

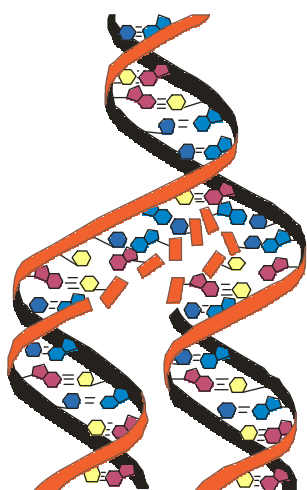
Академія медичних наук України

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

4 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

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

- Губський Ю.І., Вельчинська О.В. (Київ) СИНТЕЗ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ НОВИХ N-ЗАМІЩЕНИХ АМІНОТІАДІАЗОЛІЛФОСФІНОСУКЦИНІМІДІВ 5
- Гальченко С.Є., Дюбка Т.С., Салієнко І.А., Сандомирський Б.П. (Харків) ХРОМАТОГРАФІЧНЕ ТА СПЕКТРОФЛУОРИМЕТРИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ОРГАННОЇ ТА ВІКОВОЇ СПЕЦИФІЧНОСТІ ЕКСТРАКТІВ ОРГАНІВ 12
- Гайда Л.М., Дробінська О.В., Остапченко Л.І. (Київ) ВМІСТ ВІДНОВЛЕНОГО ГЛУТАТІОНУ ТА АПОПТИЧНИХ БІЛКІВ BCL-2 І BAX В ПАРІЄТАЛЬНИХ КЛІТИНАХ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АТРОФІЧНОГО ГАСТРИТУ 17
- Задоріна О.В., Губський Ю.І. (Київ) ВПЛИВ ЕНТЕРОСОРБЕНТІВ СИЛІКСУ ТА ЕНТЕРОСГЕЛЮ НА СТАН ОКСИДУ АЗОТУ В МЕМБРАННИХ СТРУКТУРАХ КЛІТИН ПЕЧІНКИ ЗА УМОВ ОТРУЄННЯ 1,2-ДИХЛОРЕТАНОМ 23
- Бензель Л.В., Дубровна Л.В., Федін Р.М., Бензель І.Л. (Львів) ПРОТИЗАПАЛЬНИЙ ФІТОГЕЛЬ НА ОСНОВІ ВОДОРОЗЧИННОГО КОМПЛЕКСУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН ПЛОДІВ ПЕРЦЮ СТРУЧКОВОГО 27
- Ніцак О.В., Герашенко І.І., Чекман І.С. (Київ) АДСОРБЦІЙНІ ВЛАСТИВОСТІ СУСПЕНЗІЇ НАНОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМУ 32
- Яковлева Л.В., Музика Н.Я., Шаламай А.С. (Харків) ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ НОВОГО ПРОСТАТОПРОТЕКТОРНОГО ЗАСОБУ – СУПОЗИТОРІЇВ “АЛЬТАБОР” НА МОДЕЛІ КРІОУРАЖЕННЯ ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ У ЩУРІВ 36
- Березнякова А.І., Тютка Т.І. (Харків) ВМІСТ ВІЛЬНИХ СУЛЬФГІДРИЛЬНИХ ГРУП В ЛЕГЕНЕВІЙ ТКАНИНІ ТА ЇХ ПАТОГЕНЕТИЧНА РОЛЬ У РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО НАБРЯКУ ЛЕГЕНЬ 42
- Галиця В.В., Беленічев І.Ф., Коваленко С.І. (Запоріжжя) ВПЛИВ КОНДЕНСОВАНИХ ПОХІДНИХ [1,2,4]-ТРИАЗИНО[2,3-С]-ХІНАЗОЛІНІВ НА ДЕСТРУКЦІЮ НЕЙРОНІВ КОРИ МОЗКУ ЩУРІВ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ГЛУТАМАТНОЇ ЕКСАЙТОТОКСИЧНОСТІ В ДОСЛІДАХ IN VITRO 46
- Паніна Л.В. (Львів) ПАРАМЕТРИ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗУ ВИСОКО- І НИЗЬКОРЕЗИСТЕНТНИХ ЩУРІВ В УМОВАХ ВПЛИВУ НІТРИТУ НАТРІЮ ПРИ ПОПЕРЕДНЬОМУ ЗАСТОСУВАННІ ОЛІЇ АМАРАНТУ ТА ІНТЕРВАЛЬНОГО ГІПОКСИЧНОГО ТРЕНУВАННЯ 52
- Каплаушенко А.Г., Панасенко О.І., Книш Є.Г., Свінтозельський О.О., Самура Б.А. (Запоріжжя, Харків) ПРОТИЗАПАЛЬНА АКТИВНІСТЬ 5-R₁-4-R₂-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОНІВ ТА ЇХ S-ПОХІДНИХ 59
- Котляренко Л.Т., Гнатюк М.С. (Тернопіль) ІМУНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ В ПАТОГЕНЕЗІ УРАЖЕННЯ ПОРОЖНЬОЇ КИШКИ ПРИ ОТРУЄННІ БЛІДОЮ ПОГАНКОЮ ЗАЛЕЖНО ВІД ВЕГЕТАТИВНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ ОРГАНІЗМУ 65
- Hubsy Yu.I., Velchynska O.V. (Kyiv) SYNTHESIS AND RESEARCH OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF NEW N-SUBSTITUTED AMINOTHIADIAZOLYLPHOSPHINOSUCCINIMIDES 5
- Halchenko S.Ye., Dyubko T.S., Saliyenko I.A., Sandomyrsky B.P. (Kharkiv) CHROMATOGRAPHIC AND SPECTROFLUORIMETRIC STUDY OF ORGAN AND AGE SPECIFICITY OF ORGAN EXTRACTS 12
- Hayda L.M., Drobinska O.V., Ostapchenko L.I. (Kyiv) REDUCED GLUTATHIONE AND APOPTOTIC PROTEINS (BCL-2 AND BAX) CONTENT IN PARIETAL CELLS UNDER EXPERIMENTAL ATROPHIC GASTRITIS DEVELOPMENT 17
- Zadorina O.V., Hubsy Yu.I. (Kyiv) INFLUENCE OF ENTEROSORBENTS SILIX AND ENTEROSGEL ON STATUS OF NITRIC OXIDE IN MEMBRANE STRUCTURES OF LIVER CELLS UNDER POISONING WITH 1,2 DICHLORETHANE 23
- Benzel L.V., Dubrovna L.V., Fedin R.M., Benzel I.L. (Lviv) CAPSICUM ANNUM ANTI-INFLAMMATORY PHYTOGEL ON THE BASIS OF WATER-SOLUBLE COMPLEX OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES 27
- Nitsak O.V., Herashchenko I.I., Chekman I.S. (Kyiv) THE ADSORPTION PROPERTIES OF SUSPENSION OF NANODISPERSED SILICA 32
- Yakovleva L.V., Muzyka N.Ya., Shalamay A.S. (Kharkiv) RESEARCH OF EFFECTIVENESS OF NEW PROSTATOPROTECTIVE PREPARATION – SUPPOSITORIUM “ALTABOR” ON MODEL OF PROSTATE GLAND CRYODAMAGE IN RATS 36
- Bereznyakova A.I., Tyupka T.I. (Kharkiv) MAINTENANCE OF FREE SULFHYDRILE GROUPS IN PULMONARY TISSUE AND THEIR PATHOGENETIC ROLE IN DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL LUNG EDEMA 42
- Halitsia V.V., Bielenichev I.F., Kovalenko S.I. (Zaporizhya) INFLUENCE OF CONDENSED DERIVATIVES OF [1,2,4]-TRIAZINE-[2,3-C]-QUINAZOLINES ON DESTRUCTION OF RAT CORTEX NEURONS UNDER MODELLING OF GLUTAMATE EXITOTOXICITY IN EXPERIMENTS IN VITRO 46
- Panina L.V. (Lviv) PARAMETERS OF FREE RADICAL HOMEOSTASIS IN HIGH- AND LOW RESISTANT RATS UNDER SODIUM NITRITE INFLUENCE WITH PREVIOUS APPLICATION OF AMARANTH OIL AND INTERVAL HYPOXIC TRAINING 52
- Kaplaushenko A.H., Panasenko O.I., Knysh Ye.G., Svintozelsky O.O., Samura B.A. (Zaporizhya, Kharkiv) ANTIINFLAMMATORY ACTIVITY OF 5-R₁-4-R₂-1,2,4-TRIAZOL-3-THIONS AND THEIR S-DERIVATIVES 59
- Kotlyarenko L.T., Hnatyuk M.S. (Ternopil) IMMUNOLOGICAL ASPECTS IN PATHOGENESIS OF JEJUNUM AFFECTIONS UNDER AMANITA PHALLOIDES POISONING DEPENDING ON VEGETATIVE REGULATION OF ORGANISM 65

