0,05$ ; $p_{8,10} < 0,05$ ; $p_{9,10} < 0,001$									

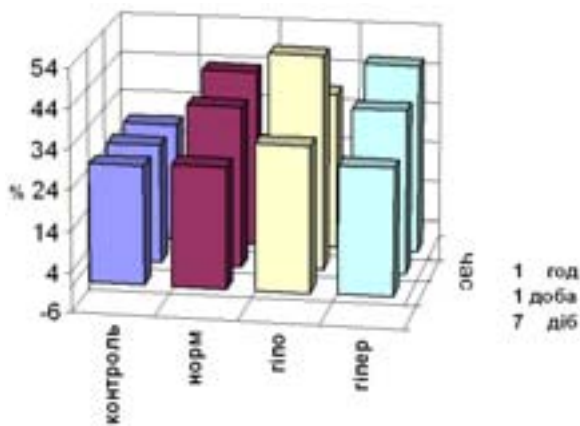


Рис. 3. Графічна характеристика змін рівня СЗЕ крові піддослідних груп тварин.

няно із попереднім терміном (24 год): в нормергічній групі показник склав  $(29,95 \pm 4,25)$  %, тобто майже досягнув контрольної величини, але був більшим на 2,50 % ( $p < 0,001$ ); в гіпоергічній –  $(36,00 \pm 1,84)$  %, тобто був вищим за аналогічну контрольну величину на 23,20 % ( $p < 0,001$ ) і знизився від попереднього терміну спостереження на 58,87 % ( $p > 0,05$ ); в гіперергічній –  $(31,56 \pm 1,51)$  %, тобто був більшим за контрольну величину на 8,0 % ( $p < 0,002$ ) і зменшився від попереднього терміну спостереження на 30,36 % ( $p < 0,05$ ).

Отже, особливості змін СЗЕ та вмісту МСМ у крові тварин з різним перебігом запальної реакції в міокарді за розвитку АМП, залежно від терміну, який минув після дії адреналіну, були близькими між собою за спрямованістю в гіпер- та нормергічній групах; в гіпоергічній групі тварин на 7-му добу спостерігалось збільшення МСМ порівняно з попередніми термінами спостережень. Коливання показників за амплітудою були більшими в групах зі зміненою реактивністю.

**ВИСНОВКИ.** 1. Через 1 і 24 год після дії адреналіну вміст СМ/254 (вміст ланцюгових амінокислот у середньомолекулярних пептидах та продуктах їх розпаду) в нормергічній групі зріс від аналогічного контрольного на 28,65 і 72,41 %; в гіпоергічній групі показник підви-

щився на 3,88 і 88,92 %; в групі з гіперергічним перебігом АМП збільшився на 59,58 і 42,44 % відповідно. Через 7 днів при гіпоергічному перебізі запальної реакції за умов АМП спостерігалось збільшення на 104,64 %, у групах з норм- і гіперергічним перебігом АМП показник склав 20,69 і 23,34 % відповідно при порівнюванні з контрольною величиною.

2. Через 1 і 24 год від початку досліду рівень СМП/280 (ароматичні амінокислоти) в нормергічній групі підвищився на 29,47 і 71,84 %; в гіпоергічній групі цей показник зменшився на 2,86 % через 1 год і збільшився на 44,74 % від контрольної величини через 24 год; у групі спостережень з гіперергічним перебігом АМП він зріс на 103,76 % (у 2,04 раза) через 1 год і знизився через 24 год, але був більшим від контрольного на 61,46 %. Через 7 днів від початку даного експерименту в гіпоергічній групі даний показник продовжував збільшуватися і перевищував на 75,89 % контрольну величину; в групах з норм- і гіперергічним перебігом АМП показник зменшився, але перевищував контрольну величину на 30,07 і 16,05 % відповідно.

3. Через 1 год після введення адреналіну рівень СЗЕ підвищувався у групі з нормергічним перебігом АМП на 48,94 % (в 1,49 раза), через 24 год – на 35,73 % (в 1,36 раза); в гіпоергічній групі показник зріс на 32,38 (в 1,32 раза) і 82,07 % (в 1,82 раза) відповідно; в гіперергічній групі цей показник був вищим за контрольну величину на 59,65 (в 1,6 раза) і 38,36 %. Через 7 днів після початку експерименту в нормергічній групі показник майже досягнув контрольної величини, але був більшим на 2,50 %; в гіпоергічній групі був більшим за аналогічну контрольну величину на 23,20 %, в гіперергічній групі був вищим за контрольну величину на 8,0 %.

4. За дії кардіотоксичної дози адреналіну розвивається синдром ендогенної інтоксикації, про що свідчить зростання маркерів ЕІ – середніх молекул (СМП/254, СМП/280) та СЗЕ. Вираження синдрому є більшим в першу годину і добу експерименту в гіперергічній групі, через 7 днів спостерігається значне збільшення ЕІ в гіпоергічній групі.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Андрейчин М.А., Бех М.Д., Дем'яненко В.В. та ін. Методи дослідження ендогенної інтоксикації організму: Методичні рекомендації. – К., 1998. – 31 с.
2. Бакалюк О.Й., Панчишин Н.Я., Дзига С.В. Синдром ендогенної інтоксикації, механізм виник-

нення, методи ідентифікації // Вісник наук. досліджень. – 2000. – № 1. – С. 11-13.

3. Маркова Е.А., Мисула І.Р. Показатели состояния перекисного окисления липидов в сердечной мышце взрослых и старых животных при развитии

адреналиновой миокардиодистрофии // Проблемы старения и долголетия. – 1992. – № 1. – С. 14-16.

4. Мисула І.Р., Вайда О.В. Загоєння кукси бронха після пульмонектомії у тварин з різною реактивністю // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2003. – № 1. – С. 147.

5. Перепелиця М.П., Мисула І.Р. Особливості імунних і метаболічних зрушень у дорослих і старих щурів за розвитку адренергічного ушкодження

печінки // Вісник наук. досліджень. – 2007. – № 1. – С. 105-108.

6. Швед М.І., Тофан І.П., Радецька Л.В. та ін. Застосування вобензиму для корекції порушень перекисного окислення ліпідів і синдрому ендогенної інтоксикації при автоімунних ускладненнях гострого інфаркту міокарда // Вісник наук. досліджень. – 2006. – № 4. – С. 107-110.

## СОСТОЯНИЕ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У ЖИВОТНЫХ С РАЗЛИЧНЫМ ТИПОМ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ ПРИ АДРЕНАЛИНОВОЙ МИОКАРДИОПАТИИ

**А.Б. Бойків**

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

### Резюме

*При действии кардиотоксической дозы адреналина развивается синдром эндогенной интоксикации (ЭИ), о чём свидетельствует рост её маркеров – средних молекул (СМП/254, СМП/280) и сорбционной способности эритроцитов. Степень выраженности синдрома является большей в первый час и сутки эксперимента в гиперэргической группе, через 7 суток наблюдается значительное увеличение ЭИ в гипоэргической группе.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** адреналиновая миокардиопатия, нормэргическое, гипоэргическое, гиперэргическое течение воспалительной реакции, состояние эндогенной интоксикации.

## STATE OF ENDOGENOUS INTOXICATION AT ANIMALS WITH DIFFERENT TYPE OF INFLAMMATORY REACTION AT ADRENALIN MYOCARDIOPATHY

**A.B. Boykiv**

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

### Summary

*The syndrome of endogenous intoxication develops at the action of cardiotoxic dose of adrenalin, which is proved by the growth of its markers – medium molecules and sorption ability of erythrocytes. The degree of expression syndrome is more in the first hour and day of experiment in hyperergic group, after 7 days is observed a considerable increase of endogenous intoxication in hypoergic group.*

**KEY WORDS:** adrenalin myocardiopathy, normergic, hypoergic, hyperergic course of inflammatory reaction, state of endogenous intoxication.

Отримано 10.09.2008 р.

**Адреса для листування:** А.В. Бойків, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м.Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

## ЗМІНИ ВМІСТУ ДЕЯКИХ ГОСТРОФАЗНИХ БІЛКІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЧОЛОВІКІВ ПРИ ГОСТРОМУ АПЕНДИЦИТІ

Н.О. Танадайчук

ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ

*У роботі наведено дані про зв'язок між змінами вмісту  $\alpha$ -1-антитрипсину, С-реактивного білка, гаптоглобіну, церулоплазміну в сироватці крові пацієнтів при гострому апендициті.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:**  $\alpha$ -1-антитрипсин, С-реактивний білок, гаптоглобін, церулоплазмін, сироватка, здорові люди, гострий апендицит.

ВСТУП. Вміст у сироватці гострофазних білків ( $\alpha$ -1-антитрипсину, С-реактивного білка, гаптоглобіну, церулоплазміну й ін.), які входять до захисної системи організму, успішно використовують як діагностичний критерій при діагностиці гострих бактеріальних чи вірусних інфекцій, колагенозів, холециститу, гепатиту, панкреатиту, пневмонії та інших хвороб [3, 8]. Однак у доступних нам джерелах інформації ми не знайшли відомостей про використання гострофазнобілкових показників при діагностиці гострого апендициту. Гостре запалення червоподібного відростка є доволі поширеною хворобою [5, 7], при якій діагностичні помилки можуть сягати 15-25 % і більше [2], особливо у дітей і людей похилого віку [6]. Враховуючи те, що гострий апендицит доволі часто викликають грамнегативні бактерії (E. Coli й ін.), анаероби, ентерококи тощо [1], ми вирішили вивчити зв'язок між змінами вмісту гострофазних протеїнів у крові та наявністю цієї хвороби.

Метою роботи було вивчення концентрацій і їх співвідношення у сироватці крові  $\alpha$ -1-антитрипсину, С-реактивного білка, гаптоглобіну і церулоплазміну у хворих чоловіків з різними формами перебігу гострого апендициту.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. При з'ясуванні закономірностей змін вмісту гострофазних протеїнів у сироватці крові нами проведено лабораторне обстеження 85 хворих чоловіків з катаральним (26), флегмонозним (26) та гангренозним (33) гострим апендицитом в першу годину після звернення їх до медичного закладу

за допомогою. Отримані результати були зіставлені з даними групи здорових чоловіків (21) без ознак запалення органів. При лабораторному обстеженні здорових і хворих у сироватці крові визначали концентрації  $\alpha$ -1-антитрипсину, С-реактивного білка, гаптоглобіну і церулоплазміну за допомогою імунологічних методів при використанні комплектів реактивів по інструкціях фірми-виробника "CORMAY", які сертифіковані в Україні. Одержані результати обчислювали статистично за допомогою комп'ютера при використанні стандартних програм по t-критерію Стьюдента, а також з вирахуваннями "діагностичних критеріїв" для показників гострофазних білків [4].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При вивченні вмісту в сироватці крові гострофазних білків у більшості хворих чоловіків з гострим апендицитом виявлено помірне підвищення (табл. 1). Порівняно з даними групи здорових чоловіків при катаральному апендициті концентрація  $\alpha$ -1-антитрипсину достовірно зростала в середньому на 15,7 %, при флегмонозному – на 32,2 %, а при гангренозному – на 46,1 %. Порівняно з катаральним апендицитом у чоловіків вміст  $\alpha$ -1-антитрипсину достовірно збільшувався: при флегмонозному – на 14,3 %, при гангренозному – на 26,3 %, а при гангренозному апендициті відносно флегмонозного цей показник зріс всього на 10,4 %.

Таким чином, отримані дані свідчать про те, що навіть при найлегшому запаленні червоподібного відростка реєструється помірне, але достовірне підвищення концентрації  $\alpha$ -1-

© Н.О. Танадайчук, 2008.

антитрипсину. Ця закономірність пов'язана з патогенезом запалення [3, 8], що підтверджується суттєвим збільшенням вмісту цього білка при більш тяжких формах перебігу апендициту (флегмонозній та гангренозній). Таку прямо пропорційну залежність між вираженням запалення та зростанням концентрації  $\alpha$ -1-антитрипсину можна в перспективі використовувати для диференціації ступенів тяжкості хвороби.

Більш значно достовірно підвищувалась концентрація С-реактивного білка, порівняно з результатами групи здорових чоловіків, у хворих з катаральним апендицитом – у середньому в 4,9 раза, з флегмонозним – в 18,6 раза, а з гангренозним – аж у 22,8 раза (див. табл. 1). Порівняно з катаральним апендицитом у чоловіків вміст С-реактивного білка достовірно зростав: при флегмонозному – в 3,8 раза, при гангренозному – в 4,7 раза, а при гангренозному апендициті відносно флегмонозного цей показник збільшувався всього в 1,2 раза.

Таким чином, наведені результати свідчать про те, що концентрація С-реактивного білка у сироватці достовірно підвищується, відповідно до ступеня тяжкості запалення червоподібного відростка, всього в декілька разів при катаральному апендициті й у десятки разів – при флегмонозному та гангренозному. Оскільки кожній формі запалення червоподібного відростка відповідає певна середньостатистична величина концентрації С-реактивного білка, яка достовірно більша від менш легкої

форми запалення, то це обґрунтовує використання даного показника не тільки для діагностики, але і для диференціювання ступенів тяжкості перебігу хвороби.

При катаральному апендициті концентрація гаптоглобіну в сироватці зростала недостовірно – в середньому на 18,3 % порівняно з результатами групи здорових чоловіків, при флегмонозному – на 87,5 % (достовірно), а при гангренозному – на 70,9 % (достовірно) (див. табл. 1). Порівняно з даними при катаральному апендициті у чоловіків вміст гаптоглобіну достовірно збільшувався: при флегмонозному – на 58,5 %, при гангренозному – на 44,4 %, а при гангренозному запаленні відносно флегмонозного цей показник зменшувався несуттєво.

Отримані результати свідчать про те, що достовірно помірне зростання концентрації гаптоглобіну реєструється тільки при виражених запаленнях (флегмонозному та гангренозному) червоподібного відростка і без суттєвої різниці між найтяжчим (гангренозним) запаленням та більш легким (флегмонозним). Одночасно виявляється достовірна різниця з підвищенням вмісту гаптоглобіну при флегмонозному і гангренозному апендициті порівняно з катаральним.

При вивченні концентрації церулоплазміну в сироватці крові було виявлено відсутність достовірних змін при катаральному, флегмонозному і гангренозному апендициті відносно показника у здорових чоловіків.

Таблиця 1 – Рівень гострофазних білків ( $M \pm m$ ) у сироватці крові чоловіків при різних формах перебігу гострого апендициту

Гострофазні білки	р	Здорові (n=21)	Гострий апендицит		
			катаральний (n=26)	флегмонозний (n=26)	гангренозний (n=33)
$\alpha$ -1-антитрипсин, мг/л	$p_1$ $p_2$ $p_3$	1,563 $\pm$ 0,056	1,808 $\pm$ 0,053 <0,002	2,067 $\pm$ 0,063 <0,001 <0,002	2,283 $\pm$ 0,052 <0,001 <0,001 <0,001
С-реактивний білок, мг/л	$p_1$ $p_2$ $p_3$	2,44 $\pm$ 0,253	11,86 $\pm$ 1,211 <0,001	45,43 $\pm$ 3,775 <0,001 <0,001	55,748 $\pm$ 2,712 <0,001 <0,001 <0,05
Гаптоглобін, мг/л	$p_1$ $p_2$ $p_3$	1,14 $\pm$ 0,114	1,349 $\pm$ 0,104 <0,25	2,318 $\pm$ 0,19 <0,001 <0,001	1,948 $\pm$ 0,146 <0,001 <0,001 <0,5
Церулоплазмін, мг/дл	$p_1$ $p_2$ $p_3$	30,74 $\pm$ 1,609	27,46 $\pm$ 2,289 <0,5	33,25 $\pm$ 1,393 <0,5 <0,05	29,49 $\pm$ 2,142 >0,5 <0,5 <0,25

Примітка.  $p_1$  – відображає різницю між показниками у групі здорових і групі з гострим апендицитом;  
 $p_2$  – між показниками у групі з катаральним апендицитом та флегмонозним чи гангренозним;  
 $p_3$  – між показниками у групі з флегмонозним апендицитом та гангренозним.