<i>Коритнюк Р.С., Борисенко Т.А.</i> (Київ) ВПЛИВ РЕАКЦІЇ СЕРЕДОВИЩА ТА РЕЖИМУ СТЕРИЛІЗАЦІЇ НА ЗМІНУ pH І СВІТЛОПРОПУСКАННЯ У ПОЛІІОННОМУ ІНФУЗІЙНОМУ РОЗЧИНІ	69	<i>Korytniuk R.S., Borysenko T.A.</i> (Kyiv) INFLUENCE OF MEDIUM REACTION AND STERILIZATION CONDITIONS ON CHANGE OF pH AND TRANSPARENCY COEFFICIENT IN POLYIONIC INFUSION SOLUTION
<i>Мамедова С.О., Журавель І.О., Павлій О.І.</i> (Харків) АМІНОКИСЛОТНИЙ ТА МІНЕРАЛЬНИЙ СКЛАД FRAGARIA VESCA L.	73	<i>Mamedova S.O., Zhuravel I.O., Pavliy O.I.</i> (Kharkiv) AMINO ACID AND MINERAL COMPOSITION OF FRAGARIA VESCA L.
<i>Коваль М.І., Pokotylo О.С., Ярошенко Т.Я.</i> (Тернопіль) ВМІСТ ЦИТОЛІТИЧНИХ ФЕРМЕНТІВ У ПЛАЗМІ КРОВІ БІЛИХ ЩУРІВ ПРИ ПАРАЦЕТАМОЛОВОМУ ГЕПАТИТІ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ В ЕКСПЕРИМЕНТІ	77	<i>Koval M.I., Pokotylo O.S., Yaroshenko T.Ya.</i> (Ternopil) CONCENTRATION OF CYTOLYTIC ENZYMES IN BLOOD PLASMA OF WHITE RATS IN CASE OF EXPERIMENTAL PARACETAMOL HEPATITIS AND CORRECTION OF THEIR ACTIVITY
<i>Криворучко О.В.</i> (Харків) МАКРО- І МІКРОЕЛЕМЕНТНИЙ СКЛАД ЛИСТЯ КИЗИЛУ	81	<i>Kryvoruchko O.V.</i> (Kharkiv) MACRO- AND MICROELEMENT COMPOSITION OF CORNELIAN CHERRY LEAVES
<i>Георгіянтц В.А., Шиньова Н.В., Перехода Л.О.</i> (Харків) СИНТЕЗ ТА ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ АНІЛІДІВ (АРИЛАЛКІЛАМІДІВ) 4-R-2,3-ДІОКСО-1,4-ДИГІДРОПІРАЗИН-1-ІЛ-ОЦТОВИХ КИСЛОТ	85	<i>Georgiyants V.A., Shynyova N.V., Perekhoda L.O.</i> (Kharkiv) SYNTHESIS AND PHYSICAL-CHEMICAL PROPERTIES OF ANILIDES (ARYLALKYLAMIDES) 4-R-2,3-DIOXO-1,4-DIHYDROPIRAZINE-1-YL-ACETIC ACIDS
<i>Калушка О.Б., Марчишин С.М.</i> (Тернопіль) ХІМІЧНИЙ СКЛАД НАДЗЕМНОЇ ЧАСТИНИ ПИРІЮ ПОВЗУЧОГО AGROPYRON REPENS (L.)	91	<i>Kalushka O.B., Marchyshyn S.M.</i> (Ternopil) CHEMICAL COMPOSITION OF ABOVEGROUND PART OF COUCH-GRASS CREEPING AGROPYRON REPENS (L.)
<i>Тацький О.Ф.</i> (Харків) ПОКАЗНИКИ СПЕРМАТОГЕНЕЗУ ТА РЕПРОДУКТИВНОЇ ФУНКЦІЇ ЩУРІВ В УМОВАХ ВВЕДЕННЯ ХІНОБОЛІНУ	95	<i>Tatsky O.F.</i> (Kharkiv) INFLUENCE OF CHINOBOLINE ON INDEXES OF SPERMATOGENESIS AND REPRODUCTIVE FUNCTION OF RATS
<i>Ковальов С.В.</i> (Харків) ВИВЧЕННЯ АМІНОКИСЛОТНОГО ТА ЕЛЕМЕНТНОГО СКЛАДУ ДЕЯКИХ ВИДІВ РОДУ MEDICAGO L.	99	<i>Kovalyov S.V.</i> (Kharkiv) STUDY OF AMINO ACID AND ELEMENT COMPOSITION OF SOME SPECIES OF MEDICAGO L FAMILY
<i>Танадайчук Н.О.</i> (Харків) ЗМІНИ КОНЦЕНТРАЦІЙ ДЕЯКИХ ГОСТРОФАЗНИХ БІЛКІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЖІНОК ПРИ ГОСТРОМУ АПЕНДИЦИТІ	104	<i>Tanadaychuk N.O.</i> (Kharkiv) CHANGES OF CONCENTRATIONS OF SOME ACUTE-PHASE PROTEINS IN BLOOD SERUM OF WOMEN AT ACUTE APPENDICITIS
<i>Кривошей О.В., Коваленко С.І.</i> (Запоріжжя) СИНТЕЗ, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА ПРОТИРАКОВА АКТИВНІСТЬ АМІДІВ (3-ОКСО-3,4-ДИГІДРО-2H-[1,2,4]ТРИАЗИНО[4,3-С]ХІНАЗОЛІН-4-ІЛ)-ОЦТОВОЇ КИСЛОТИ	109	<i>Kryvoschey O.V., Kovalenko S.I.</i> (Zaporizhya) SYNTHESIS, PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES AND ANTICANCER ACTIVITY OF AMIDES (3-OXO-3,4-DIHYDRO-2H-[1,2,4]TRIAZINO[4,3-C]QUINAZOLINE-4-YL)-ACETIC ACID
<i>Чорна М.В.</i> (Тернопіль) ВПЛИВ МЕТАЛОКОМПЛЕКСУ ТИРОЗИНАТУ ЦИНКУ ТА ЕНТЕРОСОРБЕНТУ "ФІБРАБЕТ" НА ГЕНЕРАЦІЮ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ ТА ОКИСНЮВАЛЬНУ МОДИФІКАЦІЮ БІЛКІВ У ЩУРІВ, УРАЖЕНИХ ХЛОРИДАМИ КАДМІЮ ТА КОБАЛЬТУ	118	<i>Chorna M.V.</i> (Ternopil) INFLUENCE OF ZINC TYROSINATE METAL COMPLEX AND ENTEROSORBENT "FIBRABET" ON OXYGEN ACTIVE FORMS GENERATION AND PROTEIN OXIDATIVE MODIFICATION IN RATS AFFECTED WITH CADMIUM AND COBALT CHLORIDES
<i>Звягінцева Т.В., Киричок Л.Т., Сирова Г.О., Миронченко С.І., Горголь Н.І., Трутаєв І.В.</i> (Харків) ПАТОМОРФОЛОГІЧНЕ ПІДТВЕРДЖЕННЯ НЕШКІДЛИВОСТІ НОВОЇ КОМБІНАЦІЇ КАРБАМАЗЕПІНУ, КАЛІЄВОЇ СОЛІ 2,4-ДИХЛОРБЕНЗОЙНОЇ КИСЛОТИ І КОФЕЇНУ	123	<i>Zvyahintseva T.V., Kyrychok L.T., Syrova H.O., Myronchenko S.I., Horhol N.I., Trutayev I.V.</i> (Kharkiv) PATHOMORPHOLOGICAL CONFIRMATION OF INNOCENCE OF NEW COMBINATION OF CARBAMAZEPINUM, KALIUM SALT OF 2,4-DICHLORBENZOIC ACID AND COFFEINUM

КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

<i>Федорців О.Є., Ярема Н.М.</i> (Тернопіль) ЗНАЧЕННЯ МАРКЕРІВ КІСТКОВОГО МЕТАБОЛІЗМУ ТА ДЕСТРУКЦІЇ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ У ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА ЮВЕНІЛЬНИЙ РЕВМАТОЇДНИЙ АРТРИТ	127
<i>Дорошко В.А., Швец В.І., Левандовська К.В.</i> (Чернівці) ВИВЧЕННЯ ВІКОВИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ВМІСТУ ТЕСТОСТЕРОНУ ТА ПРОГЕСТЕРОНУ В ПЛАЗМІ КРОВІ ЩУРІВ ПРИ НЕПОВНІЙ ГЛОБАЛЬНІЙ ІШЕМІЇ МОЗКУ	130

BRIEF REPORTS

<i>Fedortsiv O.Ye., Yarema N.M.</i> (Ternopil) IMPORTANCE OF BONE METABOLISM MARKERS AND CONNECTIVE TISSUE DESTRUCTION IN CHILDREN SUFFERING FROM JUVENILE RHEUMATOID ARTHRITIS	
<i>Doroshko V.A., Shvets V.I., Levandovska K.V.</i> (Chernivtsi) EFFECT OF INCOMPLETE GLOBAL BRAIN ISCHEMIA THE BLOOD PLASMA TESTOSTERONE AND PROGESTERONE CONTENT IN RATS	

УДК 547.745

СИНТЕЗ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ НОВИХ N-ЗАМІЩЕНИХ АМІНОТІАДІАЗОЛІЛФОСФІНОСУКЦИНІМІДІВ

Ю.І. Губський, О.В. Вельчинська

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, КИЇВ

Здійснено синтез похідних N-заміщених амінотіадиазолілфосфіносукцинімідів, вивчено їх фізико-хімічні властивості. Будову синтезованих сполук підтверджено даними елементного аналізу, ІЧ- та ЯМРН-спектрів. Чистоту контролювали методами тонкошарової та газорідної хроматографії. Встановлено, що синтезовані сполуки не проявляють протисудомної активності, а потенціюють судомну дію коразолу, викликаючи кровотечі у піддослідних тварин. LD_{50} синтезованих сполук – 650 (560-750) мг/кг. Однак нові N-заміщені амінотіадиазолілфосфіносукциніміди можуть бути перспективними як потенційно біологічно активні речовини для подальшого вивчення їх фізіологічних властивостей.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **сукцинімід, синтез, протисудомна активність.**

ВСТУП. Дані вітчизняних і зарубіжних наукових робіт свідчать про спрямованість і залежність фізіологічної дії речовини від будови введеного в молекулу замісника малеїніміду [8, 9]. Було синтезовано похідні малеїніміду з анксиолітичним типом дії, які впливають на постсинаптичні рецептори; психотропні агенти та з іншими типами дії. Давно відомими і найбільш перспективними є похідні малеїнімідів, що мають протисудомну активність, такі лікарські засоби, як етосуксимід, фенсуксимід, морсуксимід, метсуксимід, пуфемід, які застосовують для лікування малих нападів епілепсії, атипичних загальних нападів при вторинній епілепсії, тяжких комплексних нападів. Сполуки з ряду заміщених малеїнімідів, порівняно з похідними барбітурової кислоти, гідатоїну та оксазолідин 2,4-діону, меншою мірою проявляють побічну та токсичну дію, а також їх можна отримувати за допомогою відносно простих методів

синтезу. З літературних джерел відомо, що N-фенілмалеїнімід реагує з трифенілфосфіном з утворенням фосфорану (схема 1) [2, 7].

Реакція триметил-, триетилфосфітів з малеїнімідом, N-фенілмалеїнімідом або п-хлорфенілмалеїнімідом за присутності оцтової кислоти проходить по подвійному зв'язку з утворенням 2-діалкоксифосфінілсукцинімідів (схема 2).

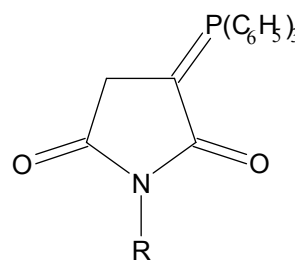


Схема 1

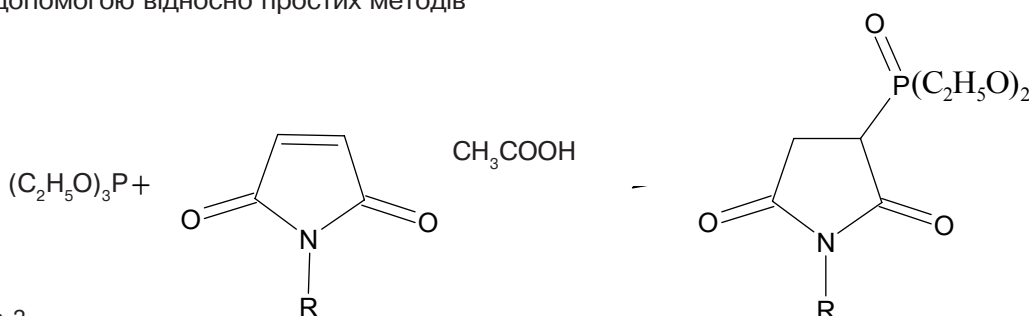


Схема 2

© Ю.І. Губський, О.В. Вельчинська, 2008.

Аніліди діалкілфосфористих кислот реагують з п-хінонами з утворенням імідофосфатів, тобто реакція перебігає по карбонільній групі хінону. В малеїнімідах електрофільна активність карбонільних груп дещо знижена, порівняно з п-хінонами, внаслідок р-π спря-

ження їх з атомом азоту, тому приєднання проходить по подвійному зв'язку. В результаті реакції N-феніл-, N-ацетил і N,N-діалкіламідів діалкілфосфористих кислот із заміщеними і незаміщеними малеїнімідами утворюються відповідні сукциніміди (схема 3).

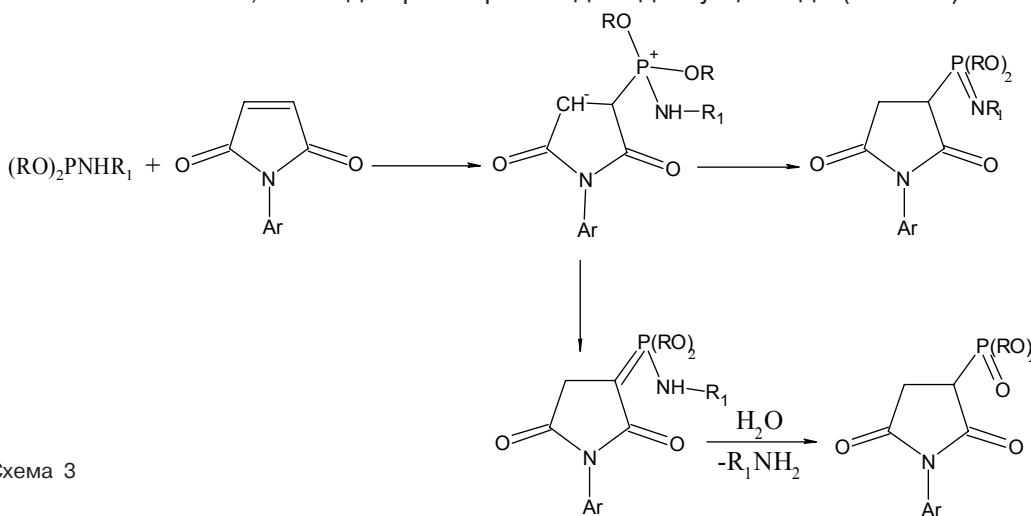


Схема 3

Стабілізація проміжного біполярного іона проходить шляхом міграції протона гетероциклу з утворенням іліду. Повні аміди діал-

кілфосфористої кислоти реагують з малеїнімідами та заміщеними малеїнімідами з утворенням слідів (схема 4).

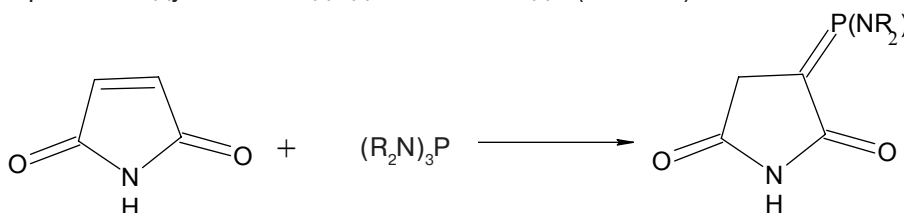


Схема 4

Реакція повних амідів фосфористої кислоти перебігає дещо інакше. Вважається, що у цьому випадку до утвореного спочатку ре-

акційноздатного фосфорного іліду приєднується молекула малеїніміду з утворенням біполярного іона (схема 5).

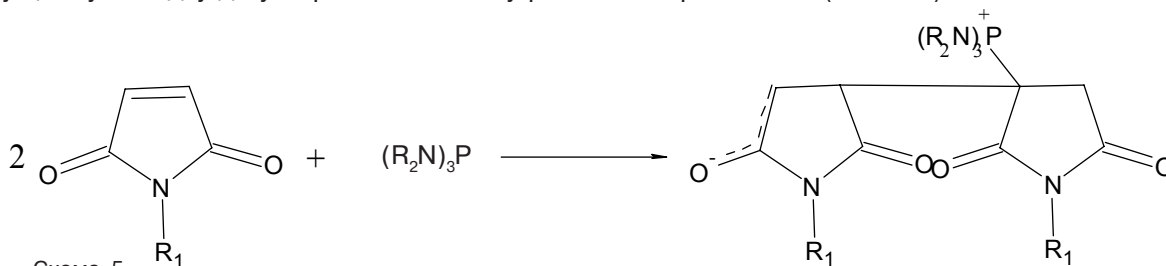


Схема 5

Реакція циклопентадієнілдіфенілфосфорану з малеїнімідом проходить як нук-

леофільне приєднання по подвійному зв'язку (схема 6).

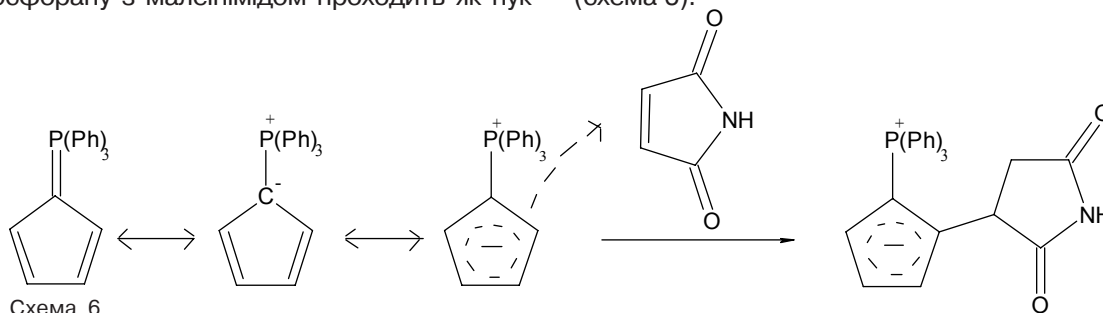


Схема 6

Авторами роботи [3] шляхом С-фосфорилювання N,N-діалкіл-N'-гетарил-формамідинів отримано нову сполуку 5-(2-амінотіадіазоліл)дифенілфосфін, яка аналогічно може реагувати з малеїнімідами шляхом нуклеофільного приєднання по подвійному зв'язку.

Раніше нами були одержані інші нові гетероциклічні похідні малеїнімідів шляхом нуклеофільного приєднання по подвійному зв'язку [1, 4].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Сполуки (I-X) синтезовано на кафедрі біоорганічної, біологічної та фармацевтичної хімії Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця. Сполуки (I-V) синтезовано шляхом взаємодії N-заміщених малеїнімідів (N-орто-хлорфенілмалеїнімід, N-пара-хлорфенілмалеїнімід, N-орто-бромфенілмалеїнімід, N-пара-бромфенілмалеїнімід, N-бензилмалеїнімід) з 5-(2-амінотіадіазоліл)дифенілфосфіном з участю атома водню аміногрупи молекули 5-(2-амінотіадіазоліл)дифенілфосфіну та подвійного зв'язку N-заміщених малеїнімідів у молярному співвідношенні 1:1.

Синтезовані сполуки (I-V) витримували в концентрованій оцтовій кислоті при температурі 18-20 °С 30 хв. Випарювали оцтову кислоту у вакуумі, а залишок – осад темно-жовтого або темно-рожевого забарвлення – фільтрували і сушили у вакуумі водострумного насоса.