Діагностичне значення змін концентрацій гострофазних білків при різних формах перебігу гострого апендициту аргументується цифровими величинами діагностичних критеріїв (чутливості, специфічності, значимості, ефективності) (табл. 2).

При гострому катаральному апендициті реальне діагностичне значення має тільки зростання у сироватці крові вмісту С-реактивного білка. Цифрове значення "діагностичної чутливості" збільшення концентрації С-реактивного білка при катаральному апендициті у чоловіків було лише на 7,7 % меншим від максимальної величини, оскільки тільки у двох хворих концентрація була в межах цього показника (M+2S) у здорових. "Діагностична специфічність" і "діагностична значимість +" збільшення вмісту С-реактивного білка при катаральному запаленні мали максимальні величини, що обумовлено відсутністю випадків перевищення верхнього рубежу довірчого інтервалу показника (M+2S) у здорових, а "діагностична значимість" була всього на 8,7 % меншою та "діагностична ефективність" на 4,3 % меншою від максимальних величин, що підтверджує обґрунтованість використання даного показника для діагностики.

Разом із тим, при катаральному апендициті зростання концентрацій  $\alpha$ -1-антитрипсину, гаптоглобіну та церулоплазміну мали дуже

низькі значення "діагностики чутливості", тому величини "діагностичної ефективності" коливались тільки в межах близько 50 %, що свідчить про неефективне використання їх в діагностичному процесі.

При флегмонозному апендициті у чоловіків підвищення концентрації С-реактивного білка у сироватці крові обґрунтовується максимальними значеннями всіх діагностичних критеріїв, що підтверджує найбільшу діагностичну ефективність цього показника. Зростання вмісту  $\alpha$ -1-антитрипсину в сироватці реєструється у більшості пацієнтів, що видно з величини "діагностичної чутливості", у зв'язку з чим цифрове значення "діагностичної ефективності" наближається до 80 %, що обґрунтовує використання даного показника для діагностики флегмонозного запалення.

Однчасне збільшення концентрацій гаптоглобіну і церулоплазміну при флегмонозному апендициті мають "діагностичну чутливість", меншу 50 %, тому за величинами "діагностичної ефективності", які набагато менші від максимальних значень, видно, що результативність діагностики за цими показниками є дуже низькою.

При гангренозному апендициті зростання вмісту С-реактивного білка також має максимальні значення всіх "діагностичних критеріїв", що обумовлює і найвагомішу "діагностичну ефективність" даного показника. Збільшення

Таблиця 2 – Діагностичні критерії (%) збільшення середньостатистичних концентрацій гострофазних білків у сироватці крові чоловіків при різних формах перебігу гострого апендициту

Діагностичні критерії	Гострий апендицит		
	катаральний n=26	флегмонозний n=26	гангренозний n=33
<b><math>\alpha</math>-1-антитрипсин</b>			
Діагностична чутливість	11,5	61,5	72,7
Діагностична специфічність	100	100	100
Діагностична значимість +	100	100	100
Діагностична значимість –	47,7	67,7	70,0
Діагностична ефективність	51,1	78,7	83,3
<b>С-реактивний білок</b>			
Діагностична чутливість	92,3	100	100
Діагностична специфічність	100	100	100
Діагностична значимість +	100	100	100
Діагностична значимість –	91,3	100	100
Діагностична ефективність	95,7	100	100
<b>Гаптоглобін</b>			
Діагностична чутливість	7,7	46,2	39,4
Діагностична специфічність	100	100	100
Діагностична значимість +	100	100	100
Діагностична значимість –	46,7	60,0	51,2
Діагностична ефективність	48,9	70,2	62,9
<b>Церулоплазмін</b>			
Діагностична чутливість	0	15,4	6,1
Діагностична специфічність	100	100	100
Діагностична значимість +	0	100	100
Діагностична значимість –	44,6	48,8	40,4
Діагностична ефективність	44,6	53,2	42,6

концентрації  $\alpha$ -1-антитрипсину реєструється більш ніж у 70 % пацієнтів, що обґрунтовує "діагностичну ефективність" більш ніж у 83 % випадків, і це дає основу для надійного використання цього показника при діагностиці гангренозного апендициту.

Разом із тим, вміст у сироватці крові гаптоглобіну і церулоплазміну зростає у меншості пацієнтів, тому використання цих показників для діагностики навіть найтяжчої форми запалення червоподібного відростка є неефективним.

Таким чином, концентрації трьох досліджуваних гострофазних білків у сироватці крові підвищувались відносно показників у здорових чоловіків при всіх формах гострого апендициту, але з різним ступенем вираження, що обумовлено місцем і ланкою їх у захисній системі організму. Безумовно, переважала інтенсивність збільшення концентрації С-реактивного білка при катаральному апендициті з більшим зростанням її при флегмонозному та гангренозному, що можна використовувати як основу для успішної діагностики. Наші дані збігаються з першорядним значенням цього протеїну в захисті організму, бо в перші години від початку запалення концентрація його може зростати в багато разів [3, 8]. Вміст  $\alpha$ -1-антитрипсину і гаптоглобіну в сироватці хворих збільшувався менш виражено, тому при діагностиці ці показники можна використовувати тільки як допоміжні. Наші результати співзвучні тим законам, що концентрації цих протеїнів зростають тільки у 2 і більше разів лише в перші дві доби від початку запалення [3, 8]. Ми реєстрували підвищення вмісту церулоплазміну в сироватці тільки у поодиноких пацієнтів,

оскільки зростання даного показника всього на 20-60 % можливе тільки через дві доби і більше від виникнення запалення [3, 8]. Одержані нами результати щодо зростання концентрацій гострофазних білків підтверджують, що більшість пацієнтів звертаються за медичною допомогою у перші години перших діб хвороби. Тому вміст церулоплазміну, можливо, потрібно визначати тільки при пізній діагностиці гострого апендициту.

**ВИСНОВКИ.** 1. У чоловіків з гострим запаленням червоподібного відростка підвищуються концентрації гострофазних білків у сироватці крові відносно показників у здорових.

2. Найбільш суттєве діагностичне значення має зростання концентрації С-реактивного білка у сироватці з достовірною різницею між середньостатистичними показниками при катаральному, флегмонозному та гангренозному апендициті.

3. Допоміжне діагностичне значення має збільшення вмісту  $\alpha$ -1-антитрипсину в сироватці крові, але тільки при діагностиці більш тяжких форм перебігу запалення червоподібного відростка (флегмонозної і гангренозної).

4. Тенденції до зростання концентрації гаптоглобіну в сироватці крові відмічають при флегмонозному та гангренозному апендициті, але з низькими величинами діагностичних критеріїв.

5. При гострому катаральному, флегмонозному та гангренозному апендициті у чоловіків відсутнє збільшення середнього вмісту церулоплазміну в сироватці крові, а підвищення реєструється тільки в поодиноких випадках.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Богун Л.В. Амоксициллин/клавуланат в современной клинической практике // Новости медицины и фармации (в мире). – 2008. – № 3 (234). – С. 3-5.

2. Гринберг А.П., Михайлуков С.В., Тронин Р.Ю., Дроздов Г.Э. Диагностика трудных случаев острого аппендицита. – М.: Триада-Х., 1998. – 128 с.

3. Долгов В.В., Шевченко О.П., Шарышев А.А., Бондарь В.А. Турбидиметрия в лабораторной практике. – М.: Реафарм, 2007. – 176 с.

4. Клиническая лабораторная аналитика / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Лабпресс, 2000. – Т. 1: Основы клинического лабораторного анализа. – 265 с.

5. Клиническая хирургия / За ред. Л.Я. Ковальчука, В.Ф. Саєнка, Г.В. Крешкова. – 2-ге вид. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – Т. 2. – 504 с.

6. Ковалев А.И., Цуканов Ю.Т. Школа неотложной хирургической практики: Учебное пособие. – М.: Мед. книга, 2004. – 768 с.

7. Лупальцов В.И., Дехтярук И.А., Калашник М.П. Внутрикшечное кровотечение из культуры червеобразного отростка после аппендэктомии // Клін. хірургія. – 2005. – № 6. – С. 47.

8. Шевченко О.П., Долгов В.В., Олефиренко Г.А. Электрофорез в клинической лаборатории. I. Белки сыворотки крови. – М.: Реафарм, 2006. – 160 с.

## ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ НЕКОТОРЫХ ОСТРОФАЗНЫХ БЕЛКОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ МУЖЧИН ПРИ ОСТРОМ АППЕНДИЦИТЕ

Н.О. Танадайчук

ХАРЬКОВСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ

### Резюме

В работе приведены данные о связи между изменениями содержания  $\alpha$ -1-антитрипсина, С-реактивного белка, гаптоглобина, церулоплазмينا в сыворотке крови пациентов при остром аппендиците.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:  $\alpha$ -1-антитрипсин, С-реактивный белок, гаптоглобин, церулоплазмин, сыворотка, здоровые люди, острый аппендицит.

## CHANGES OF CONTENTS OF SOME ACUTE-PHASE PROTEINS IN BLOOD SERUM OF MEN AT ACUTE APPENDICITIS

N.O. Tanadaychuk

KHARKIV MEDICAL ACADEMY OF POST-GRADUATE EDUCATION

### Summary

The data on relation between the changes of  $\alpha$ -1-antitrypsine, C-reactive protein, haptoglobine, ceruloplasmine contents in patients' blood serum at acute appendicitis are adduced in the work.

KEY WORDS:  $\alpha$ -1-antitrypsine, C-reactive protein, haptoglobine, ceruloplasmine, serum, healthy people, acute appendicitis.

Отримано 2.09.2008 р.

Адреса для листування: Н.О. Танадайчук, Харківська медична академія післядипломної освіти, вул. Корчагінців, 58, Харків, 61176, Україна.

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



## ВПЛИВ КАРБОРЕНУ НА ПРОТЕОЛІТИЧНУ 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 протеолітичну активність плазми крові, сечі та внутрішніх органів. Встановлено, що тривале введення карборену в дозі 10,7 мг/кг підсилює протеолітичну активність плазми крові та сечі, підвищує інтенсивність лізису азоальбуміну в печінці, кірковій і мозковій речовині нирок та азоколу в сосочках нирок, а також знижує активність розпаду азоколу в мозковій речовині нирок.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** протеолітична активність, плазма крові, сеча, карборен.

**ВСТУП.** Раніше нами було вивчено вплив карборену на фібринолітичну активність плазми крові, сечі та внутрішніх органів [3]. Дане дослідження є другою серією експериментів з вивчення дії карборену в тій же дозі на протеолітичну активність тих же органів і систем, оскільки, за даними літератури, зміни у фібринолітичній системі відображаються і на протеолітичній активності [1].

У зв'язку з викладеним, метою роботи стало дослідження впливу карборену на протеолітичну 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: перша – при визначенні протеолітичної активності плазми крові та сечі у щурів, друга – при вивченні протеолітичної активності печінки та нирок. Тваринам 3-ї та 4-ї груп вводили карборен в дозі 10,7 мг/кг: їх використано для вивчення аналогічних показників.

Протеолітичну активність плазми крові, сечі та внутрішніх органів визначали за методикою К.Н. Веремеєнко 2 без використання плазміногену й епсилон-амінокапронової кислоти. При цьому застосовували колорогенні сполуки: азоальбумін (лізис низькомолекулярних білків), азоказеїн (лізис великомолекулярних білків) та азокол (лізис колагену) фірми "Simko LTD" (Україна). Евтаназію тварин проводили під ефірною анестезією шляхом декапітації. Печінку і нирки одразу заморожували у рідкому азоті.

© О.І. Набока, А.І. Березнякова, 2008.

Безпосередньо перед аналізом тканини гомогенізували в охолоджену боратну буфері (рН – 7,0).

Протягом експерименту зі щурами поводитися відповідно до міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментів та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986). Дані обробляли методами параметричної статистики з використанням t-критерію Стьюдента [4].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Проведені нами дослідження показали, що після застоювання карборену спостерігались певні зміни протеолітичної активності у щурів. Мало місце збільшення протеолітичної активності плазми крові тварин. Так, показники ферментативної деградації азоальбуміну та азоколагену зростали в 1,28 раза (p<0,05) порівняно з контрольною групою тварин. Більш інтенсивним був лізис азоказеїну – перевищував показники контролю у 2,3 раза (p<0,05) (табл. 1).

Більш виражено змінювалась протеолітична активність сечі. Показники розпаду азоальбуміну перевищували контрольні в 1,7 раза (p<0,05) (табл. 2).

Після введення карборену ми також спостерігали вірогідне підсилення лізису азоказеїну в 1,3 раза. Показники розпаду азоколу під впливом карборену від контрольних значень суттєво не відрізнялися.

Ми вивчали також протеолітичну активність печінки і ті ж показники в тканинах нирок пошарово – у кірковій, мозковій тканинах та сосочку нирок. Як свідчать отримані дані, в

печінці карборен вірогідно підсилював тільки розпад азоальбуміну – у 2,3 раза ( $p < 0,05$ ) порівняно з контролем. Лізис азоказеїну мав незначну тенденцію до зростання – на 26 % ( $p \geq 0,05$ ). Показники ферментативної деградації азоколагену в дослідній та контрольній групах суттєво між собою не відрізнялися.

Результати досліджень протеолітичної активності в тканині нирок показали неоднорідність змін досліджуваних показників. Так, в кірковій речовині нирок ми спостерігали суттєве (на 224 %,  $p < 0,05$ ) зростання лізису азоальбуміну, підсилення (в 1,76 раза,  $p < 0,05$ ) деградації азоказеїну під впливом карборену без суттєвих змін інтенсивності розпаду азоколу (табл. 3).

Показники протеолітичної активності мозкового шару нирок коливались у досить великих межах. Так, ферментативний розпад азоальбуміну перевищував дані контрольної групи тварин в 1,98 раза ( $p < 0,05$ ). Лізис азоказеїну мав тенденцію до зростання (в 1,2 раза порівняно з контролем,  $p < 0,05$ ). Проте деградація азоколу під впливом карборену була вірогідно

( $p < 0,05$ ) нижчою показників контрольної групи – на 82,6 %.

Щодо змін протеолітичної активності в сосочковому шарі нирок, необхідно відмітити виражене підсилення лізису азоколу – на 200 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з контролем при майже незмінних показниках деградації азоальбуміну та азоказеїну.

Отже, за умов тривалого введення карборену спостерігається зростання протеолітичної активності плазми крові й сечі, посилюється інтенсивність лізису азоальбуміну в печінці, кірковій і мозковій речовині нирок та азоколу в сосочках нирок, а також знижується активність розпаду азоколу в мозковій речовині нирок.

**ВИСНОВКИ.** 1. Карборен підсилює протеолітичну активність плазми крові та сечі.

2. Карборен підвищує інтенсивність лізису азоальбуміну в печінці, кірковій та мозковій речовині нирок та азоколу в сосочках нирок.