Індивідуальність синтезованих сполук (I-V) та їх циклічних адуктів (VI-X) контролювали методом тонкошарової хроматографії (ТШХ), склад підтверджували даними елементного аналізу. ТШХ виконували на пластинках Silufol-254. Газорідинну хроматографію (ГРХ) проводили на газорідинному хроматографі "Perkin Elmer" з УФ-детектором (виробник "Perkin", Germany).

ІЧ-спектри записували на спектрофотометрі UR-20 (виробник "Charles Ceise Hena", Germany). ЯМРН-спектри синтезованих сполук (I-V) та їх циклічних адуктів (VI-X) записували на приладах "Bruker WP-200" (виробник "Bruker", Switzerland), "Varian T-60" (виробник "Varian", USA) з робочою частотою 200-132 МГц у вигляді розчинів ДМСО-D₆ та CDCl₃ (внутрішні стандарти ТМС та ГМДС).

Хроматограми, ІЧ-, ЯМРН-спектри кінцевих продуктів ідентифікували, порівнюючи з хроматограмами, ІЧ-, ЯМРН-спектрами вихідних сполук.

Дані елементного аналізу на С, Н, N синтезованих сполук (I-V) та їх циклічних адуктів (VI-X) відповідають обчисленим значенням.

Дослідження параметрів гострої токсичності сполук (I, V) проводили на базі Інституту фармакології та токсикології АМН України.

Експерименти щодо дослідження токсичності сполук (I, V) виконували на білих нелінійних мишах-самцях масою (22±2) г. Результати досліду обраховували в альтернативній формі на 14 добу після введення. Статистичну обробку проведено за В.Б. Прозоровським та ін. [5]. Сполуки (I, V) розчиняли у фізіологічному розчині, вводили одноразово, внутрішньоочередовно. Критерієм оцінки токсичності вважали відсоток загибелі лабораторних тварин. Доза введеної речовини для кожної зі сполук (I, V) внутрішньоочередовним способом становила від 560 до 750 мг/кг.

Дослідження протисудомної активності (антикоразолова дія) сполук (I, V) проводили на білих мишах масою 17-19 г на базі Інституту фармакології та токсикології АМН України. Коразол вводили у дозах 80 та 100 мг/кг внутрішньоочередовно. При введенні цієї дози впродовж першої хвилини після введення коразолу в 100 % випадків розвивалися клоніко-тонічні судоми. Розчини сполук (I, V) вводили за 30 хв до введення коразолу.

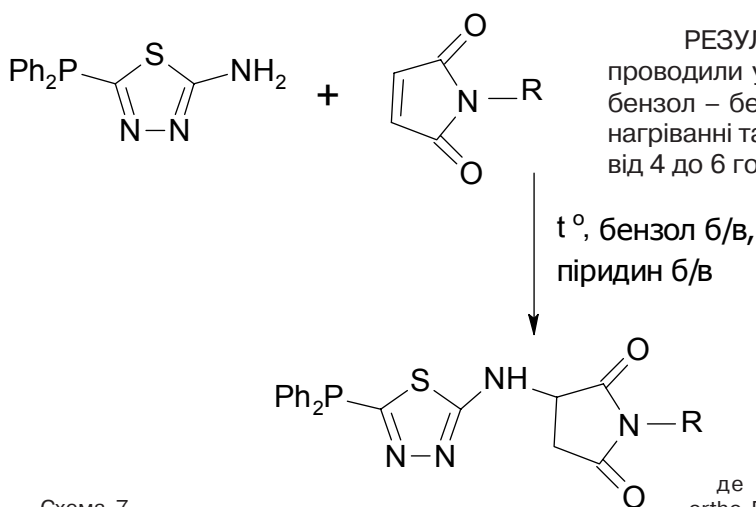


Схема 7

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Реакції проводили у системі розчинників (безводний бензол – безводний піридин) при постійному нагріванні та перемішуванні реакційної суміші від 4 до 6 год (схема 7).

де R = -ortho-ClPh (I), -para-ClPh (II), -ortho-BrPh (III), -para-BrPh (IV), -CH₂Ph (V).

Синтезовані сполуки (I-V) – це кристалічні порошки від темно-жовтого до рожевого забарвлення, кристалізуються з водного етанолу.

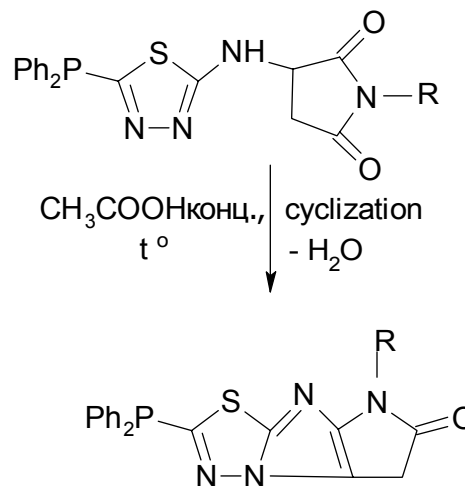
ІЧ-спектри синтезованих сполук (I-V) характеризуються відсутністю сигналів групи ($-\text{NH}_2$) вихідної молекули 5-(2-амінотіадіазоліл)дифенілфосфіну при 3280, 3360 cm^{-1} .

Валентні коливання груп ($\text{C}=\text{O}$) проявляються високоінтенсивним максимумом в ділянці 1630-1750 cm^{-1} та є найбільш характеристичними, оскільки інші сигнали в цій ділянці практично відсутні.

Співвідношення інтегральних інтенсивностей сигналів у ПМР-спектрах синтезованих сполук (I-V) підтверджує відсутність протонів первинної групи ($-\text{NH}_2$) при 6.14 м.д. фрагмента молекули 5-(2-амінотіадіазоліл)дифенілфосфіну, спостерігаються сигнали у вигляді синглету при 5.642-5.743 м.д. протонів вторинної групи ($-\text{NH}-$), що утворилася після реакції. ПМР-спектри сполук (I-V) містять сигнали у вигляді мультиплету при 7.268-7.888 м.д., що відповідає, згідно зі співвідношенням інтегральних інтенсивностей, протонам трьох ароматичних кілець кожної молекули із синтезованих сполук (I-V).

Було досліджено деякі хімічні властивості синтезованих сполук (I-V), зокрема здатність їх циклізуватися при нагріванні в кислому середовищі з утворенням складних конденсованих гетероциклічних систем, що зумовлено особливостями хімічної будови синтезованих сполук (I-V). Оскільки такі реакції для гетероциклічних похідних N-заміщених малеїнімідів не описано, становило інтерес дослідити реакційну здатність синтезованих сполук (I-V) в реакціях внутрішньомолекулярної циклізації. Циклічні адукти (VI-X) – це кристалічні порошки темно-жовтого або темно-рожевого забарвлення. Циклізація відбувається за рахунок де-

гідратації з участю вторинної аміногрупи, карбонільної групи та атома водню малеїнового фрагмента молекули, що призводить до утворення трьох конденсованих гетероциклічних циклів та міграції подвійних зв'язків. Можна запропонувати таку схему реакції циклізації сполук (I-V) в результаті дегідратації при нагріванні їх в концентрованій оцтовій кислоті з утворенням відповідних адуктів (VI-X) (схема 8).



де R = -ortho-ClPh (I, VI), -para-ClPh (II, VII), -ortho-BrPh (III, VIII), -para-BrPh (IV, IX), -CH₂Ph (V, X).

Схема 8

ПМР-спектри циклічних адуктів (VI-X) містять сигнали у вигляді мультиплету при 7.388-7.455 м.д., що відповідає, згідно зі співвідношенням інтегральних інтенсивностей, протонам трьох ароматичних кілець, сигнали протонів аміногрупи відсутні.

Спектральні характеристики синтезованих сполук (I-V) та їх циклічних адуктів (VI-X) наведено в таблиці 1, фізико-хімічні характеристики та дані елементного аналізу – в таблиці 2.

Таблиця 1 – Спектральні характеристики синтезованих сполук (I-V) та їх циклічних адуктів (VI-X)

№ сполуки	ІЧ-спектр (KBr), cm^{-1} , γ	ЯМР ¹ H-спектр (DMCO-D ₆ , CDCl ₃), δ , м.д. (J, Гц)
1	2	3
I	550-850 (C-Cl), 650-900 (Ph), 1630 - 1750 (C=O), 3310, 3350 (-NH -).	1.690 (2H, т., -CH ₂ - maleinimides), 5.642 (1H, с., -N-H), 7.268 - 7.888 (15H, м., 3Ph)
II	550-850 (C-Cl), 650-900 (Ph), 1630 - 1750 (C=O), 3310, 3350 (-NH -).	1.687 (2H, т., -CH ₂ - maleinimides), 5.644 (1H, с., -N-H), 7.269 - 7.878 (15H, м., 3Ph)
III	515-690 (C-Br), 650-900 (Ph), 1630 - 1750 (C=O), 3310, 3350 (-NH -).	1.694 (2H, т., -CH ₂ - maleinimides), 5.740 (1H, с., -N-H), 7.268 - 7.877 (15H, м., 3Ph)
IV	515-690 (C-Br), 650-900 (Ph), 1630 - 1750 (C=O), 3310, 3350 (-NH -).	1.687 (2H, т., -CH ₂ - maleinimides), 5.733 (1H, с., -N-H), 7.269 - 7.658 (15H, м., 3Ph)
V	650-900 (Ph), 1630 - 1750 (C=O), 3310, 3350 (-NH -).	1.690 (2H, т., -CH ₂ - maleinimides), 4.635 (2H, с., -CH ₂ Ph), 5.743 (1H, с., -N-H), 7.270 - 7.885 (15H, м., 3Ph)
VI	550-850 (C-Cl), 650-900 (Ph), 1715 (C=O)	7.388 - 7.455 (15H, м., 3Ph)

1	2	3
VII	550-850 (C-Cl), 650-900 (Ph), 1715 (C=O)	7.389 – 7.445 (15H, м., 3Ph)
VIII	515-690 (C-Br), 650-900 (Ph), 1715 (C=O)	7.398 – 7.444 (15H, м., 3Ph)
IX	515-690 (C-Br), 650-900 (Ph), 1715 (C=O)	7.399 – 7.434 (15H, м., 3Ph)
X	650-900 (Ph), 1715 (C=O)	4.635(2H, с., -CH ₂ Ph), 7.412 – 7.437 (15H, м., 3Ph)

Таблиця 2 – Фізико-хімічні характеристики та дані елементного аналізу синтезованих сполук (I-V) та їх циклічних адуктів (VI-X)

№ сполуки	Знайдено, у %			Брутто-формула	Обчислено, у %			Т.пл., °C	Практичний вихід, %
	C	H	N		C	H	N		
I	58.4	3.66	11.40	C ₂₄ H ₁₈ N ₄ O ₂ CISP	58.47	3.68	11.36	158-161	45
II	58.41	3.65	11.3	C ₂₄ H ₁₈ N ₄ O ₂ CISP	58.47	3.68	11.36	163-165	47
III	53.66	3.35	10.40	C ₂₄ H ₁₈ N ₄ O ₂ BrSP	53.64	3.37	10.42	171-174	43
IV	53.65	3.36	10.41	C ₂₄ H ₁₈ N ₄ O ₂ BrSP	53.64	3.37	10.42	169-172	48
V	62.8	4.27	11.5	C ₂₅ H ₂₁ N ₄ O ₂ SP	63.5	4.48	11.8	160-163	50
VI	59.22	3.30	11.47	C ₂₄ H ₁₆ N ₄ OCISP	59.26	3.31	11.5	139-142	67
VII	59.3	3.29	11.49	C ₂₄ H ₁₆ N ₄ OCISP	59.26	3.31	11.5	140-143	77
VIII	54.33	3.0	10.50	C ₂₄ H ₁₆ N ₄ OBrSP	54.35	3.04	10.55	132-135	83
IX	54.34	2.94	10.56	C ₂₄ H ₁₆ N ₄ OBrSP	54.35	3.04	10.55	129-132	65
X	64.9	4.14	11.9	C ₂₅ H ₁₉ N ₄ OSP	65.8	4.17	12.3	128-131	70

Експерименти показали, що сполуки (I, V) належать до малотоксичних сполук, ЛД₅₀ для них становить 650 мг/кг (560-750). У дослід-

них тварин спостерігалися тонічні судоми, блювання, кровотечі. Результати дослідів наведено в таблиці 3.

Таблиця 3 – Параметри токсичності сполук (I, V)

Сполука	Шлях введення	ЛД ₅₀ , мг/кг
I	Внутрішньоочеревинний	650 (560-750)
V	Внутрішньоочеревинний	650 (560-750)

Як показали досліди, сполуки (I, V) не мають протисудомної дії, більш того, вони потенціюють судомну дію коразолу, але їх вплив супроводжувався зниженням частоти та часу судомних нападів та зменшенням відсотка тварин, які загинули. При введенні їх розчину

в організм піддослідних тварин до введення коразолу відсоток тварин із синдромом судомів зменшувався зі 100 до 80 %, знижувався відсоток тварин, які загинули, з 33 (при дії коразолу) до 17 %. Результати дослідів наведено в таблиці 4.

Таблиця 4 – Результати дослідження антикоразолової дії сполук (I, V) на білих мишах

Умови дослідів, сполука	Кількість тварин*	Відсоток тварин із синдромом судомів	Відсоток тварин, які загинули
Коразол, 80 мг/кг (контроль)	6/6	100	33
I, 200 мг/кг	5/6	80	17
V, 200 мг/кг	5/6	80	17

Примітка. * – кількість тварин із судомами/кількість тварин у досліді.

ВИСНОВКИ. 1. Розроблено та запатентовано ефективний метод синтезу N-заміщених амініотіадіазолілфосфіносукцинімідів шляхом взаємодії N-заміщених малеїнімідів (N-орто-хлорфенілмалеїнімід, N-пара-хлорфенілмалеїнімід, N-орто-бромфенілмалеїнімід, N-пара-

бромфенілмалеїнімід, N-бензилмалеїнімід) з 5-(2-амінотіадіазоліл)дифенілфосфіном з участю атома водню аміногрупи молекули 5-(2-амінотіадіазоліл)дифенілфосфін та подвійного зв'язку N-заміщених малеїнімідів у молярному співвідношенні 1:1 у системі розчинників

(безводний бензол – безводний піридин) при постійному нагріванні та перемішуванні реакційної суміші від 4 до 6 год з високим виходом та чистотою.

2. Будову синтезованих сполук підтверджено даними елементного аналізу, ІЧ-, ЯМР¹H-спектроскопії, а індивідуальність – методами тонкошарової та газорідинної хроматографії.

3. За даними елементного аналізу, ІЧ-, ЯМР¹H-спектроскопії виявлено, що при нагріванні в кислому середовищі синтезовані сполуки здатні циклізуватися з утворенням складних конденсованих гетероциклічних

систем, що зумовлено особливостями хімічної будови синтезованих сполук.

4. За результатами фармакологічних досліджень виявлено, що деякі із синтезованих сполук належать до малотоксичних сполук, ЛД₅₀ для них становить 650 мг/кг (560-750), не мають протисудомної дії. Вони потенціюють судомну дію коразолу. При введенні їх розчину в організм піддослідних тварин до введення коразолу відсоток тварин із синдромом судомів зменшувався зі 100 до 80 %, знижувався відсоток тварин, які загинули, з 33 (при дії коразолу) до 17 %.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вельчинська О.В., Кузьменко І.Й., Драпайло А.Б. Синтез нових похідних заміщених малейнімідів як потенційних фізіологічно активних агентів // Тези доп. XVIII Укр. конф. з орг. хімії. – Дніпропетровськ, 1998. – С. 369.
2. Лулусян К.К., Агбалян С.Г. // Арм. хим. журн. – 1987. – **40**, № 5. – С. 296-312.
3. Ошовский Г.В., Толмачев Ф.Ф., Меркулов А.С., Пинчук А.М. Тиadiaзолилфосфины с азотсодержащими заместителями // Хим. гетероцикл. соед. – 1997. – № 10. – С. 1422-1424.
4. Пат. 13339 Україна. МПК C07D239/553, A61K33/16, C07C21/00. Спосіб отримання речовини з потенційними фізіологічними властивостями N-бензил-3-[5'-(2''-амінотіадиазоліл) дифенілфосфіно]-сукцинімід / Вельчинська О.В. (Україна); Заявл. 09.11.05; Опубл. 15.03.06, Бюл. № 3. – 4 с.

5. Прозоровский В.Б., Прозоровский В.П., Демченко В.М. Экспресс-метод определения средней эффективности дозы и ее ошибки // Фармакол. и токсикол. – 1978. – **41**, № 4. – С. 407-509.
6. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США / Под ред. З.П. Софьиной, А.Б. Сыркина, А. Голдина, А. Кляйна. – М.: Медицина, 1979. – 296 с.
7. Amagat P. // Traite de Chemie Organique. – 1941. – **13**. – P. 502-521.
8. Magid Abou-Gharbia, Usha R. Patel et al. // J. Med. Chem. – 1988. – **31**, № 7. – P. 1382-1385.
9. Richards M.N. (Merrel D., Res. Inst. 67084, Strasbourg, Fr.) // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1990. – 255 (1). – P. 83-89.

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ N-ЗАМЕЩЕННЫХ АМИНОТИАДИАЗОЛИЛФОСФИНОСУКЦИНИМИДОВ

Ю.И. Губский, Е.В. Вельчинская

НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. А.А. БОГОМОЛЬЦА, КИЕВ

Резюме

Осуществлен синтез производных N-замещенных аминотиадиазолилфосфиносукцинимидов, изучены их физико-химические свойства. Строение синтезированных соединений подтверждено данными элементного анализа, ИК- и ЯМР¹H-спектров. Чистоту контролировали методами тонкослойной и газожидкостной хроматографии. Установлено, что синтезированные соединения не проявляют противосудорожной активности, а потенцируют судорожное действие коразола, вызывая кровотечения у подопытных животных. ЛД₅₀ синтезированных соединений – 650 (560-750) мг/кг. Однако новые N-замещенные аминотиадиазолилфосфиносукцинимиды могут быть перспективными как потенциально биологически активные вещества для дальнейшего изучения их физиологических свойств.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **сукцинимид, синтез, противосудорожная активность.**

SYNTHESIS AND RESEARCH OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF NEW N-SUBSTITUTED AMINOTHIADIAZOLYLPHOSPHINOSUCCINIMIDES

Yu.I. Hubsy, O.V. Velchynska
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLETS, KYIV

Summary

Synthesis of derivatives of N-substituted aminothiadiazolilphosphinosuccinimides has been performed and their physical and chemical properties have been studied. The structure of synthesized compounds has been confirmed by data of element analysis, IR- and NMRH-spectra. The purity has been tested by method of thin-layer and gas-liquid chromatography.

It has been determined the absence of anticonvulsant action of the synthesized compounds. The increase of convulsing action of corazole provokes the bleedings at the experimental animals. LD₅₀ of the synthesized compounds – 650 (560-750) mg/kg. But new N-substituted aminothiadiazolilphosphinosuccinimides can be perspective as potential biologically active substances for future investigations of their physiological properties.

KEY WORDS: succinimide, synthesis, anticonvulsant activity.

Отримано 12.06.2008 р.

Адреса для листування: О.В. Вельчинська, вул. Анни Ахматової, 16 "Г", кв. 14, Київ, 02068, Україна.