3. Карборен знижує активність розпаду азоколу в мозковій речовині нирок.

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

Показники, які вивчали	Контроль	Карборен
Лізис азоальбуміну, $E_{440}/\text{мг/год}$	6,08 $\pm$ 0,4	7,95 $\pm$ 0,46
Лізис азоказеїну, $E_{440}/\text{мг/год}$	5,28 $\pm$ 0,27	11,86 $\pm$ 0,44
Лізис азоколу, $E_{440}/\text{мг/год}$	0,55 $\pm$ 0,04	0,73 $\pm$ 0,04

Примітка.  $n=10$ ;  $p < 0,05$  відносно контролю.

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

Показники, які вивчали	Контроль	Карборен
Лізис азоальбуміну, $E_{440}/\text{мг/год}$	0,91 $\pm$ 0,03	1,54 $\pm$ 0,09*
Лізис азоказеїну, $E_{440}/\text{мг/год}$	1,22 $\pm$ 0,08	1,65 $\pm$ 0,16*
Лізис азоколу, $E_{440}/\text{мг/год}$	0,07 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,01**

Примітка. Тут і в наступній таблиці:  $n=10$ ; \* –  $p < 0,05$  відносно контролю; \*\* –  $p \geq 0,05$  відносно контролю.

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

Протеолітична активність ( $E_{440}/\text{мг/год}$ )	Контроль	Карборен
<b>Печінка</b>		
лізис азоальбуміну	13,92 $\pm$ 1,59	33,40 $\pm$ 3,04*
лізис азоказеїну	22,31 $\pm$ 1,26	22,22 $\pm$ 2,19*
лізис азоколу	10,47 $\pm$ 0,76	11,72 $\pm$ 0,76*
<b>Кіркова речовина нирок</b>		
лізис азоальбуміну	12,70 $\pm$ 1,12	41,08 $\pm$ 3,36*
лізис азоказеїну	22,00 $\pm$ 1,68	38,45 $\pm$ 3,33*
лізис азоколу	5,46 $\pm$ 0,38	5,86 $\pm$ 0,45**
<b>Мозкова речовина нирок</b>		
лізис азоальбуміну	17,79 $\pm$ 1,70	35,30 $\pm$ 2,83*
лізис азоказеїну	23,25 $\pm$ 1,95	27,90 $\pm$ 2,98**
лізис азоколу	3,14 $\pm$ 0,15	1,73 $\pm$ 0,16*
<b>Сосочковий шар нирок</b>		
лізис азоальбуміну	53,02 $\pm$ 6,12	47,17 $\pm$ 4,50*
лізис азоказеїну	37,88 $\pm$ 7,92	44,52 $\pm$ 6,70**
лізис азоколу	1,41 $\pm$ 0,22	4,26 $\pm$ 0,30*

## ЛІТЕРАТУРА

1. Геруш О.В., Кишкан І.Г., Куковська І.Л., Косуба Р.Б. Фібринолітична активність засобів, які впливають на функціональну діяльність нирок // III Нац. з'їзд фармакол. Укр. "Фармакологія – крок у майбутнє": Тези доп. – Дніпропетровськ, 2001. – С. 54.
2. Магальяс В.М., Міхеєв 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.
3. Набока О.І., Березнякова А.І. Вплив карборену на фібринолітичну активність плазми крові, сечі та внутрішніх органів // Мед. хімія. – 2007. – 9, № 3. – С. 50-53.
4. Сернов Л.Н., Гацура В.В. Статистические методы оценки достоверности результатов фармакологических исследований // Элементы экспериментальной фармакологии. – М., 2000. – С. 308-315.

## ВЛИЯНИЕ КАРБОРЕНА НА ПРОТЕОЛИТИЧЕСКУЮ 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 протеолитическую активность плазмы крови, мочи и внутренних органов. Установлено, что продолжительное введение карборена в дозе 10,7 мг/кг усиливает протеолитическую активность плазмы крови и мочи, повышает интенсивность лизиса азоальбумина в печени, корковом и мозговом веществе почек и азокола в сосочках почек, а также снижает активность распада азокола в мозговом веществе почек.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** протеолитическая активность, плазма крови, моча, карборен.

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

**O.I. Naboka, A.I. Bereznyakova**  
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

### Summary

*The results of study of karboren influence on proteolytic activity of blood plasma, urine and internal organs are presented in the work. It has been established that prolonged introduction of karboren in a dose 10,7 mg/kg intensifies proteolytic activity of blood plasma and urine, increases the intensity of azoalbumin lysis in liver, cortical and marrow substances of kindneys and azokol in renal mamolonns. It reduces the intensity of azokol decay in marrow substance of kidneys.*

**KEY WORDS:** proteolytic activity, blood plasma, urine, karboren.

Отримано 29.08.2008 р.

**Адреса для листування:** О.І. Набока, Національний фармацевтичний університет, вул. Мельникова, 12, Харків, 61002, Україна.

## ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН АКТИВНОСТІ ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ У МІОКАРДІ ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ ЗА ЙОГО АДРЕНАЛІНОВОГО ПОШКОДЖЕННЯ

А.А. Лепявко, М.Р. Хара

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

*У статті показано вікову й статеву залежність процесів перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в міокарді на різних стадіях розвитку його адреналінового пошкодження. При введенні кардіотоксичної дози адреналіну суттєвіше активуються процеси перекисного окиснення ліпідів у міокарді дорослих самців і старих самок.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантний захист, адреналінове пошкодження міокарда, вік, стать.

ВСТУП. Фундаментальною особливістю усіх біологічних об'єктів є неминучість їхнього старіння, яке характеризується розвитком незворотних порушень функцій органів і систем організму, обмеженням його адаптаційних можливостей, збільшенням імовірності появи хвороб і настання смерті. Враховуючи те, що організм є цілісною системою, процеси старіння не можуть перебігати у ньому ізольовано. Разом із тим, рядом дослідників доведено, що вікові зміни насамперед стосуються серцево-судинної системи, причому порушення починають з'являтися на клітинному, субклітинному і молекулярному рівнях [5, 6, 8, 11, 17].

Складність та патогенетичне розмаїття процесів, що відбуваються при вікових змінах, призвели до виникнення багатьох теорій старіння [10, 13, 14, 19]. Якщо частина з них в наш час вже втратила актуальність, то інші продовжують розвиватися та доводити перспективність подальших досліджень у вивченні відповідних механізмів старіння. Одними з найбільш актуальних і розповсюджених в сучасній науці теорій старіння є вільнорадикальна та теорія "стрес-вік" синдрому. Обидві теорії, спираючись на ряд патогенетичних механізмів старіння, не заперечують, а взаємодоповнюють одна одну. Розмаїття і складність причин, що призводять до старіння, зумовлюють необхідність подальшого наукового пошуку особливостей функціональних і морфологічних змін як на рівні мікро- та макроструктур

© А.А. Лепявко, М.Р. Хара, 2008.

організму, так і в центральних та периферичних механізмах регуляції його функцій.

Відомо, що зі збільшенням загальної тривалості життя спостерігається зростання відмінностей у тривалості життя чоловіків і жінок. Такі вікові відмінності мають місце серед різних статей у більшості видів тварин, причому навіть у тих, які стоять на віддалених щаблях еволюційної драбини (комахи, павуки, риби, ссавці) [3]. В особин жіночої статі в старості спостерігається нижча смертність, із віком "жіноча перевага" над чоловіками у меншому відсотку захворюваності, зокрема на серцево-судинну патологію, істотно зменшується [2, 9, 12].

Доведено, що дія стресорних факторів супроводжується гіперадреналемією, якій належить провідна роль у процесі стресорного пошкодження міокарда [1, 3]. Якщо частота інфаркту міокарда є найбільшою у чоловіків середнього віку, то у жінок дане захворювання найчастіше розвивається після настання менопаузи або після овариєктомії [7, 15, 16, 18], тобто коли протективна дія жіночих статевих гормонів зведена до мінімуму. У зв'язку з цим, ми вирішили дослідити як вікові, так і статеві особливості адреналінового пошкодження міокарда (АПМ). Враховуючи положення вільнорадикальної теорії старіння, цікавим є порівняльний аналіз вираження перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантної системи захисту в пошкодженому адреналіном міокарді, адже згадані вище механізми відіграють провідну роль у підтриманні гомеостазу в кардіо-

міоцитах як за нормальних, так і патологічних умов. Метою дослідження було вивчити стан про- та антиоксидантної систем у міокарді щурів різного віку і статі за його адреналінового пошкодження.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Експеримент виконано на 84 щурах лінії Вістар. Усіх тварин поділено на 12 груп, по 7 тварин у кожній з них: 1. Дорослі самці (♂) (контроль). 2. Дорослі ♂ (1 год АПМ). 3. Дорослі ♂ (24 год АПМ). 4. Дорослі самки (♀) (контроль). 5. Дорослі ♀ (1 год АПМ). 6. Дорослі ♀ (24 год АПМ). 7. Старі ♂ (контроль). 8. Старі ♂ (1 год АПМ). 9. Старі ♂ (24 год АПМ). 10. Старі самки (♀) (контроль). 11. Старі ♀ (1 год АПМ). 12. Старі ♀ (24 год АПМ). Вік дорослих щурів становив 6-8 місяців, старих – 18-24 місяці. АПМ моделювали шляхом одноразового внутрішньом'язового введення адреналіну (1 мг/кг). Метаболічні зміни в міокарді вивчали на 1 і 24 год після ін'єкції, що відповідає етапам початку та максимуму некрозоутворення в міокарді. Визначали рівень дієнових кон'югатів (ДК), малонового діальдегіду (МДА), супероксиддисмутази (СОД), каталази (КАТ) у гомогенатах міокарда шлуночків.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Результати дослідження наведено в таблицях 1-4. Аналіз динаміки змін показників ПОЛ у процесі розвитку АПМ у дорослих тварин показав, що на 1 год

модельованої патології вміст ДК у шлуночках самців зростав на 22,2 %, у самок – на 10,9 % (табл. 1). Концентрація МДА підвищувалась, відповідно, на 23,9 і 26,2 % (табл. 2). Прогресування некротичних змін в міокарді (24 год АПМ) супроводжувалося подальшим зростанням вмісту ДК: у самців – на 31,0 % порівняно з контролем, у самок – на 23,2 %. Збільшувалась і концентрація МДА: на 60,5 % у самців та на 40,8 % у самок.

При порівнюванні показників ПОЛ у дорослих тварин різної статі було виявлено достовірно більшу концентрацію ДК в міокарді самців, порівняно із самками, як на 1, так і на 24 год розвитку АПМ. Зокрема, на 1 год АПМ вміст ДК в міокарді самців був більшим, ніж у самок, на 12,4 %, а на 24 год – на 8,5 %. Концентрація МДА на 24 год розвитку АПМ також була більшою у самців, ніж у самок, – на 19,4 %.

У старих самців на 1 год розвитку АПМ вміст ДК зріс на 37,7 %, у самок – на 52,9 %. Концентрація МДА підвищувалась, відповідно, на 39,3 і 69,1 %. Прогресування некротичних змін в міокарді (24 год АПМ) супроводжувалося подальшим зростанням вмісту ДК: у самців – на 44,9 % порівняно з контролем, у самок – на 58,4 %. Збільшувалась і концентрація МДА: на 63,2 % у самців та на 76,9 % у самок.

При порівнюванні показників ПОЛ у старих тварин різної статі достовірної різниці в концен-

Таблиця 1 – Вміст дієнових кон'югатів у міокарді шлуночків дорослих і старих самців та самок в динаміці розвитку некротичного процесу в міокарді, відн. од.

Вікова група статева група	Контроль	АПМ 1 год	АПМ 24 год
	n=7	n=7	n=7
Дорослі ♂	177,03±2,23 <sub>1</sub>	216,41±3,16 <sub>2</sub>	231,96±4,39 <sub>3</sub>
Дорослі ♀	173,59±4,03 <sub>4</sub>	192,49±3,16 <sub>5</sub>	213,87±5,24 <sub>6</sub>
Старі ♂	198,30±4,80 <sub>7</sub>	272,99±3,62 <sub>8</sub>	287,39±3,52 <sub>9</sub>
Старі ♀	185,03±4,71 <sub>10</sub>	282,86±5,00 <sub>11</sub>	293,11±2,01 <sub>12</sub>

Примітка. У цій та наступних таблицях подано лише достовірні значення p. p<sub>1,2</sub><0,001; p<sub>1,3</sub><0,001; p<sub>2,3</sub><0,02; p<sub>4,5</sub><0,01; p<sub>4,6</sub><0,001; p<sub>5,6</sub><0,01; p<sub>2,5</sub><0,001; p<sub>3,6</sub><0,05; p<sub>7,8</sub><0,001; p<sub>7,9</sub><0,001; p<sub>8,9</sub><0,02; p<sub>10,11</sub><0,001; p<sub>10,12</sub><0,001; p<sub>1,7</sub><0,002; p<sub>2,8</sub><0,001; p<sub>3,9</sub><0,001; p<sub>5,11</sub><0,001; p<sub>6,12</sub><0,001.

Таблиця 2 – Вміст малонового діальдегіду в міокарді шлуночків дорослих і старих самців та самок в динаміці розвитку некротичного процесу в міокарді, ммоль/кг

Вікова група статева група	Контроль	АПМ 1 год	АПМ 24 год
	n=7	n=7	n=7
Дорослі ♂	3,80±0,10 <sub>1</sub>	4,71±0,12 <sub>2</sub>	6,10±0,13 <sub>3</sub>
Дорослі ♀	3,63±0,10 <sub>4</sub>	4,58±0,11 <sub>5</sub>	5,11±0,20 <sub>6</sub>
Старі ♂	5,32±0,15 <sub>7</sub>	7,41±0,16 <sub>8</sub>	8,68±0,12 <sub>9</sub>
Старі ♀	4,50±0,11 <sub>10</sub>	7,61±0,10 <sub>11</sub>	7,96±0,15 <sub>12</sub>

Примітка. p<sub>1,2</sub><0,001; p<sub>1,3</sub><0,001; p<sub>2,3</sub><0,001; p<sub>4,5</sub><0,001; p<sub>4,6</sub><0,001; p<sub>5,6</sub><0,05; p<sub>3,6</sub><0,001; p<sub>7,8</sub><0,001; p<sub>7,9</sub><0,001; p<sub>8,9</sub><0,001; p<sub>10,11</sub><0,001; p<sub>10,12</sub><0,001; p<sub>7,10</sub><0,001; p<sub>9,12</sub><0,01; p<sub>1,7</sub><0,001; p<sub>2,8</sub><0,001; p<sub>3,9</sub><0,001; p<sub>4,10</sub><0,001; p<sub>5,11</sub><0,001; p<sub>6,12</sub><0,001.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

трації ДК у міокарді самців, порівняно із самками, на 1 і 24 год розвитку АПМ виявлено не було. Концентрація МДА на 24 год розвитку АПМ була більшою у самок, ніж у самців, на 9,0 %.