ХРОМАТОГРАФІЧНЕ ТА СПЕКТРОФЛУОРИМЕТРИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ОРГАННОЇ ТА ВІКОВОЇ СПЕЦИФІЧНОСТІ ЕКСТРАКТІВ ОРГАНІВ

С.Є. Гальченко, Т.С. Дюбко, І.А. Салієнко, Б.П. Сандомирський
ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ НАН УКРАЇНИ

У роботі показано, що спектри молекулярних мас пептидів в екстрактах кріоконсервованих фрагментів органів залежать від органа та віку тварин. Усім дослідженим екстрактам притаманна власна флуоресценція, а відмінності в спектрах флуоресценції та синхронних спектрах екстрактів свідчать про їх різний якісний та кількісний склад. Використані в роботі методи можуть бути застосовані для оцінки якості та складу екстрактів тканин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **екстракт, органи, пептиди, хроматографія, спектрофлуориметрія.**

ВСТУП. На даний час не викликає сумніву те, що пептидна регуляція відіграє важливу роль в підтриманні гомеостазу організму як в нормі, так і при різноманітних патологічних станах. Встановлено також, що екстракти кріоконсервованих фрагментів органів свиней та поросят стимулюють репаративні процеси при патологіях відповідних органів [2]. Така біологічна дія екстрактів пов'язана з наявністю в них регуляторних пептидів [5, 7, 8]. Тому дослідження пептидного складу екстрактів має важливе значення для розуміння механізму їх дії та для стандартизації біологічних препаратів на основі екстрактів тканин.

Метою роботи було встановити молекулярно-масовий розподіл пептидів в екстрактах кріоконсервованих фрагментів органів та отримати їх спектральні характеристики.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Екстракти отримували з фрагментів органів шкіри новонароджених поросят і шкіри, селезінки та печінки статевозрілих свиней, кріоконсервованих за присутності 10 % ПЕО-1500 зі швидкістю охолодження 1 °С/хв шляхом їх інкубації у фізіологічному розчині [6].

Для визначення молекулярно-масового розподілу низькомолекулярних фракцій речовин пептидної природи використовували метод високоефективної гел'проникаючої хроматографії [4]. Флуоресценцію збуджували світлом з довжинами хвиль 280 нм (загальна флуоресценція) та 296 нм (триптофанова

флуоресценція). Вимірювання проводили на спектрофлуориметрі Varian Cary Eclipse. Ширина вхідної та вихідної щілин монохроматорів становила 5 нм [3]. Всі спектральні вимірювання виконували при 20 °С в стандартних кварцевих кюветах 1x1x3 см. Обробку спектрів проводили в програмі Microcal Origin 6.0.

Результати обробляли статистично за допомогою пакета програм Statistica for Windows 5.1 [1].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як видно з хроматограм (рис. 1, табл. 1), молекулярно-масовий розподіл пептидів в екстрактах залежить як від біологічного матеріалу, з якого одержано екстракт, так і від віку тварин. Максимальна кількість піків спостерігається на хроматограмі екстракту кріоконсервованих фрагментів печінки, а мінімальна – на хроматограмі екстракту селезінки свиней. На хроматограмі шкіри поросят реєструється 5 піків, а на хроматограмі шкіри свиней – 7. При цьому фракції А та С на хроматограмі шкіри поросят відсутні. Можна також відмітити, що процентний вміст фракцій Р та F в екстракті шкіри поросят значно більший, ніж в екстракті шкіри свиней.

Спектри флуоресценції екстрактів селезінки та печінки свиней відрізняються між собою за формою та інтенсивністю (рис. 2), що свідчить про різний амінокислотний склад пептидів. Спектри флуоресценції екстрактів шкіри поросят та свиней також мають свої особливості. Флуоресценція більшості білків і пептидів пов'язана перш за все з триптофановими залишками, індольні кільця яких є чутливими флуорофорами [3]. На спектри флуо-

© С.Є. Гальченко, Т.С. Дюбко, І.А. Салієнко, Б.П. Сандомирський, 2008.

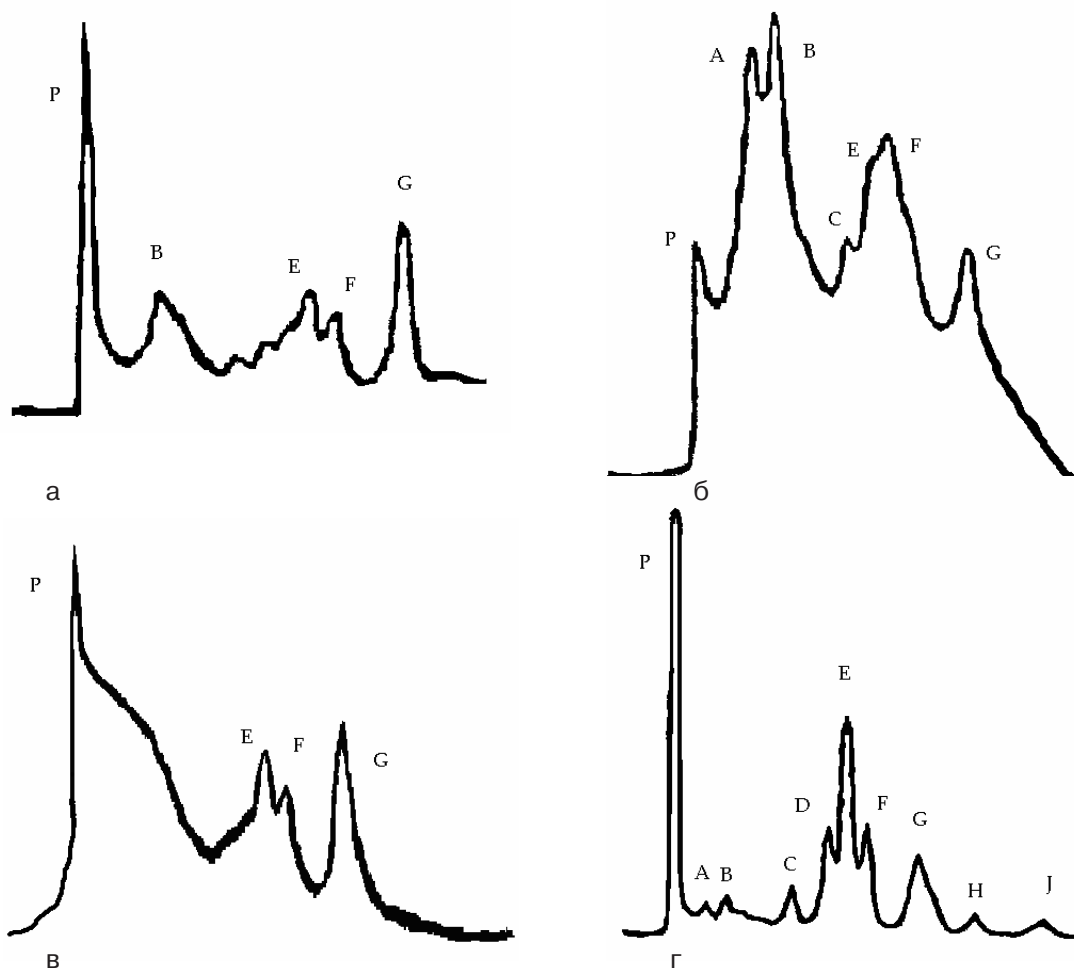


Рис. 1. Хроматограми екстракту криоконсервованих фрагментів шкіри новонароджених поросят (а), статевозрілих свиней (б), селезінки (в) та печінки (г) свиней.

Таблиця 1 – Процентний вміст пептидних фракцій в екстрактах

Фракція	Молекулярна маса	Біологічний матеріал			
		Шкіра поросят	Шкіра свиней	Селезінка свиней	Печінка свиней
P	>10000	37,3	3,1	23,1	44,2
A	5700-5400		17,5		1,0
B	4800-4440	19,5	32,7		0,6
C	2190-2000		18,5		2,8
D	1600-1490				8,7
E	1400-1300	6,7	10,6	22,5	20,6
F	1200-1100	8,2	9,3	8,1	8,6
G	800	28,3	8,3	46,3	11,1
H	630				1,5
J	500				0,9

ресценції речовин пептидної природи впливають зв'язування субстратів, реакції асоціації і денатурації. Спектри флуоресценції тканинних екстрактів – у межах 290-450 нм. При збудженні світлом з довжиною хвилі 280 нм максимум спектрів флуоресценції перебуває в межах 340-354 нм, що може свідчити про на-

явність в екстрактах доступних розчиннику залишків триптофану [9]. При збудженні світлом з довжиною хвилі 296 нм в екстрактах селезінки вклад флуоресценції триптофанів був найменшим, а в екстрактах печінки проявився пік при 370 нм, найімовірніше не-пептидної природи.