Порівнювання інтенсивності процесів ПОЛ у пошкоджену адреналіном серці дорослих і старих самців свідчить про більш виражені зміни у старих особин на всіх етапах дослідження. Зокрема, вміст ДК в міокарді старих самців у групі контролю, на 1 і 24 год АПМ був більшим, ніж у дорослих, на 12,0, 26,1 і 23,9 % відповідно. У старих самок вміст ДК перевищував показник дорослих на 46,9 % на 1 год АПМ і на 37,1 % на 24 год АПМ. Концентрація МДА у старих самців була більшою за показник у відповідних групах дорослих, відповідно, на 40,0, 57,3 і 24,3 %. У старих самок також спостерігалось переважання за даним показником порівнюваної групи, відповідно, на 24,0, 66,2 і 55,8 %.

Реакція антиоксидантної системи (АОС) на розвиток АПМ у тварин різного віку і статі мала певні особливості. На 1 год модельованої патології активність СОД у шлуночках дорослих самців підвищилась на 22,6 %, у самок – на 24,4 % (табл. 3), активність КАТ, відповідно, на 42,6 та 63,3 % (табл. 4). Прогресування некротичних змін в міокарді (24 год АПМ) супроводжувалося подальшим зростанням показників активності ферментів АОС. Зокрема, СОД у самців стала активнішою на 23,1 % порівняно з контролем, у самок – на 39,8 %, КАТ у самців – на 86,2 %, у самок – в 2,02 раза.

Порівнювання показників АОС дорослих тварин різної статі виявило достовірно вищу (на 18,1 %) активність СОД в міокарді самок, порівняно із самцями, на 24 год розвитку АПМ. Активність КАТ була більшою у самок і на 1, і на 24 год розвитку АПМ, а саме на 15,3 та 9,3 %.

У старих самців на 1 год АПМ активність СОД зменшилася на 7,8 %, в самок – на 19,1 %. На 24 год АПМ даний показник самців був на 14,9 % нижчим за контроль, а в самок – на 21,1 %. Активність КАТ у старих самців достовірно не змінювалася на всіх етапах експерименту. Разом з тим, у старих самок вона знизилася на 11,4 % на 1 год АПМ і через добу зросла, але не переважала вихідний рівень.

При порівнюванні показників АОС старих тварин різної статі виявлено достовірну різницю активності СОД і КАТ лише на 1 год розвитку АПМ. У старих самців активність СОД була більшою, ніж у самок, на 7,5 %, а КАТ – на 15,8 %.

Стан антиоксидантної системи за умов АПМ у старих тварин обох статей був більш пригніченим порівняно з дорослими особинами. Так, активність СОД міокарда старих самців у контролі, на 1 і 24 год АПМ була нижчою, ніж у дорослих, на 11,0, 33,1 і 38,5 % відповідно. У старих самок аналогічна відмінність становила, відповідно, 9,9, 41,4 та 49,1 %. Активність КАТ у старих самців на 1 і 24 год АПМ була нижчою, ніж у дорослих, на 28,2 і 47,4 %, а в старих самок – на 47,5 і 53,3 % відповідно.

Таблиця 3 – Активність супероксиддисмутази в міокарді шлуночків дорослих і старих самців та самок при розвитку некротичного процесу в міокарді, од. акт.

Вікова група статева група	Контроль	АПМ 1 год	АПМ 24 год
	n=7	n=7	n=7
Дорослі ♂	13,94±0,19 <sub>1</sub>	17,09±0,40 <sub>2</sub>	17,16±0,47 <sub>3</sub>
Дорослі ♀	14,50±0,18 <sub>4</sub>	18,04±0,32 <sub>5</sub>	20,27±0,77 <sub>6</sub>
Старі ♂	12,40±0,12 <sub>7</sub>	11,43±0,13 <sub>8</sub>	10,55±0,14 <sub>9</sub>
Старі ♀	13,07±0,36 <sub>10</sub>	10,57±0,16 <sub>11</sub>	10,31±0,14 <sub>12</sub>

Примітка.  $p_{1,2}<0,001$ ;  $p_{1,3}<0,001$ ;  $p_{4,5}<0,001$ ;  $p_{4,6}<0,001$ ;  $p_{5,6}<0,01$ ;  $p_{3,6}<0,01$ ;  $p_{7,8}<0,001$ ;  $p_{7,9}<0,001$ ;  $p_{8,9}<0,001$ ;  $p_{10,11}<0,001$ ;  $p_{10,12}<0,001$ ;  $p_{8,11}<0,01$ ;  $p_{1,7}<0,001$ ;  $p_{2,8}<0,001$ ;  $p_{3,9}<0,001$ ;  $p_{4,10}<0,01$ ;  $p_{5,11}<0,001$ ;  $p_{6,12}<0,001$ .

Таблиця 4 – Активність каталази в міокарді шлуночків дорослих і старих самців і самок при розвитку некротичного процесу в міокарді, мкат/кг

Вікова група статева група	Контроль	АПМ 1 год	АПМ 24 год
	n=7	n=7	n=7
Дорослі ♂	62,93±2,71 <sub>1</sub>	89,76±3,48 <sub>2</sub>	117,17±3,86 <sub>3</sub>
Дорослі ♀	63,37±3,04 <sub>4</sub>	103,51±2,29 <sub>5</sub>	128,03±2,19 <sub>6</sub>
Старі ♂	60,23±2,23 <sub>7</sub>	64,47±3,17 <sub>8</sub>	61,69±2,53 <sub>9</sub>
Старі ♀	61,31±1,18 <sub>10</sub>	54,30±1,41 <sub>11</sub>	59,80±1,77 <sub>12</sub>

Примітка.  $p_{1,2}<0,001$ ;  $p_{1,3}<0,001$ ;  $p_{2,3}<0,001$ ;  $p_{4,5}<0,001$ ;  $p_{4,6}<0,001$ ;  $p_{5,6}<0,001$ ;  $p_{2,5}<0,01$ ;  $p_{3,6}<0,05$ ;  $p_{10,11}<0,01$ ;  $p_{11,12}<0,05$ ;  $p_{8,11}<0,02$ ;  $p_{2,8}<0,001$ ;  $p_{3,9}<0,001$ ;  $p_{5,11}<0,001$ ;  $p_{6,12}<0,001$ .

Слід зауважити, що процес старіння відобразився на самцях і самках по-різному. Незважаючи на те, що тривалість життя особин жіночої статі є більшою, розвиток експериментального некротичного процесу в міокарді має свої статеві-вікові особливості. Як показали наші дослідження, реалізація кардіонекрозогенного ефекту адреналіну через активацію ПОЛ має більш негативні наслідки у серці старих самок, про що свідчать інтенсивніше нагромадження продуктів ліпопероксидації та депресія системи антиоксидантів. Враховуючи те, що метаболіти адреналіну самі по собі є токсичними продуктами (адренохром), які провокують пошкодження мембран, а також активують ПОЛ, зменшення активності ферментів АОС є негативним явищем. Особливого значення тут надають каталазі, яка відповідає за захист СОД від пошкодження шляхом інактивації надміру утворених агресивних перекисних метаболітів. У даному випадку суттєвішу, ніж у самців, депресію СОД у старих самок можна пояснити недостатньою активністю КАТ на етапі гіперадреналінемії (1 год АПМ), що мало наслідком інтенсивніше накопичення ДК і МДА. Встановлені факти є ще одним доказом важливої ролі жіночих статевих гормонів як антиоксидантів, адже саме їх дефіцит за умов старіння жіночого організму може частково пояснити високу вразливість міокарда самок до негативного впливу адреналіну. Ця думка підтверджується дослідженнями, в яких показано, що розвиток АПМ в гонадектомованих дорослих самок

характеризується суттєвою активацією ПОЛ [4]. Проте провести повну аналогію наслідків (за даними ПОЛ і стану АОС) дефіциту естрогенів в організмі гонадектомованих і старих тварин, самок зокрема, не можна. Доведено, що в гонадектомованих дорослих самок розвиток АПМ характеризується не лише нагромадженням продуктів ліпопероксидації, але й компенсаторним посиленням активності АОС (особливо СОД) [4]. За тими ж даними, гонадектомія самців взагалі не позначається на перебізі АПМ. В наших дослідках ми спостерігали недостатню реакцію АОС як у старих самців, так і в старих самок. Очевидно, за умов старіння маємо справу не тільки з дефіцитом статевих гормонів, але й із процесом виснаження захисних сил організму.

**ВИСНОВКИ.** 1. Введення кардіотоксичної дози адреналіну викликає більш суттєву активацію перекисного окиснення ліпідів у міокарді дорослих самців та старих самок.

2. Реакція антиоксидантної системи на накопичення продуктів ліпопероксидації теж має чітку вікову та статеву залежність. Активність супероксиддисмутази і каталази при некротизуванні міокарда інтенсивніше зростає в серці дорослих самок, що відображає захисний ефект.

3. Більша інтенсивність процесу ліпопероксидації в міокарді старих самок пояснюється значною депресією ферментативної ланки антиоксидантної системи за умов гіперадреналінемії.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Асанов Э.О., Беликова М.В. Возрастные особенности интенсивности перекисного окисления липидов и состояния антиоксидантной системы при гипоксическом стрессе // Пробл. старения и долголетия. – 2006. – **15**, № 4. – С. 285-290.

2. Прокопенко Н.А. Возрастно-половые особенности условий выявления болезней в лечебно-профилактических учреждениях // Пробл. старения и долголетия. – 2007. – **16**, № 2. – С. 186-194.

3. Фролькис В.В. Старение и биологические возможности организма. – М.: Наука, 1975. – 272 с.

4. Хара М.Р. Вплив карбахоліну та кастрації на гліколіз, перекисне окиснення ліпідів та антиоксидантну систему міокарда щурів самців і самок при адреналіновому пошкодженні // Мед. хімія. – 2004. – **6**, № 4. – С. 102-104.

5. Cadenas E., Davies K.J. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress and aging // Free

Rad. Biol. Med. – 2000. – № 29. – P. 222-230.

6. Colavitti R., Finkel T. Reactive oxygen species as mediators of cellular senescence // IUBMB Life. – 2005. – № 57. – P. 277-281.

7. Effect of sex hormones on lipid peroxidation in women with polycystic ovary syndrome, healthy women and men / Y. Dincer, E. Ozen, P. Kadioglu et al. // Endocr. Res. – 2001. – **27**, № 2. – P. 309-316.

8. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease / M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol et al. // Int. J. Biochem. Cell. Biol. – 2007. – **39**, № 1. – P. 44-84.

9. Gender difference as regards myocardial protein oxidation in aged rats: male rats have increased oxidative protein damage / R. Kayali, U. Cakatay, H. Uzun, H. Genc // Biogerontology. – 2007. – **8**, № 6. – P. 37-40.

10. Harman D. Free radical theory of aging: An

update: Increasing the functional life span // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2006. – № 1067. – P. 10-21.

11. Kregel K.C., Zhang H.J. An integrated view of oxidative stress in aging: basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations // Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol. – 2007. – № 292. – P. R18-R36.

12. Lamon-Fava S. Complete and selective estrogenic effects on lipids and cardiovascular disease // Curr. Atheroscler. Rep. – 2000. – 2, № 1. – P. 72-75.

13. De Magalhaes J.P., Church G.M. Cells discover fire: employing reactive oxygen species in development and consequences for aging // Exp. Gerontol. – 2006. – № 41. – P. 1-10.

14. Martin G.M., Austad S.M., Johnson T.E. Genetic analysis of aging: Role of oxidative damage and environmental stress // Nat. Genet. – 1996. – № 13. – P. 25-34.

15. Nathan L., Chaudhuri G. Antioxidant and prooxidant actions of estrogens: potential physiological and clinical implications // Semin. Reprod. Endocrinol. – 1998. – 16, № 4. – P. 309-314.

16. Oxenkrug G.F., Requentina P.J. Mating attenuates aging associated increase of lipid peroxidation activity in C57BL/6J mice // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2003. – № 993. – P. 161-167.

17. Reduced mitochondrial DNA transcription in senescent rat heart / A.L. Andreu, M.A. Arbos, A. Perez-Martos et al. // Biochemical and Biophysical Research Communications. – 1998. – 252, Issue 3. – P. 577-581.

18. Schwenke D.C. Aging, menopause, and free radicals // Semin. Reprod. Endocrinol. – 1998. – 16, № 4. – P. 281-308.

19. The oxidative hypothesis of senescence / M. Gilca, I. Stoian, V. Atanasiu, B. Virgolici // J. Postgrad. Med. – 2007. – № 53. – P. 207-213.

## ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ АКТИВНОСТИ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМ В МИОКАРДЕ КРЫС РАЗНОГО ПОЛА ПРИ ЕГО АДРЕНАЛИНОВОМ ПОВРЕЖДЕНИИ

**А.А. Лепявко, М.Р. Хара**

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

### Резюме

*В статье показано возрастную и половую зависимость процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в миокарде на разных стадиях развития его адреналинового повреждения. При введении кардиотоксической дозы адреналина более значительно активируются процессы перекисного окисления липидов в миокарде взрослых самцов и старых самок.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита, адреналиновое повреждение миокарда, возраст, пол.

## AGE PECULIARITIES OF ACTIVITY CHANGES IN PRO- AND ANTIOXIDANT SYSTEMS IN THE MYOCARDIUM OF DIFFERENT-GENDER RATS AT ITS ADRENALINE IMPAIRMENT

**A.A. Lepyavko, M.R. Khara**

TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

### Summary

*The age and gender peculiarities of lipid peroxidation and antioxidant protection in myocardium at different stages of its adrenaline impairment are shown in the article. Cardiotoxic dosage of adrenaline causes more intensive lipid peroxidation in myocardium of adult male rats and old female rats.*

**KEY WORDS:** lipid peroxidation, antioxidant protection, adrenaline impairment of myocardium, age, gender.

Отримано 15.09.2008 р.

**Адреса для листування:** А.А. Лепявко, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м.Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.



## СПОСІБ СТВОРЕННЯ БАЗ ДАНИХ З ОПТИЧНОЮ ІНФОРМАЦІЄЮ ДЛЯ НЕЙРОФІЗІОЛОГІЇ

О.М. Ключко

НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, КИЇВ

*Проведено аналіз вимог до створення електронних баз даних з оптичною інформацією для об'єктів у нейрофізіології – зрізів мозку, нейронів, ансамблів нейронів тощо. Особливу увагу приділено практичній реалізації цих підходів у мережевих інформаційних системах.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** мозок, нейрон, барвник, оптичне зображення, мережева інформаційна система.

ВСТУП. Можливість отримання інформації в оптичному діапазоні, яка характеризує процеси в мозку, можливість вивчення, таким чином, функціонування мозку давно приваблює увагу дослідників. Ці напрямки розглядають як надзвичайно перспективні, особливо зважаючи на те, що багато оптичних методик дають можливість безінвазійного вивчення мозку. В межах таких робіт розробляють нові дороговартісні методи, перспективні варіанти систем оптичної реєстрації, програмного забезпечення, синтезують нові барвники тощо. Залежно від рівнів системної ієрархії мозку ці методи при його вивченні можна поділити на групи. Відомими на сьогодні стали методи оптичних досліджень на рівні одиночних клітин та їх ансамблів, клітинних культур. Вітчизняними дослідниками з НАН України проводяться серії досліджень з оптичної реєстрації клітинних процесів з участю кальцію в клітинах різних типів [1, 2, 5]. Для отримання оптичної інформації не на рівні нейронів, а від цілісного мозку, застосовують підходи, що полягають у створенні серій зображень мозку (наприклад, зрізів мозку), які впорядковують у вигляді електронних баз даних (БД). В останні роки в інформаційних центрах при клініках та університетах у різних країнах світу почали застосовувати методи новітніх інформаційних технологій для створення розподілених БД у мережах з інформацією, що її потребують професіонали, які працюють із мозком ссавців та людини, – для нейрофізіологів, нейрохірургів, психологів [3, 6-8]. Дані методи також потребують накопичення, збере-

© О.М. Ключко, 2008.

ження в БД та обробки інформації оптичного характеру: зображень зрізів мозку, нейронів та її ансамблів. Великі об'єми такої інформації можуть бути оцифровані та організовані у вигляді БД, розподілених у мережах, утворюючи інформаційні системи (ІС). Надалі, наприклад при діагностиці захворювань [6], дані з БД аналізують, після чого можна встановити правильний діагноз та призначити відповідне лікування. Незважаючи на те, що у світовій практиці вже є певний досвід створення для медицини мережевих ІС на основі БД із зображеннями, актуальність вирішення таких завдань не зменшується, оскільки практично в кожному потужному медичному центрі або дослідницькій установі існує велике розмаїття оригінальних підходів, методик, які висувають все нові вимоги і вимагають створення нових аналогів ІС [3]. Внаслідок цього виникає потреба проаналізувати досвід конструювання таких ІС, взявши за основу як оригінальний досвід автора, так і зарубіжні аналоги. В даній роботі зроблено короткий аналіз досвіду створення баз даних з інформацією оптичного характеру для потреб нейрофізіології і нейрохірургії та наведено рекомендації для створення вітчизняних аналогів таких баз даних, розподілених у мережах.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Конструювання ІС на основі БД виконували із застосуванням Windows XP, Windows Vista та стандартних пакетів Microsoft Office.

Збір даних для БД. Для заповнення БД адекватною та значущою інформацією необ-

хідно було накопичувати як файли із текстовою інформацією (формати .doc, .txt), так і файли-зображення (в нашому випадку у форматі .jpg), які можуть формуватися в ході експериментів з оптичною реєстрацією біохімічних змін в клітинах внаслідок збудження електрозбудливих клітин, процесів секреції у секреторних клітинах при застосуванні таких барвників, як фура – 2, флуо – 3, квінкварин, зелений 1 декстран тощо [1, 2, 5]. Дані також можна отримувати із записів у системних журналах та файлів, інтерв'ю, оцінок експертів, робочих виборок та ін. Наведено авторські рекомендації щодо конструювання таких ІС на основі БД із зображеннями та приклад створення атласу мозку на основі БД із зображеннями його зрізів.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Деякі методи отримання зображень на рівні клітин мозку та їх ансамблів. Як зазначалося, при конструюванні ІС на основі БД оптичну інформацію (зображення) отримують за допомогою двох великих груп методів залежно від рівня ієрархії мозку – клітинного (та ансамблів клітин) або системного (цілісний мозок або його структури). Стосовно першої групи методів (на рівні клітин) необхідно звернутися до досвіду вітчизняних науковців [1, 2, 5], які протягом останніх років проводять серії досліджень з оптичної реєстрації клітинних процесів з участю кальцію в нервових клітинах (свавців, безхребетних), панкреатичних клітинах та клітинах слинної залози тощо. Як барвники для отримання оптичних сигналів у таких експериментах використовують ряд речовин, наприклад квінкварин, який змінює колір флуоресценції від голубого до червоного, пари фура червона (внутрішньоклітинне навантаження) та кальцій зелений 1 декстран (зовнішній розчин), пари фура – 2 (внутрішньоклітинне навантаження) та флуо – 3 (зовнішній розчин) [1, 2, 5]. Оскільки ці речовини дорого коштують, розробляють нові експериментальні методи з їх застосуванням у мінімальній кількості, зокрема метод крапельки [1]. Реєстрацію оптичних сигналів виконують в установках на основі конфокальних мікроскопів (наприклад від Noran Instruments, USA), в результаті чого отримують серії оптичних зображень. Для обробки цих зображень використовують спеціально розроблене програмне забезпечення, а саме 2D Intervision analysis software, Noran Instruments, USA [5].

Методи отримання оптичної інформації від цілісного мозку. Для отримання оптичної інформації (зображень) від цілісного мозку або його анатомічно визначених структур застосовують

інші методи. Так, професіонали, які працюють із мозком ссавців та людини (нейрофізіологи, нейрохірурги), потребують БД із наборами зображень зрізів цілісного мозку або його окремих структур [3, 6-8]. Такі зображення можуть бути виконані, як оцифровані фотографії, або в оптичному діапазоні, або при використанні міток (флуоресцентних, радіоактивних тощо). Вони можуть бути оцифровані та організовані у БД, розподілених у мережах, утворюючи ІС. При діагностиці захворювань або плануванні операції ці дані аналізують, що доповнює традиційні діагностичні підходи при прийнятті рішень нейрохірургом щодо майбутньої операції, її характеру або призначенні методу лікування. Такі ІС на основі БД з клінічною та академічною метою почали створювати в останні роки в клінічних центрах різних країн світу. Проте, як зазначено вище, актуальність створення нових аналогів не зменшується, прототипи систем, вже створені в одному із клінічних інформаційних центрів, часто не можуть задовольнити користувачів в іншому, викликаючи потребу в розробці у різних таких центрах своїх власних ІС з БД різноманітних зображень елементів мозку. Можливість втілення новітніх інформаційних технологій (ІТ), відносно недороге сучасне комп'ютерне обладнання та програмне забезпечення відкривають нейрофізіологам нові горизонти. ІТ є необхідними складовими сучасних досліджень у нейрофізіології, оскільки в світі у цій галузі проводиться інтенсивна робота, накопичена роками велика кількість експериментальних даних потребує оцифровки та нових підходів до їх аналізу, швидкого обміну цими даними з колегами у різних куточках світу.

Комп'ютерні технології в нейрофізіології та нейрохірургії і характеристика мережевих ІС з розподіленими БД. Специфікою отримання первинної інформації щодо об'єктів у нейрофізіології є те, що дослідники записують її в різних куточках країни, отже, заносять її в БД децентралізовано, що відповідає структурі ІС з розподіленими БД. Розподілена БД складається з декількох фрагментів, розміщених у різних вузлах мережі, які можуть управлятися різними системами управління БД (СУБД). З точки зору програм та користувачів, які звертаються до розподіленої БД, вона сприймається як єдина локальна БД. Інформація щодо розташування кожної з частин розподіленої БД та інша службова інформація зберігаються у словнику даних. Такий словник може знаходитися в одному з вузлів або також бути розподіленим. Для забезпечення коректного доступу до розподіленої БД сьогодні

найчастіше застосовують протокол (метод) двофазної фіксації транзакцій (two-phase commit). Суть цього методу полягає у синхронізації всіх змін на всіх задіяних вузлах у два етапи. На першому етапі у вузлах мережі вносять зміни записів у БД (спочатку такі, які ще можна відмінити у зворотному напрямку), про що надсилається повідомлення компоненту системи, який управляє обробкою розподілених транзакцій. На другому етапі управляючий компонент ІС отримує від всіх вузлів інформацію про правильність виконання операцій, що свідчить про відсутність збоїв та відмов у апаратно-програмному забезпеченні, й після цього видає всім вузлам команду фіксації змін. Після цього транзакцію вважають завершеною, а її результат – незворотним.

Основною перевагою такої розподіленої моделі БД вважають те, що користувачі всіх вузлів отримують інформацію з урахуванням всіх поточних змін у випадку коректної роботи всіх комунікацій. Іншою перевагою є економне використання зовнішньої пам'яті комп'ютерів, що дозволяє організовувати БД великих розмірів. До недоліків моделі розподіленої БД відносять жорсткі вимоги до ефективності та надійності каналів зв'язку, а також великі затрати комунікаційних та обчислювальних ресурсів внаслідок їх зв'язування на весь час виконання транзакцій. При інтенсивних звертаннях до розподіленої БД, наявності великого числа взаємодіючих вузлів, низькошвидкісних та ненадійних каналах зв'язку обробка запитів у цій схемі дуже ускладнюється.

Звернення користувачів до загальних даних. При звертаннях до загальних даних засоби управління БД повинні забезпечувати принаймні два основних методи доступу: монопольний та колективний. Основними об'єктами доступу в різних системах можуть бути БД повністю, окремі таблиці, записи, поля записів. Якщо СУБД має можливість розробляти, то об'єктами доступу є також специфікації звітів та екранних форм, запити та програми.

Монопольний доступ звичайно використовують у двох випадках: коли треба перешкодити доступу до об'єктів зі сторони інших користувачів, наприклад при роботі з усталеною інформацією щодо класифікації видів, яка не може бути довільно змінена; коли виконуються певні операції з БД, відповідальність за які надзвичайно висока (наприклад зміна самої структури БД).

У першому випадку встановлюють явне блокування за допомогою діалогових засобів СУБД або прикладної програми. У другому випадку користувач також може встановити

явне блокування або покласти на СУБД, яка звичайно автоматично встановлює неявне блокування (без відома користувача), якщо це необхідно.

У режимі колективного доступу повне блокування на використовувани об'єкти зазвичай не встановлюють. Колективний доступ стає можливим, наприклад, при одночасному перегляді таблиць кількома користувачами. Необхідно перешкодити монопольному доступу до об'єктів колективного доступу. Така ситуація може скластися, коли кілька користувачів переглядають одну і ту ж таблицю, а інший намагається цю таблицю видалити.

Для організації колективного доступу до СУБД застосовують механізм блокування. Суть блокування полягає у тому, що на час виконання якої-небудь операції з БД доступ до об'єкта використання зі сторони інших користувачів тимчасово забороняється або обмежується.

Організація локальної обчислювальної мережі та ІС в Інтернеті, публікація даних в Інтернеті. Характеризуючи програмне забезпечення локальної обчислювальної мережі, то незалежно від того, в якій мережі працює комп'ютер, функції встановленого на ньому програмного забезпечення умовно можна поділити на дві групи: управління ресурсами самого комп'ютера (в тому числі і в інтересах вирішення завдань для інших комп'ютерів) та управління обміном з іншими комп'ютерами (мережеві функції).

Власними ресурсами комп'ютера управляє операційна система. Функції мережевого управління виконує мережеве програмне забезпечення, яке може бути у вигляді як окремих пакетів мережевих програм, так і мережевої операційної системи. При розробці мережевого програмного забезпечення використовують ієрархічний підхід, який передбачає визначення сукупності порівняно незалежних рівнів та інтерфейсів між ними. Це дозволяє легко модифікувати алгоритми програм кожного рівня без суттєвих змін інших рівнів. При доступі до БД на стороні клієнта основним засобом реалізації механізмів взаємодії Web-клієнта та сервера БД є мова Java. Крім того, можна використовувати елементи управління ActiveX. Як допоміжні засоби обробки інформації на стороні клієнта (але не для взаємодії з БД) часто застосовують мови сценаріїв JavaScript, Jscript, VBScript, розроблені для розширення можливостей декларативної мови HTML (в HTML немає операторів присвоєння, порівнювання, математичних функцій тощо) на основі додавання процедурних засо-

бів. Програми-сценарії виконуються на комп'ютері Web-браузером в режимі інтерпретації.

Що стосується технологій публікації даних в Інтернеті, то тут вся інформація розміщується на Web-сторінках, написаних мовою HTML (в цьому випадку маємо HTML-сторінки), або на їх розширеннях, таких, як DHTML (Dynamic HTML – динамічний HTML) та XML (eXtensible Markup Language – розширена мова розмітки). До складу Web-сторінки можуть входити текстова інформація, посилання на інші Web-сторінки, графічні зображення, аудіо- й відео-інформація та інші дані. Ці сторінки зберігаються на Web-сервері. Для доступу до Web-сторінок використовують спеціальні клієнтські програми – браузери, що розміщуються на комп'ютерах користувачів Інтернету.

Створення електронних атласів зображень мозку. Створення електронних атласів зображень мозку стало можливим в останні роки [3, 7, 8] при використанні тих технічних та комп'ютерних методів, які розглянуто вище. Фактично, в усіх випадках першим кроком вирішення такого завдання було створення зображень зрізів мозку, при цьому зображення могли виконуватися в різних діапазонах хвиль (оптичні зображення, радіаційні мітки, зображення за методом магнітного резонансу тощо). Надалі такі зображення після обробки згідно з відповідним алгоритмом організовували у БД, часто розподілені у певній мережі з утворенням ІС. Наприклад для нейрохірургів, з метою покращення планування ними операцій, було створено атлас мозку із серій оцифрованих фотографій гістологічних зрізів у ділянці таламуса та базальних гангліїв [3]. При цьому завчасно комп'ютерним способом було обчислено, яка повинна бути товщина зрізів, оскільки попередньо створені електронні атласи з іншою товщиною зрізів виявилися малоінформативними. В іншій серії обчислень було проведено корекцію воксель-за-вокселем інтенсивності освітлення різних точок на зрізах для того, щоб зробити зображення зрізів виразнішими. Оцифровані зображення зрізів накопичували у БД, після чого вони могли бути використані для вирішення різноманітних завдань. Одним із вирішених завдань була просторова 3D реконструкція мозку в сагітальній та корональній проєкціях. Іншим – статистично достовірне визначення меж структур мозку, що важливо

при плануванні операції саме на певній структурі. Для отриманих результатів стало можливим проведення комплексного порівняння з відповідними даними, одержаними за допомогою методу магнітного резонансу, що підвищило їх достовірність.

ВИСНОВКИ. Ми розглянули ряд технічних та комп'ютерних методів, які можна запропонувати для вирішення завдань у медицині, й один із прикладів успішного їх використання – створення атласу мозку з метою планування операцій нейрохірургами. Отже, застосування сучасних ІТ, створення ІС на основі БД із серіями зображень дозволяють перевести на якісно інший рівень такі важливі сфери діяльності людини, як проведення операцій, безінвазійне дослідження мозку з метою діагностики, дослідження в галузі нейрофізіології. Необхідно зазначити, що найчастіше осередками запису медико-біологічної інформації в електронному вигляді на основі створення БД виступають університетські центри, клініки, великі госпітальні центри. На сьогодні в Україні кожен із таких осередків уже має локальну мережу (більш або менш досконалу), яка може бути використана для вирішення вищезгаданих завдань. Частина інформації для такої мережі доцільно отримувати з уже готових зарубіжних ІС на основі БД, і в перспективі вітчизняні ІС з нейрофізіологічною інформацією утворюються в результаті злиття цих локальних мереж в різних кутках України, утворивши БД із розподіленими децентралізованими фрагментами. Як показує досвід тих країн, де таку роботу розпочато раніше, в майбутньому буде важко або неможливо утворити єдину ІС, якщо заздалегідь не поставити за мету поєднання локальних мереж, а отже, і дотримання певних стандартів [4]. Створення ІС на основі БД з нейрофізіологічною інформацією повинно стати результатом злагодженої роботи колективів науковців, оскільки має не тільки включити в себе організацію мереж, розробку відповідного програмного забезпечення, внесення записів щодо сотень тисяч зображень, але і розробити механізми стандартизації, синхронізації співпраці окремих елементів БД тощо. Обов'язковою умовою вирішення такого завдання є створення та досконала організація локальних мереж медико-біологічних ІС, які здатні забезпечити ефективну організацію та співпрацю колективів науковців.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Belan P.V., Gardner J., Gerasimenko O.V. et al. Isoproterenol Evokes Extracellular Ca<sup>2+</sup> Spikes Due

to Secretory Events in Salivary Gland Cells // The Journal of Biological Chemistry. – 1998. – **273**, Is. 7. –

P. 4107-4111.

2. Belan P.V., Gerasimenko O.V., Tepikin A.V., Petersen O.H. Localization of Ca<sup>2+</sup> Extrusion Sites In Pancreatic Acinar Cells // The Journal of Biological Chemistry. – 1996. – **271**, Is. 13. – P. 7615-7619.