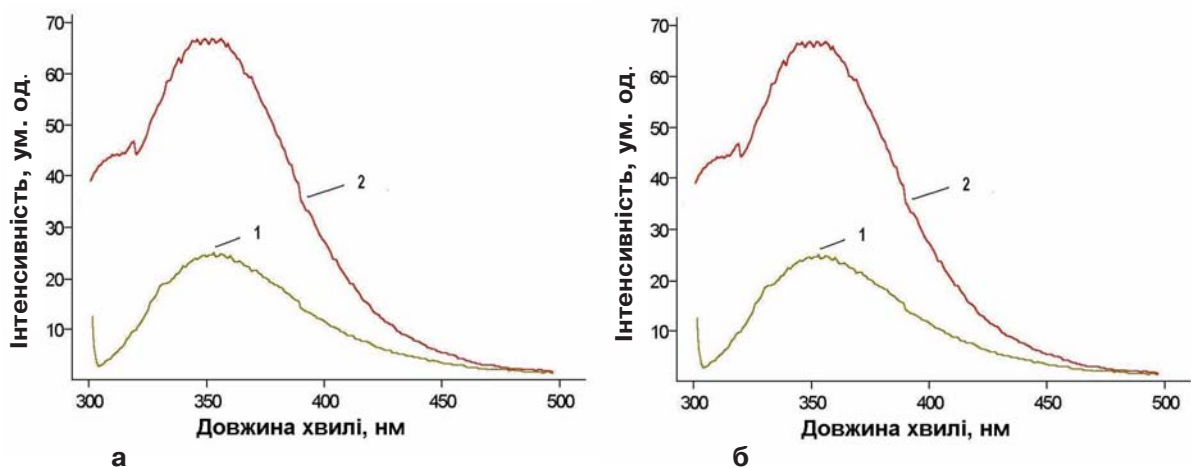


Рис. 2. Спектри флуоресценції екстрактів кріоконсервованих фрагментів селезінки (а) і печінки (б) свиней. Збудження світлом з довжиною хвилі 280 нм (1) і 296 нм (2).

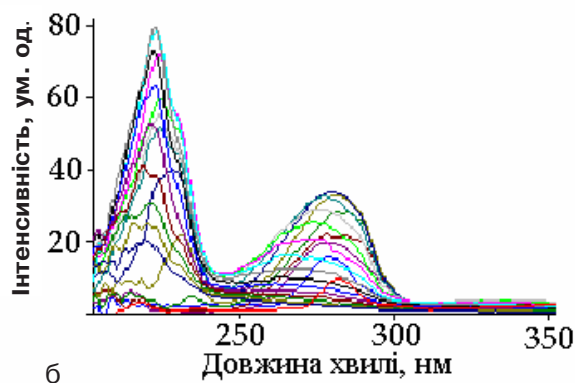
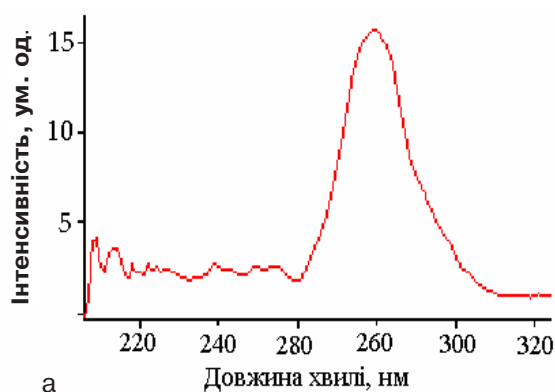
Детальний аналіз флуоресценції білків і пептидів провести важко, що пов'язано як з великою кількістю факторів, які впливають на флуоресценцію індольної складової, так і з наявністю в більшості таких речовин декількох різних триптофанових залишків. Оскільки кожен залишок перебуває в різному оточенні, то і спектральні властивості кожного залишку в загальному випадку розрізняються [3]. При дослідженні сумішей білків або пептидів, до складу яких входить значна кількість триптофанових залишків, що знаходяться в гетерогенному оточенні, важко співвіднести конкретні спектральні характеристики з окремим ароматичним амінокислотним залишком. В таких випадках доводиться говорити лише про якісний опис спектральних властивостей груп цих залишків.

Відмінності, які спостерігаються в спектрах флуоресценції тканинних екстрактів, підтверджують дані, що до їх складу входять пептиди та небілкові компоненти, які відрізняються за кількісним співвідношенням та амінокислотним складом.

Повна ідентифікація компонентів тканинних екстрактів, як правило, не можлива і в багатьох випадках не має сенсу. Оскільки кожний екстракт має унікальний хімічний склад, йому буде притаманний унікальний набір синхронних спектрів флуоресценції. Синхронні спектри флуоресценції являють собою суперпозицію спектрів флуоресценції, зареєстрованих при різних величинах зсуву монохроматорів збудження та флуоресценції, і, таким чином, можуть бути використані для якісного аналізу екстрактів. Це дозволяє, не проводячи визначення окремих компонентів екстракту, його ідентифікувати.

Як приклад, на рисунку 3 наведені синхронні спектри флуоресценції екстракту кріоконсервованих фрагментів селезінки (а, б) та печінки (в, г) свиней, отримані при величині зсуву монохроматорів збудження і флуоресценції $\Delta\lambda=20$ нм (а, в) та величині зсуву монохроматорів від 10 до 200 нм (б, г) з кроком 10 нм.

При цьому порівняння синхронних спектрів флуоресценції екстрактів, які в ряді випадків дозволяють виділити складові з багатокомпо



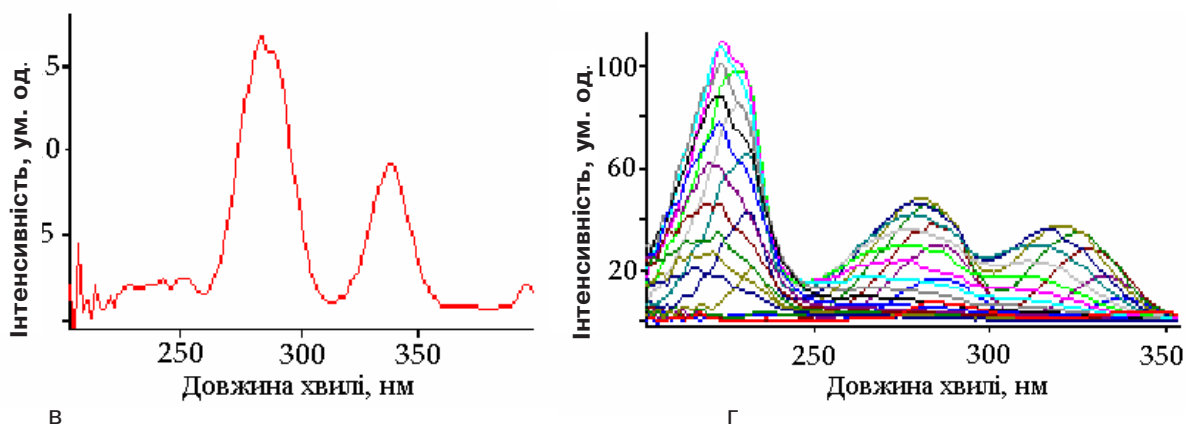


Рис. 3. Синхронні спектри флуоресценції екстракту селезінки (а, б) та печінки (в, г) свиней. Величина зсуву монохроматорів збудження і флуоресценції $\Delta\lambda = 20$ нм (а, в) та величина зсуву монохроматорів від 10 до 200 нм (б, г) з кроком 10 нм.

нентних сумішей [3], дають можливість не тільки виявити розбіжності в складі екстрактів, що досліджуються, але й отримати їх індивідуальні спектральні топограми, які являють собою спектральні характеристики відповідних екстрактів (рис. 4). На даному рисунку по осі абсцис відкладена довжина хвилі флуоресценції, по осі ординат – величина зсуву моно-

хроматорів, а інтенсивність флуоресценції відповідає шкалам, розташованим на рисунках справа. Наведені дані підтверджують можливість ідентифікації екстрактів за топограмами їх синхронних спектрів, і такий підхід може бути використаний при стандартизації препаратів, біологічна дія яких основана на наявності в них регуляторних пептидів.

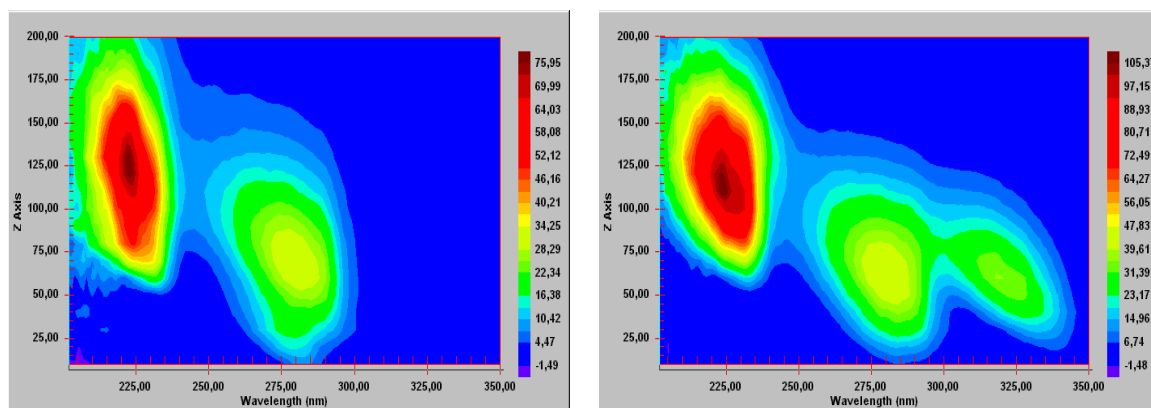


Рис. 4. Топограми синхронних спектрів флуоресценції екстракту селезінки (а) та печінки (б) свиней. Величина зсуву монохроматорів збудження і флуоресценції від 10 до 200 нм з кроком 10 нм.

ВИСНОВКИ. Спектри молекулярних мас пептидів, які входять до складу екстрактів, залежать від органа, з фрагментів якого вони були одержані, та віку тварин. Всім дослідженим екстрактам притаманна власна флуоресценція, що вказує на наявність в них речовин

пептидної природи. Відмінності в спектрах флуоресценції та синхронних спектрах екстрактів свідчать про їх різний якісний та кількісний склад. Використані в роботі методи дослідження можуть бути застосовані для оцінки якості та складу тканинних екстрактів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Боровиков В.П., Боровиков И.П. STATISTICA – Статистический анализ и обработка данных в среде Windows. – М.: Филінь, 1997. – 608 с.
2. Гальченко С.Є. Тканинна та вікова специфічність водно-сольових екстрактів кріоконсер-

- вованих фрагментів ксеноорганів // Пробл. криобиології. – 2005. – **15**, № 2. – С. 153-158.
3. Демченко А.П. Люминесценция и динамика структуры белков. – К.: Наук. думка, 1988. – 277 с.