3. Chakravarty M.M., Bertrand G., Hodge C.P. et al. The creation of a brain atlas for image guided neurosurgery using serial histological data // NeuroImage. – 2006. – **30**, Is. 2. – P. 359-376.

4. Dennis R.L.H., Shreeve T.G. Gains and losses of French butterflies: tests of predictions, under-recording and regional extinction from data in a new atlas // Biological Conservation. – 2003. – **110**, Is. 1. – P. 131-139.

5. Gerasimenko O.V., Gerasimenko J.V., Be-

lan P.V., Petersen O.H. Inositol Trisphosphate and Cyclic ADP-Ribose-Mediated Release of Ca<sup>2+</sup> // Cell. – 1996. – **84**. – P. 473-480.

6. Kovalev V.A., Petrou M., Suckling J. Detection of structural differences between the brains of schizophrenic patients and controls // Psychiatry Research: Neuroimaging. – 2003. – **124**, Is. 3. – P. 177-189.

7. Ma Y., Hof P.R., Grant S.C. et al. A three-dimensional digital atlas database of the adult C57BL/6J mouse brain by magnetic resonance microscopy // Neuroscience. – 2005. – **135**, Is. 4. – P. 1203-1215.

8. Nowinski W.L., Belov D. The Cerefy Neuro-radiology Atlas: a Talairach-Tournoux atlas-based tool for analysis of neuroimages available over the internet // NeuroImage. – 2003. – Is. 20 – P. 50-57.

## СПОСОБ СОЗДАНИЯ БАЗ ДАННЫХ С ОПТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИЕЙ ДЛЯ НЕЙРОФИЗИОЛОГИИ

**Е.М. Ключко**

НАЦИОНАЛЬНЫЙ АВИАЦИОННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ, КИЕВ

### Резюме

*Проведен анализ требований к созданию электронных баз данных с оптической информацией для объектов в нейрофизиологии – срезов мозга, нейронов, ансамблей нейронов и др. Особое внимание уделено практической реализации этих подходов в сетевых информационных системах.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** мозг, нейрон, краситель, оптическое изображение, сетевая информационная система.

## METHOD OF DEVELOPMENT OF DATABASES WITH OPTIC INFORMATION FOR NEUROPHYSIOLOGY

**O.M.Klyuchko**

NATIONAL AVIATION UNIVERSITY, KYIV

### Summary

*The analysis of requests for the development of electronic databases with optic information for objects in neurophysiology – brain slices, neurons, neuron assembles is suggested. Special attention is paid to practical realization of these approaches in network information systems.*

**KEY WORDS:** brain, neuron, dye, optical image, network information system.

Отримано 13.06.2008 р.

**Адреса для листування:** О.М. Ключко, Національний авіаційний університет, Київ, Україна.

## ПОЛІФЕНОЛИ ЛИСТЯ ВИДІВ РОДУ CRATAEGUS L.

А.М. Ковальова, Н.В. Сидора, А.М. Комісаренко, М.Ф. Гончаров  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Продовжуючи дослідження різних видів глоду північноамериканської групи, нами встановлено наявність дубильних речовин конденсованої та гідролізуючої груп у листі видів: *Crataegus flabellata* (Bosc.) Koch., *C. submollis* Sarg. та *C. arnoldiana* Sarg. Визначено кількісний вміст дубильних речовин перманганато- та комплексонометричним методами.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: глід, листя, дубильні сполуки, кількісне визначення.

ВСТУП. Відомо, що сировина "Квітки глоду" може містити до 6 % інших частин рослин – гілочок та листя [1]. Тому доцільно було провести якісне та кількісне визначення основних груп біологічно активних речовин листя досліджуваних видів роду *Crataegus* L. У результаті фітохімічного дослідження листя різних видів глоду нами визначено якісний склад та кількісний вміст гідроксикоричних кислот і флавоноїдів [2, 3]. На основі якісних реакцій та хроматографічного дослідження виявлено дубильні речовини, які віднесено до конденсованої та гідролізуючої груп. Відомо, що дубильні речовини проявляють різні види біологічної дії: антибактеріальну, антитоксичну, в'язучу, кровоспинну [4, 5]. Елагова кислота, яку містять плоди глоду, має антимулагенні властивості [6]. Для визначення кількісного вмісту дубильних речовин використовували перманганато- та комплексонометричний методи.

Перманганатометричний метод хоча і є традиційним для кількісного визначення дубильних сполук, проте має ряд недоліків: властивість калію перманганату окиснювати природні сполуки, що за хімічною будовою належать до різних класів; коефіцієнт перерахунку неоднаковий для різних груп природних сполук; тривалий перехід забарвлення розчину при титруванні. Таким чином, фармакопейний метод не дозволяє досить об'єктивно оцінити вміст дубильних сполук в рослинах, особливо коли він менший 10 %, через те, що значно збільшується похибка за рахунок супутніх речовин.

Комплексонометрію використовують для визначення танінів сумаху та скумпії, перстачу прямостоячого та вільхи клейкої [1]. Вибір комплексонометричного методу зумовлений

© А.М. Ковальова, Н.В. Сидора, А.М. Комісаренко, М.Ф. Гончаров, 2008.

тим, що він дозволяє проводити визначення дубильних речовин за присутності інших поліфенолів. Комплексонометричний метод, що використовувався нами для кількісного визначення дубильних сполук в листі глоду, ґрунтується на властивості вибіркового осадження танінів солями важких металів, виділення осаду шляхом центрифугування, руйнування комплексу цинк-дубильні сполуки оцтовою кислотою з попереднім титруванням катіонів цинку, що виділилися, розчином трилону Б за присутності ксиленового оранжевого.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктом дослідження було листя трьох видів глоду: глоду віялоподібного *Crataegus flabellata* (Bosc.) Koch., глоду м'якуватого *C. submollis* Sarg. та глоду Арнольда *C. arnoldiana* Sarg., що належать до секцій північноамериканської групи та широко культивуються в Україні як плодові й декоративні рослини.

Сировину подрібнювали до розміру часток 1 мм. 1 г листя (точна наважка) поміщали в мірну колбу ємкістю 200 мл та екстрагували 100 мл 50 % етанолу 30 хв, після чого відстоювали 15 хв та фільтрували крізь складчастий фільтр у мірну колбу на 200 мл. Сировину повторно екстрагували 100 мл 50 % етанолу 30 хв, фільтрували у ту ж мірну колбу та доводили об'єм до мітки. З 200 мл отриманого розчину кожного виду глоду 25 мл використовували для перманганатометричного та 10 мл – для комплексонометричного визначення.

Перманганатометричне визначення дубильних речовин проводили за фармакопейною методикою [1]. Для цього 25 мл екстракту поміщали в мірну колбу ємкістю 1000 мл та додавали 500 мл води очищеної, 25 мл індиго-

сульфо кислоти та титрували при перемішуванні розчином перманганату калію (0,02 моль/л) до золотисто-жовтого забарвлення. Паралельно виконували контрольний дослід [1].

Комплексонометричне визначення. 10 мл витяжки поміщали у пробірку на 25-50 мл для центрифугування, додавали реактив осадження (1 % розчин цинку оксиду в аміачному буферному розчині). Суміш перемішували склянкою паличкою, яку промивали 5 мл дистильованої води, та приєднували до основної суміші. Через 30 хв суміш центрифугували 5 хв зі швидкістю обертів 5 тис.об./хв, рідину зливали, осад в пробірці перемішували паличкою в 20 мл 0,25 % розчину амоніаку, потім паличку промивали 5 мл цього розчину та приєднували його до суміші після центрифугування. Після центрифугування промивну рідину зливали та відкидали. Осад перемішували в 10 мл 96 % етанолу, паличку промивали 5 мл етанолу, приєднували до основної суміші та центрифугували, як описано вище. Промивну рідину зливали та відкидали, осад розчиняли у склянці в 3 мл 30 % оцтової кислоти. Розчин кількісно перенесли в колбу ємкістю 250 мл за допомогою 100 мл води очищеної. Рідину нейтралізували 25 мл 5 % розчину натрію гідрокарбонату, додавали 0,5 мл розчину ксиленового оранжевого та титрували 0,01 моль/л розчином трилону Б до зміни червоно-фіолетового забарвлення на жовте. 1 мл 0,01 моль/л розчину трилону Б відповідає 0,0013 г таніну. Кількісний вміст дубильних речовин в перерахунку на абсолютно суху сировину розраховували за формулою:

$$X = \frac{V \cdot T \cdot K \cdot 200 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 10 \cdot (100 - W)}$$

де V – об'єм розчину трилону Б, який було використано на титрування, мл; T – титр трилону Б відповідно до дубильних речовин глоду, який визначено експериментально, г/мл; K – поправковий коефіцієнт, що дорівнює 0,9821; W – втрата у масі при висушуванні, %.

Необхідно було визначити титр трилону Б за цинком, що виділився з комплексу з дубильними речовинами досліджуваних видів глоду.

З цією метою одержували комплекси цинк-дубильні сполуки з водно-спиртових екстрактів досліджуваних видів глоду. Осадження та подальшу обробку осадів проводили згідно з ДОСТ 4565-79 "Лист сумаха", додатково промиваючи їх 96 % етанолом для повного видалення іонів цинку; осади висушували до стабільної маси та спалювали у муфельній печі. Одержаний оксид цинку розчиняли в оцтовій кислоті, розчин нейтралізували до pH=5,5 та титрували трилоном Б до зміни червоно-фіолетового забарвлення на жовте.

Відсотковий вміст цинку визначали за формулою:

$$X = \frac{V \cdot КП \cdot 0,0006538 \cdot 100}{n}$$

де V – кількість 0,01 моль/л розчину трилону Б для титрування оксиду цинку, що утворився, мл; КП – поправковий коефіцієнт дорівнює 0,9772; 0,0006538 – титр 0,01 моль/л розчину трилону Б за цинком; n – наважка осаду комплексу, г.

Титр трилону Б для дубильних сполук листя глоду розраховували за формулою:

$$T = \frac{26,6 \cdot 0,0013}{X}$$

де T – титр 0,01 моль/л розчину трилону Б за дубильними сполуками; 26,6 – відсотковий вміст цинку в комплексі цинк-галотанін; 0,0013 – титр 0,01 моль/л розчину трилону Б за галотаніном; X – відсотковий вміст цинку в комплексі цинк-дубильні сполуки.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У результаті дослідження з метою визначення дубильних сполук для листя глоду віялоподібного було розраховано титр трилону Б, який склав 0,00125. Визначення проводили у п'яти повторях. Результати кількісного визначення дубильних речовин та їх метрологічну характеристику наведено у таблиці 1.

Як видно з таблиці 1, перманганатометричний метод, порівняно з комплексонометричним, дає завищені результати. Це можна

Таблиця 1 – Результати кількісного визначення дубильних речовин у листі глоду та метрологічна характеристика результатів дослідження

Вид глоду	X, %	S <sup>2</sup>	S <sub>ср</sub>	P	t (P,n)	ΔX	ε, %
Метод перманганатометрії							
Глід віялоподібний	11,94	0,113·10 <sup>-2</sup>	0,015	0,95	2,78	0,042	0,35
Глід м'якуватий	6,44	0,542·10 <sup>-2</sup>	0,033	0,95	2,78	0,092	1,42
Глід Арнольда	6,15	0,29·10 <sup>-2</sup>	0,024	0,95	2,78	0,067	1,09
Метод комплексонометрії							
Глід віялоподібний	5,32	0,40·10 <sup>-2</sup>	0,028	0,95	2,78	0,079	1,48
Глід м'якуватий	4,96	0,22·10 <sup>-1</sup>	0,066	0,95	2,78	0,183	3,68
Глід Арнольда	4,37	0,83·10 <sup>-2</sup>	0,041	0,95	2,78	0,113	2,59

пояснити різною вибірковістю даних методів відносно дубильних сполук в суміші зі сполуками, що екстрагуються, так, перманганат калію у кислому середовищі одночасно з дубильними речовинами окиснює феноли, катехіни, дигідрофлавоноїди, проціанідини, які присутні в листі глоду.

Вміст дубильних сполук (у %), розрахований за двома методиками, складає: для листя глоду віялоподібного *C. flabellata* – 11,9 та 5,3; глоду м'якуватого *C. submollis* Sarg. – 6,4 та 4,9; для глоду Арнольда *C. arnoldiana* – 6,1 та 4,3 відповідно.

ВИСНОВКИ. 1. У листі *Crataegus flabellata*, *C. submollis* Sarg. та *C. arnoldiana* Sarg. виявлено дубильні речовини конденсованої та гідролізуючої груп.

2. Проведено визначення кількісного вмісту дубильних сполук в досліджуваній сировині.

3. Кількісне визначення дубильних сполук в листі трьох видів глоду *Crataegus flabellata*, *C. submollis* Sarg. та *C. arnoldiana* Sarg. з використанням перманганато- та комплексометричного методів дослідження показало, що найбільш вірогідні результати одержано при комплексометричному визначенні.

#### ЛІТЕРАТУРА

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

2. Ковальова А.М., Сидора Н.В., Ковальов С.В., Комісаренко А.М. Фармакогностичне дослідження плодів глодів північноамериканської групи // Вісник фармації. – 2006. – № 1. – С. 17-21.

3. Ковальова А.М., Сидора Н.В., Ковальов С.В. та ін. Фармакогностичне дослідження деяких північноамериканських видів *Crataegus* L. // Вісник фармації. – 2005. – № 2. – С. 16-20.

4. Малугин И.Е., Остапко И.Н. Биологически активные вещества некоторых видов боярышника // III Укр. конф. по мед. ботан.: Тез. докл. – К., 1992. – Ч. 1. – С. 97.

5. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование сем. Hydrangeaceae – Holoragaceae. – Л.: Наука, 1987. – Т. 3. – С. 32-96.

6. Wang Shiow Y., Maas John L., Payne Jerry A. Yalletta Yenj Ellagic acid content in small fruits, mayhaws and other plants / // J. Smaal Fruit and Viticuet. – 1994. – 2, № 4. – P. 39-49.

## ПОЛИФЕНОЛЫ ЛИСТЬЕВ ВИДОВ РОДА CRATAEGUS L.

**А.М. Ковалева, Н.В. Сидора, А.Н. Комиссаренко, Н.Ф. Гончаров**  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

#### Резюме

Продолжая исследования разных видов боярышника североамериканской группы, установлено наличие дубильных веществ конденсированной и гидролизуемой групп в листьях видов: *Crataegus flabellata* (Bosc.) Koch., *C. submollis* Sarg. и *C. arnoldiana* Sarg. Определено количественное содержание дубильных веществ перманганато- и комплексометрическими методами.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: боярышник, листья, дубильные вещества, количественное определение.

## POLYPHENOLS OF LEAVES OF CRATAEGUS L. GENUS SPECIES

**A.M. Kovalyova, N.V. Sydora, A.M. Komisarenko, M.F. Honcharov**  
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

#### Summary

In continued investigation of various species of hawthorn from North-American group, the presence of tannic compounds of condense and hydrolytic groups in leaves of species: *Crataegus flabellata* (Bosc.) Koch., *C. submollis* Sarg. and *C. arnoldiana* Sarg. was established. Quantitative determination of tannic compounds by permanganatometric and complexometric methods was established.

KEY WORDS: hawthorn, leaves, tannic compounds, quantitative. determination.

Отримано 19.02.2008 р.

Адреса для листування: Н.В. Сидора, вул. Паризької Комуни, 61, м. Мерефа, Харківський район, Харківська область, 62472, Україна.



## ЗАСТОСУВАННЯ МАСТОДИНОНУ І ЦИКЛОДИНОНУ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ ГАЛАКТОРЕЇ У ЖІНОК З ЕНДОКРИННИМ НЕПЛІДДЯМ

А.В. Бойчук, Н.В. Петренко, Б.М. Бегош, В.В. Сопель

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

*Диференційоване застосування фітодофамінергічних препаратів “Мастодинон” і “Циклодинон”, залежно від ступеня галактореї і характеру секрету з молочних залоз, є ефективним у 81 % випадків для відновлення овуляторного менструального циклу, в 60 % – для усунення галактореї і в 69 % – для зниження рівня пролактину.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** галакторея, гіперпролактинемія, диференційована корекція, ендокринне непліддя, порушення менструального циклу.

**ВСТУП.** Пролактин (ПРЛ) є гормоном адаптації і універсальним маркером неблагополуччя в репродуктивній системі. Найбільш постійними клінічними проявами гіперпролактинемії є галакторея та порушення менструального циклу (ановуляція чи недостатність II фази циклу навіть при збереженні регулярності менструального циклу) [1, 3].

Гіперпролактинемія розвивається при порушенні функціонального зв'язку між гіпоталамусом і гіпофізом внаслідок зниження дофамінергічного гальмування секреції ПРЛ гіпофізом. Стійка (органічна) гіперпролактинемія виникає при пролактинсекретуючих аденомах гіпофіза, проте у більшості хворих має місце періодична (латентна), яка виражена вночі чи у II фазі менструального циклу, або прихована, яка проявляється багаторазовим збільшенням рівня пролактину у відповідь на приймання метоклопраміду [2].

Застосування бромкриптину відновлює репродуктивну функцію при гіперпролактинемії у 85-95 % хворих, проте його використання супроводжується значними побічними ефектами [2, 3].

Новими й альтернативними препаратами для лікування гіперпролактинемії є фітопрепарати з дофамінергічною дією “Мастодинон” і “Циклодинон”, виготовлені на основі спеціального стандартизованого екстракту *Agnus castus* (прутняк), розробленого відповідно до концепції фітоніринга.

© А.В. Бойчук, Н.В. Петренко, Б.М. Бегош, В.В. Сопель, 2008.

Метою роботи було вивчення ефективності застосування мастодинону і циклодинону в комплексному лікуванні жінок з ендокринним непліддям для усунення ФГ, зниження рівня ПРЛ і усунення проявів гіперпролактинемії.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Нами обстежено 58 жінок з галактореєю, які прийшли на консультативний прийом з приводу ендокринного непліддя чи порушення менструальної функції, та 15 жінок контрольної групи. Жінкам з непліддям проводили комплексне обстеження, яке включало визначення характеру спермограми (I етап), діагностику прохідності маткових труб з використанням МСГ чи діагностично-лікувальної лапароскопії (II етап). III етап – діагностика і корекція ендокринних порушень – однаковий для жінок з непліддям і порушенням менструальної функції.

Стан гіпоталамо-гіпофізарно-яєчникової системи оцінювали за тестами функціональної діагностики (базальна температура, симптоми зіниці, натягу цервікального слизу, папороті на 7, 14 і 21 дні циклу), рівнем ФСГ, ЛГ, ПРЛ (Хема-Медіка, Росія). Активність щитоподібної залози визначали за клінічними та лабораторними (ТТГ, Т<sub>4</sub>) даними. Структурно-морфологічні зміни у щитоподібній залозі, органах малого таза та молочних залозах вивчали за результатами ультразвукового дослідження на апараті Aloka SSD-2000 з частотою датчика 7,5 МГц. Ступінь галактореї оцінювали при об'єктивному обстеженні молочних залоз (відповідно до критеріїв ВООЗ). Характер секрету з молочних

залоз визначали при мікроскопії нативного препарату.

Залежно від ступеня галактореї і характеру секрету з молочних залоз жінок поділили на три групи і для лікування використовували різні препарати: 1-ша група – 27 жінок, у яких при галактореї I ступеня в секреті з молочних залоз виявлено молозиво, для лікування застосовували мастодинон; 2-га група – 24 пацієнтки, в яких при галактореї II ступеня в препараті з молочних залоз виявлено перехідне молоко, для лікування використовували циклодинон; 3-тя група – 7 жінок з галактореєю III ступеня і секретом з молочних залоз зрілим молоком, для лікування застосовували парлодел (бромкриптин).

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Середній вік обстежених жінок становив  $(29,26 \pm 2,86)$  року. Первинне непліддя виявлено у 38 (65,5 %) жінок, вторинне – у 20 (34,5 %).

Регулярний менструальний цикл був збережений у 24 (42 %) жінок, гіпоменструальний синдром за типом гіпоолігоменореї діагностовано у 22 (38 %) пацієнток, гіперменструальний синдром за типом тахіполіменореї – у 12 (20 %).

За тестами функціональної діагностики у 22 (38 %) пацієнток виявлено недостатність лютеїнової фази менструального циклу, в 36 (62 %) – ановуляцію.

У 40 (69 %) жінок відмічено зниження рівнів ФСГ до  $(3,37 \pm 0,67)$  МО/л та ЛГ до  $(2,54 \pm 0,19)$  МО/л (переважно це жінки, в яких виявлено гіпотиреоз), у 8 (14 %) – підвищення рівнів ФСГ до  $(11,87 \pm 2,91)$  МО/л та ЛГ до  $(13,94 \pm 2,71)$  МО/л (переважно це жінки, в яких виявлено гіпертиреоз), у решти 10 (17 %) рівні ФСГ і ЛГ були в межах норми, проте мало місце порушення їх співвідношень. У всіх обстежених спостерігалось зниження коефіцієнта ЛГ/ФСГ, що свідчило про порушення овуляції.

Галакторею I ступеня і секрет з молочних залоз молозиво виявлено у 27 (46,5 %) жінок, галакторею II ступеня і в препараті з молочних залоз перехідне молоко – у 24 (41,5 %), галакторею III ступеня і в препараті з молочних залоз зріле молоко – у 7 (12 %).

Ознаки мастодинії мали місце у 20 (34 %) пацієнток. Проліферативні зміни за типом дифузної фіброзної мастопатії виявлено у 18 (31 %) жінок (за даними УЗД), фіброзно-кістозної – у 8 (10 %).

Рівень пролактину в 44 (76 %) пацієнток був підвищеним і становив  $(32,7 \pm 3,0)$  мкг/л.

За лабораторними даними, у 40 (69 %) жінок виявлено субклінічний гіпотиреоз, у 8 (14 %) – гіпертиреоз і у 10 (17 %) – еутиреоз.

Під впливом запропонованої терапії регулярний менструальний цикл відновився у 47 (81 %) жінок, гіпоменструальний синдром залишився у 6 (10 %), гіперменструальний – у 5 (9 %). Овуляторний цикл відновився у 47 (81 %) пацієнток, недостатність лютеїнової фази виявлено у 18 (31 %) обстежених, ановуляторний цикл – у 5 (9 %).

Відмічалось відновлення рівнів ФСГ і ЛГ до нормальних показників, як у контрольній групі зі збереженням коефіцієнта ЛГ/ФСГ  $\approx 1$ , що забезпечує овуляцію.

Під впливом зазначеної терапії зменшувалися інші прояви гіперпролактинемії.

Прояви мастодинії відмічали лише у 5 (9 %) пацієнток.

Галактореї не було у 35 (60 %) жінок. Галакторею I ступеня і секрет з молочних залоз молозиво виявлено у 15 (26 %) пацієнток, галакторею II ступеня і в препараті з молочних залоз перехідне молоко – у 7 (12 %), галакторею III ступеня і в препараті з молочних залоз зріле молоко – в 1 (2 %).

Рівень пролактину залишився підвищеним у 4 (7 %) пацієнток, проте він знижувався до  $(20,2 \pm 0,9)$  мкг/л. Відмічалось покращення структури молочних залоз при сонографії. Ознаки дифузної мастопатії виявлено у 9 (15 %) обстежених, фіброзно-кістозної – у 2 (3,5 %). Еутиреозу досягнуто у 58 (100 %) жінок.

**ВИСНОВКИ.** 1. Галакторея є клінічним маркером порушення овуляції у жінок з ендокринними порушеннями.

2. У жінок з галактореєю обов'язковим є визначення активності щитоподібної залози для вибору базової патогенетичної терапії (з метою досягнення еутиреозу).

3. Застосування дофамінергічних фітопрепаратів “Мастодинон” та “Циклодинон” дозволяє ефективно знизити рівень пролактину та основні прояви гіперпролактинемії: галакторею, мастодинію та порушення менструального циклу.

4. Визначення характеру секрету з молочних залоз та ступеня галактореї є обов'язковим, простим і доступним критерієм для диференційованого вибору препарату (мастодинон, циклодинон чи парлодел) у жінок з ендокринним непліддям та порушенням менструального циклу.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Венцовская И.Б., Ефименко О.А. Гиперпролактинемические состояния в практике гинеколога и методы их лечения // Репродуктивное здоровье женщины. – 2003. – № 3 (15). – С. 71-76.

2. Горин В.С., Болдырева С.Н., Голиков Г.Я., Христенко Е.В. Роль патологии щитовидной железы

в развитии гиперпластических процессов в эндометрии // Вестник. – 2000. – № 4. – С. 24-27.

3. Сергиенко М.Ю., Матицина Л.А. Препарат Мастодинон в коррекции нарушений репродуктивной системы у девочек-подростков // Репродуктивное здоровье женщины. – 2005. – № 1 (21). – С. 139-140.

## ПРИМЕНЕНИЕ МАСТОДИНОНА И ЦИКЛОДИНОНА ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ГАЛАКТОРЕИ У ЖЕНЩИН С ЭНДОКРИННЫМ БЕСПЛОДИЕМ

**А.В. Бойчук, Н.В. Петренко, Б.Н. Бегош, В.В. Сопель**  
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

### Резюме

*Дифференцированное применение фитодофаминергических препаратов “Мастодинон” и “Циклодинон”, в зависимости от степени галактореи и характера секрета с молочных желез, является эффективным в 81 % случаев для восстановления овуляторного менструального цикла, в 60 % – для ликвидации галактореи и в 69 % – для снижения уровня пролактина.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** галакторея, гиперпролактинемия, дифференцированная коррекция, эндокринное бесплодие, нарушение менструального цикла.

## USING OF MASTODINONE AND CYCLODINONE FOR FUNCTIONAL GALACTORRHEA CORRECTION IN WOMEN WITH ENDOCRINE INFERTILITY

**A.V. Boychuk, N.V. Petrenko, B.M. Behosh, V.V. Sopol**  
TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

### Summary

*Differential using of phytodopaminergic drugs “Mastodinone” and “Cyclodinone” in dependence on galactorrhea degree and character of mammary secret is effective in 81 % cases for restoration of ovulatory menstrual cycle, remove of galactorrhea in 60 % cases and decrease of prolactine level in 69 % cases.*

**KEY WORDS:** galactorrhea, hyperprolactinemia, differentiated correction, endocrine infertility, disturbance of menstrual cycle.

Отримано 2.04.2008 р.

**Адреса для листування:** А.В. Бойчук, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м.Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

## ВПЛИВ ХІНОБОЛІНУ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ В ХРОНІЧНОМУ ЕКСПЕРИМЕНТІ

О.Ф. Тацький, Е.Л. Торянік

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

*У хронічному експерименті на щурах вивчено вплив хіноболіну в дозах  $ED_{50}$  (42,0 мг/кг), 5  $ED_{50}$  і 10  $ED_{50}$  на реакції цитолізу (за динамікою рівня АлАТ і АсАТ), білоксинтезувальну (за показниками загального білка плазми, його фракцій, А/Г-коефіцієнта), пігментоутворювальну (за динамікою рівня прямої фракції білірубіну в сироватці крові) й холестеринуутворювальну (за динамікою рівня холестерину в сироватці крові) функції печінки. Встановлено мінімальний вплив субстанції на вказані функції, зроблено висновок про відсутність негативного впливу хіноболіну на функціональний стан печінки щурів.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: хіноболін, антитоксична функція печінки.

ВСТУП. Тривале застосування лікарських засобів перш за все викликає реакцію з боку печінки як детоксикуючого органа, який першим реагує на введення токсичних речовин [2]. Тому в межах доклінічного дослідження нового похідного хінолон-карбонових кислот з анаболічною дією під умовною назвою "Хіноболін" ми вивчили вплив речовини на функції печінки за умов тривалого використання субстанції.

Метою роботи було вивчення впливу хіноболіну на цитоліз гепатоцитів, а також на білоксинтезувальну, пігменто- і холестеринуутворювальну функції печінки.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили протягом 3 місяців на нелінійних білих щурах різної статі масою 180,0-200,0 г, яких утримували відповідно до встановлених норм [5]. Для експерименту використовували 4 групи тварин (по 10 в кожній) [2]: 1-ша – тварини, яким 1 раз на день вводили хіноболін в дозі  $ED_{50}$  (42,0 мг/кг); 2-га – тварини, яким вводили хіноболін в дозі 5  $ED_{50}$  (210,0 мг/кг); 3-тя – тварини, яким вводили хіноболін в дозі 10  $ED_{50}$  (420,0 мг/кг); 4-та – тварини, які отримували ізотонічний розчин натрію хлориду (контроль).

Про функції печінки судили за вмістом білка в сироватці крові, рівнем білірубіну, холестерину; про інтенсивність цитолізу – за рівнем активності амінотрансфераз. Загальний білок сироватки крові визначали біуретовим методом шляхом додавання 0,1 мл сироватки крові до 5 мл розчину біуретового реактиву та ви-

© О.Ф. Тацький, Е.Л. Торянік, 2008.

мірювали довжину хвилі на фотометрі. За отриманими результатами будували калібрувальний графік, за яким проводили розрахунки. Фракційний склад білків сироватки крові досліджували методом мікроелектрофорезу [4]. Білірубін сироватки крові – пряму його фракцію (показник екскреторно-біліарної функції печінки) – визначали за методом Ієндрашика, Клеггорна, Грофа [3]. Холестерин сироватки крові (показник ліпідного обміну й естерифікуючої активності печінки) – за методом Ілько [1]. Активність амінотрансфераз – аспаратамінотрансферази (АсАТ) і аланін-амінотрансферази (АлАТ) (маркерних ферментів цитолізу) – за методом Райтмана і Френкеля у модифікації Пасхіної [4].

Протягом експерименту зі щурами поведилися відповідно до Міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментів та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986). Статистичну обробку отриманих результатів проводили методами непараметричної статистики з використанням  $t$ -критерію Стьюдента [5].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У таблиці 1 наведено біохімічні показники, які характеризують функціональний стан печінки щурів протягом дослідного періоду.

Як видно з таблиці 1, показники протеїнограми істотно не змінювалися в усі терміни спостереження. Кількість загального білка крові до кінця дослідження статистично невірогідно збільшилася. Через 3 місяці трохи зросла,

залишаючись у межах фізіологічних значень, кількість  $\alpha$ -глобуліну. Але це не вплинуло на А/Г коефіцієнт, що пояснюється відносним зниженням у цей період вмісту  $\beta$ -глобулінів.

Вміст загального білірубину, зокрема фракції прямого білірубину (табл. 2), в сироватці крові піддослідних тварин протягом усього періоду експерименту вірогідно не змінювався.

Кількість холестерину (табл. 3) до кінця досліджень трохи зменшувалася порівняно з вихідними даними, але залишалася в межах фізіологічних значень. Значення АлАТ і АсАТ – мар-

керних ферментів цитолізу протягом усього періоду не відрізнялися від величин цих ферментів у тварин контрольних груп ( $p > 0,05$ ) (табл. 4).

Отримані результати свідчать про те, що хіноболін практично не впливає на показники функціонального стану печінки.

**ВИСНОВОК.** У хронічному експерименті хіноболін, застосований внутрішньошлунково в дозах  $ED_{50}$  (42,0 мг/кг),  $5 ED_{50}$  і  $10 ED_{50}$  протягом 3 місяців, не справляв негативного впливу на функціональний стан печінки щурів.

Таблиця 1 – Вміст загального білка в сироватці крові та його фракційний склад у щурів при тривалому застосуванні хіноболіну в різних дозах ( $X \pm Sx$ ,  $n=10$ )

Групи	Доза, мг/кг	Показники	Вихідні дані	Термін дослідження		
				15 днів	30 днів	3 місяці
Контрольна	-	Загальний білок, г/л	69,0 $\pm$ 2,31	75,0 $\pm$ 3,46	70,0 $\pm$ 1,72	72,0 $\pm$ 2,10
		Альбуміни, %	50,8 $\pm$ 2,8	51,9 $\pm$ 0,89	53,1 $\pm$ 3,58	53,2 $\pm$ 2,2
		$\alpha$ -глобулін, %	9,7 $\pm$ 1,5	10,3 $\pm$ 1,72	10,1 $\pm$ 2,10	10,2 $\pm$ 1,86
		$\beta$ -глобулін, %	20,3 $\pm$ 4,20	19,3 $\pm$ 3,98	18,5 $\pm$ 4,00	17,2 $\pm$ 2,62
		$\gamma$ -глобулін, %	12,2 $\pm$ 2,0	12,2 $\pm$ 4,40	12,1 $\pm$ 3,40	12,0 $\pm$ 3,68
Дослідна	42	А/Г коефіцієнт	0,06 $\pm$ 0,15	0,13 $\pm$ 0,06	0,13 $\pm$ 0,02	0,14 $\pm$ 0,05
		Загальний білок, г/л	67,8 $\pm$ 2,41	71,3 $\pm$ 1,46	71,8 $\pm$ 1,70	73,7 $\pm$ 2,69
		Альбуміни, %	53,5 $\pm$ 2,98	54,7 $\pm$ 1,89	51,2 $\pm$ 2,50	51,2 $\pm$ 2,22
		$\alpha$ -глобулін, %	8,65 $\pm$ 2,66	14,3 $\pm$ 1,55*	10,9 $\pm$ 1,56	10,6 $\pm$ 1,49
		$\beta$ -глобулін, %	19,6 $\pm$ 7,83	13,0 $\pm$ 3,06*	17,8 $\pm$ 2,03	17,8 $\pm$ 1,94
Дослідна	210	$\gamma$ -глобулін, %	14,2 $\pm$ 2,79	14,0 $\pm$ 1,7	16,1 $\pm$ 2,32	16,2 $\pm$ 2,24
		А/Г коефіцієнт	0,2 $\pm$ 0,15	0,3 $\pm$ 0,09	0,2 $\pm$ 0,05	0,18 $\pm$ 0,05
		Загальний білок, г/л	69,4 $\pm$ 1,45	72,3 $\pm$ 1,11	72,45 $\pm$ 1,25	73,2 $\pm$ 2,10
		Альбуміни, %	51,2 $\pm$ 2,1	50,6 $\pm$ 1,1	53,2 $\pm$ 1,1	51,2 $\pm$ 0,67
		$\alpha$ -глобулін, %	10,1 $\pm$ 0,69	9,92 $\pm$ 0,88	10,3 $\pm$ 2,1	10,0 $\pm$ 0,57
Дослідна	210	$\beta$ -глобулін, %	18,7 $\pm$ 2,4	16,9 $\pm$ 2,8	19,8 $\pm$ 0,58	17,6 $\pm$ 1,2
		$\gamma$ -глобулін, %	12,8 $\pm$ 1,4	13,2 $\pm$ 1,7	14,0 $\pm$ 2,5	13,0 $\pm$ 2,8
		А/Г коефіцієнт	0,15 $\pm$ 0,07	0,14 $\pm$ 0,05	0,14 $\pm$ 0,02	0,14 $\pm$ 0,03
		Загальний білок, г/л	68,8 $\pm$ 1,30	71,21 $\pm$ 1,12	72,31 $\pm$ 1,62	73,52 $\pm$ 1,76
		Альбуміни, %	52,6 $\pm$ 1,38	53,2 $\pm$ 1,56	53,6 $\pm$ 1,45	52,4 $\pm$ 2,2
Дослідна	420	$\alpha$ -глобулін, %	9,91 $\pm$ 1,28	9,98 $\pm$ 2,1	10,3 $\pm$ 1,4	10,2 $\pm$ 1,22
		$\beta$ -глобулін, %	19,23 $\pm$ 2,2	17,6 $\pm$ 2,1	20,1 $\pm$ 0,63	18,5 $\pm$ 3,0
		$\gamma$ -глобулін, %	14,1 $\pm$ 1,48	13,8 $\pm$ 0,95	12,8 $\pm$ 0,85	13,7 $\pm$ 2,4
		А/Г коефіцієнт	0,12 $\pm$ 0,01	0,13 $\pm$ 0,04	0,13 $\pm$ 0,04	0,14 $\pm$ 0,04

Примітка. \* –  $p < 0,05$  порівняно з вихідними показниками.

Таблиця 2 – Динаміка рівня білірубину (прямої фракції) (мкмоль/л) в сироватці крові щурів при тривалому застосуванні хіноболіну в різних дозах ( $X \pm Sx$ ,  $n=10$ )

Групи дослідю	Дози, мг/кг	Вихідні дані	Термін дослідження		
			15 днів	30 днів	3 місяці
Контрольна	-	1,25 $\pm$ 0,36	1,28 $\pm$ 0,49	1,56 $\pm$ 0,16	1,52 $\pm$ 0,26
Дослідна	42	1,14 $\pm$ 0,47	2,21 $\pm$ 0,77	1,57 $\pm$ 0,32	1,54 $\pm$ 0,44
	210	1,19 $\pm$ 0,32	1,41 $\pm$ 0,52	1,36 $\pm$ 0,23	1,42 $\pm$ 0,50
	420	1,22 $\pm$ 0,12	1,32 $\pm$ 0,44	1,41 $\pm$ 0,22	1,46 $\pm$ 0,26

Примітка. Тут і в наступних таблицях результати статистично недостовірні порівняно з вихідними показниками ( $p > 0,05$ ).

Таблиця 3 – Динаміка рівня холестерину (ммоль/л) в сироватці крові щурів при тривалому застосуванні хіноболіну в різних дозах ( $X \pm Sx$ ,  $n=10$ )

Групи дослідю	Дози, мг/кг	Вихідні дані	Термін дослідження		
			15 днів	30 днів	3 місяці
Контрольна	-	0,080 $\pm$ 0,01	0,087 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,02
Дослідна	42	0,068 $\pm$ 0,01	0,050 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,02
	210	0,074 $\pm$ 0,02	0,065 $\pm$ 0,01	0,052 $\pm$ 0,01	0,051 $\pm$ 0,04
	420	0,071 $\pm$ 0,07	0,065 $\pm$ 0,12	0,054 $\pm$ 0,09	0,052 $\pm$ 0,10

Таблиця 4 – Динаміка рівня АлАТ і АсАТ (нмоль/с-л) при тривалому застосуванні хіноболіну в різних дозах ( $X \pm S_x$ ,  $n=10$ )

Групи досліджу		Доза, мг/кг	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	42	50±1,8	51±0,25	52,4±2,1	52,0±1,6
АсАТ	Дослідна	210	52±1,2	51,6±0,65	52,4±0,23	50,1±0,99
		420	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	42	131±2,1	132,1±1,1	130,2±0,56	131,1±0,25
		210	129±1,51	130,2±0,68	127,3±0,74	132,5±0,44
		420	130,5±1,4	133,2±0,56	132,5±0,75	131,0±0,70

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Данилова Л.А. Справочник по лабораторным методам исследования. – М., 2003. – С. 396-397.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів / За ред. О.В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – С. 292-307, С. 74-97, С. 196-203, С. 272-283.
3. 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.
4. Колб В.Г., Камышников В.С. Определение белковых фракций турбидиметрическим методом // В кн.: Клиническая биохимия. – Мн.: Беларусь, 1986. – С. 21-24.
5. Сернов А.Н., Гацура В.В. Элементы экспериментальной фармакологии. – М.: Медицина, 2000. – С. 308-315, С. 117-126, С. 318-320, С. 236-315.

## ВЛИЯНИЕ ХИНОБОЛИНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ В ХРОНИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

А.Ф. Тацкий, Э.Л. Торяник

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

#### Резюме

В ходе хронического эксперимента на крысах изучено влияние хиноболина в дозах  $ED_{50}$  (42,0 мг/кг),  $5ED_{50}$  и  $10ED_{50}$  на реакции цитолиза (по динамике уровня АлАТ и АсАТ), белоксинтезирующую (по показателям общего белка плазмы, его фракций, А/Г-коэффициента), пигментообразовательную (по динамике уровня прямой фракции билирубина в сыворотке крови) и холестеринобразовательную (по динамике уровня холестерина в сыворотке крови) функции печени. Установлено минимальное воздействие субстанции на указанные функции, сделан вывод об отсутствии негативного влияния хиноболина на функциональное состояние печени крыс.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хиноболлин, антитоксическая функция печени.

## INFLUENCE OF CHINOBOLIN ON FUNCTIONAL CONDITION OF LIVER IN CHRONIC EXPERIMENT

O.F. Tatsky, E.L. Toryanik

NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

#### Summary

In the course of chronic experiment on rats studied the influence of chinobolin in doses  $ED_{50}$  (42,0 mg/kg),  $5ED_{50}$  and  $10ED_{50}$  on reactions of cytolysis (on level dynamics of AlAT and AsAT), protein-synthetizing (by parameters of total plasmas protein, its fractions, A/G-coefficient), pigment-producing (by level dynamics of direct bilirubin fraction in blood serum) and cholesterol-producing (by level dynamics of cholesterol in blood serum) functions of liver. Minimum influence of substances on mentioned functions was established the conclusion about absence of the negative influence of chinobolin on functional condition of rats liver was made.

KEY WORDS: chinobolin, antitoxic function of liver.

Отримано 20.02.2008 р.

Адреса для листування: Е.Л. Торянік, Національний фармацевтичний університет, вул. Мельникова, 12, Харків, 61002, Україна.



## МИХАЙЛО ІВАНОВИЧ КАЛИНСЬКИЙ

Професор Калинський є визнаним вченим із світовим ім'ям у галузі спортивної біохімії. Він зробив пріоритетний вклад у дослідження обміну катехоламінів, цАМФ, властивостей цАМФ-залежних протеїназ скелетних та серцевого м'язів при м'язовій діяльності. М.І. Калинський – автор понад 200 наукових праць.

Пріоритетні праці М.І. Калинського з біохімії фізичних вправ та спорту підсумовані в монографії “Внутрішньоклітинна регуляція серцевого та скелетних м'язів при м'язовій діяльності”, яка була видана у США в 1995 році (Human Kinetics Publisher). Професор Калинський є також автором монографій “Спортивне харчування” (1985), “Іохімічні механізми адаптації при м'язовій діяльності” (1986), “Біохімія фізичних навантажень” (1989), “Харчування, здоров'я та фізичні вправи” (1990), “Метаболічна регуляція міокарду при різних функціональних станах” (1992), “Ергогенічні засоби підвищення працездатності у спорті” (2008).

На міжнародних симпозиумах зі спортивної біохімії, спортивної медицини та спортивного харчування, що відбулися в США, Європі та Азії у 1977-2008 роках, професору Калинському були доручені доповіді на пленарних засіданнях.

М.І. Калинський є членом редакційних рад 6-ти наукових журналів у США, Польщі, Бразилії, Індії та Україні. З 1998 року він є почесним членом провідної у світі асоціації спортивних медиків – American College of Sport Medicine (Американського коледжу спортивної медицини). М.І. Калинський гідно репрезентує та активно пропагує українську біохімію за кордоном: опублікував у США та Європі у наукових журналах історичні огляди-статті про світові пріоритети української біохімії. Інтерв'ю професора Калинського були поміщені в 1991-2007 роках у Frankfurter Allgemeine Zeitung (Франкфурт, Німеччина), Morgenavisen Jyllands-Posten (Копенгаген, Данія), The Salt Lake Tribune (Солт Лейк Сіті, США), Svoboda (США), Currier (США), The Ukrainian Weekly (США), Muscular Development (США), Wochenzeitung (Цюрих, Швейцарія), Gazeta (Росія), Chandigarh Tribune (Індія).

21 листопада 2008 року Михайлові Івановичу Калинському, члену редакційної ради журналу “Медична хімія”, виповнюється 65 років. Професор Калинський закінчив Київський державний інститут фізичної культури та Київський державний університет ім. Т.Г. Шевченка, захистив дисертацію на тему “Обмін катехоламінів при адаптації до м'язової діяльності” на здобуття ступеня кандидата біологічних наук на кафедрі біохімії та фармакології медичного факультету Ужгородського університету, докторську дисертацію на тему “Аденілатциклазна система скелетних м'язів і серця при м'язовій діяльності” в Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна у 1986 році.

М.І. Калинський у Київському інституті фізичної культури пройшов шлях від студента до проректора з наукової роботи (1961-1990). З 1972 по 1990 рік професор Калинський очолював кафедру біохімії спорту та проводив фундаментальні дослідження з біохімії фізичних вправ та спорту в Україні. Під науковим керівництвом М.І. Калинського підготовлено й успішно захищено 9 кандидатських дисертацій в Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна.

У 1970-1980 роках М.І. Калинський – член Центральної ради Українського біохімічного товариства, член комісії з біохімії Національної академії наук України, член вченої ради в Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна, член редакційної ради й активний автор в “Українському біохімічному журналі”, доповідач на з'їздах Українського біохімічного товариства.

М.І. Калинський є співавтором 3-х підручників: “Біохімія спорту” (1986), “Біохімія людини” (2002) та “Біологія людини” (2008). Михайло Іванович викладав у престижних університетах Європи й Азії: University of Bologna (Італія), The Alcala de Henares University Madrid (Іспанія) в 2006 році; The National Institute of Sports (Індія) в 2007.

М.І. Калинський успішно продовжує свою педагогічну та наукову діяльність у США, де він

є професором відділу спортивної біохімії та фізіології у Кентському університеті (Кент, Огайо).

У 2007-2008 роках М.І. Калинський отримав престижну стипендію Фулбрайта з біологічних наук.

Колеги та редакційна рада “Медичної хімії” щиро вітають Михайла Івановича з ювілеєм і зичать йому міцного здоров’я, щастя, творчих успіхів у невпинному науковому пошуку.