4. Столяров Б.В., Савинов И.М., Витенберг А.Г. и др. Практическая газовая и жидкостная хроматография. – СПб.: СПбГУ, 2002. – 620 с.

5. Хавинсон В.Х., Анисимов С.В., Малинин В.В., Анисимов В.Н. Пептидная регуляция генома и старение. – М.: Изд-во РАМН, 2005. – 208 с.

6. Пат. 64381 А Україна, МПК⁷ А61К35/12. Спосіб отримання екстрактів ксеногенних органів / С.Є. Гальченко, Н.Ю. Шкодовська, Б.П. Сандомирський, В.І. Грищенко ІПКіК НАН України. – № 2003054649; Заявл. 22.05.2003; Опубл. 16.02.2004; Бюл. Промисл. власність № 2.

7. Obminska-Mrukowicz B., Piekarska J., Szczypka M. et al. Modulatory effects of calf thymus extract on the subset of T lymphocytes in Trichinella spiralis-infected mice // Pol. J. Vet. Sci. – 2002. – 5, № 4. – P. 243-249.

8. Kaufman S., Deng Y. Effect of splenic extract on plasma volume and renal function in the rat // Life Sci. – 1999. – 65, № 24. – P. 2653-2662.

9. Reshetnyak Y.K., Burstein E.A. Decomposition of protein tryptophan fluorescence spectra into log-normal components. II. The statistical proof of discreteness of tryptophan classes in proteins // Biophys. J. – 2001. – 81. – P. 1710-1734.

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ И СПЕКТРОФЛУОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОРГАНОЙ И ВОЗРАСТНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ ЭКСТРАКТОВ ОРГАНОВ

С.Е. Гальченко, Т.С. Дюбко, И.А. Салиенко, Б.П. Сандомирский
ИНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРИОБИОЛОГИИ И КРИОМЕДИЦИНЫ НАН УКРАИНЫ

Резюме

В работе показано, что спектры молекулярных масс пептидов в экстрактах криоконсервированных фрагментов органов зависят от органа и возраста животных. Все исследованные экстракты обладают собственной флуоресценцией, а отличия в спектрах флуоресценции и синхронных спектрах экстрактов свидетельствуют об их различном качественном и количественном составе. Используемые в работе методы могут быть применены для оценки качества и состава экстрактов тканей.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **экстракт, органы, пептиды, хроматография, спектрофлуориметрия.**

CHROMATOGRAPHIC AND SPECTROFLUORIMETRIC STUDY OF ORGAN AND AGE SPECIFICITY OF ORGAN EXTRACTS

S.Ye. Halchenko, T.S. Dyubko, I.A. Saliyenko, B.P. Sandomyrsky
INSTITUTE FOR PROBLEMS OF CRYOBIOLOGY AND CRYOMEDICINE OF NATIONAL ACADEMY
OF SCIENCES OF UKRAINE

Summary

The paper has shown that the spectra of molecular masses of peptides in the extracts of cryopreserved fragments of organs depend on an organ and age of animals. All the studied extracts have own fluorescence and the distinctions in the fluorescence spectra and synchronous ones of the extracts testify to their different qualitative and quantitative composition. The applied research methods can be used for estimation of the quality and composition of the tissue extracts.

KEY WORDS: **extract, organs, peptides, chromatography, spectrofluorimetry.**

Отримано 29.05.2008 р.

Адреса для листування: С.Є. Гальченко, Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, вул. Переяславська, 23, Харків, 61015, Україна.

ВМІСТ ВІДНОВЛЕНОГО ГЛУТАТІОНУ ТА АПОПТИЧНИХ БІЛКІВ VCL-2 І Вах В ПАРІЄТАЛЬНИХ КЛІТИНАХ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АТРОФІЧНОГО ГАСТРИТУ

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

Досліджено вміст відновленого глутатіону (GSH) та рівень апоптогенних білків Vcl-2 і Вах в парієтальних клітинах шлунка щурів за умов розвитку експериментального хронічного атрофічного гастриту (CAG). Зростання вмісту GSH та зниження рівня проапоптичного білка Вах на ранніх етапах розвитку CAG можуть свідчити про гіперпроліферацію стовбурових клітин і активізацію процесів антиоксидантного захисту. Пізні стадії розвитку патології характеризуються підвищенням рівня Вах і зниженням GSH, що може бути причиною зменшення кількості спеціалізованих залоз, а збільшення вмісту GSH та антиапопточного Vcl-2 на 6-й тиждень може слугувати маркером пілоричної метаплазії.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: атрофічний гастрит, парієтальні клітини, глутатіон, Vcl-2, Вах, апоптоз.

ВСТУП. Актуальність проблеми хронічного атрофічного гастриту (CAG) зумовлена значним поширенням цієї хвороби у структурі захворювань шлунково-кишкового тракту та його безпосереднім зв'язком з раком шлунка [3].

Відомо, що атрофічний гастрит супроводжується дистрофічними змінами клітин поверхневого епітелію, зменшенням кількості спеціалізованих залоз одного або кількох відділів шлунка, виникненням оксидативного та нітрозативного стресів, а також розвитком суцільної запальної інфільтрації слизової оболонки [1]. Наслідками цього захворювання є дисплазія, метаплазія і злаякісна трансформація клітин [4].

Генерація активних форм кисню, яка відбувається за таких умов [5], контролюється ферментами антиоксидантного захисту. Редокс-система глутатіону – одна з найбільш важливих складових антиоксидантної системи організму. Головним її компонентом є глутатіон (GSH), який відіграє роль клітинного протектора та проявляє поліфункціональну дію на рівні як антиоксидантного захисту, так і модуляції клітинної проліферації. GSH бере участь у реакціях детоксикації ксенобіотиків, виступає кофактором деяких ферментів та їх ізомерів, підтримує тіоловий редокс-потенціал у клітинах, зберігаючи сульфгідрильні групи цитозольних білків у відновленій формі [7].

© Л.М. Гайда, О.В. Дробінська, Л.І. Остапченко, 2008.

У ході експериментальних та клінічних досліджень встановлено, що GSH бере участь в механізмах регуляції проліферації та апоптозу [13]. Особливу зацікавленість викликає виявлення зв'язку антиапоптичного білка Vcl-2 та Вах з метаболізмом глутатіону [17]. Vcl-2 володіє унікальною здатністю блокувати апоптоз, який, у свою чергу, залучений до патогенезу хронічного атрофічного гастриту [5]. Припускають, що Vcl-2 є регулятором активності багатьох каналів і пор, зокрема мітохондріальних. Дослідження показали, що Vcl-2 здійснює свій контроль опосередковано через GSH [17]. Зокрема, Vcl-2 може блокувати переносники, відповідальні за транспорт GSH з мітохондрії, зберігаючи таким чином вміст антиоксидантів у цій органелі [13]. У свою чергу, проапоптичний білок Вах бере участь у формуванні мегапори і також, як Vcl-2, пов'язаний з обміном GSH. Щодо механізмів цих процесів на сьогодні є лише припущення [12].

Тому метою роботи було дослідити вміст відновленого глутатіону, рівень експресії антиапоптичного білка Vcl-2 та проапоптичного білка Вах в парієтальних клітинах шлунка за умов розвитку експериментального хронічного атрофічного гастриту.

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

пейської конвенції. У досліді застосовували білих лабораторних нелінійних щурів-самців з початковою масою 150-200 г. Тварин було поділено на 7 груп: 1-ша – контрольна, яку утримували на стандартному раціоні віварію; 2-7 – тварини з відповідними термінами розвитку атрофічного гастриту. Щурів, яких відсаджували на голод протягом 18 год, умертвляли шляхом дислокації шийних хребців на 1, 2, 3, 4, 5 і 6-му тижнях експериментальної моделі. Атрофічний гастрит викликали інтрагастральним введенням тваринам протягом 6 тижнів 2 % саліцилату натрію, при цьому замінюючи питну воду на 20 мМ дезоксихолат натрію [18]. Розвиток атрофічного гастриту підтверджували гістологічними дослідженнями. Відбирали зразки кардіальної, фундальної та пілоричної частин шлунка, які обробляли стандартними методами. Зразки забарвлювали гематоксилином та еозином [8].

Парієтальні клітини виділяли за описаною методикою, яка базується на ферментативному відщепленні клітин слизової оболонки з наступним ультрацентрифугуванням на сахарозо-фікольному градієнті [9]. Визначення вмісту GSH основане на модифікації методу Mokrasch і Teschke [15]. Метод полягає у реакції GSH з ортофталевим альдегідом (OPT), внаслідок якої утворюються високофлуоресцентні продукти, що активовані при 350 нм і мають чітко виражений пік при 420 нм. Вимірювання проводили на спектрофлуориметрі RF-510 (Shimadzu). Фракцію парієтальних клітин центрифугували на холоді (+4 °C) при 20 000 г 15 хв для отримання супернатанту, в якому визначали GSH. Концентрацію білка визначали за методом Бредфорд [11]. Визначення рівня експресії білків Vcl-2, Вах в лізаті парієтальних клітин проводили імуноблот-аналізом за рекомендаціями [16].

Статистичну обробку результатів дослідження проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Хронічний атрофічний гастрит в експерименті отримували за умов введення саліцилату натрію (інгібітора простагландинциклогенази). При цьому в щурів спостерігалось ураження слизової оболонки шлунка, яке посилювалось деоксихолатом натрію. Останній, розчиняючи захисний поверхневий шар слизу, стимулював рефлюкс жовчі з дванадцятипалої кишки [18].

У результаті гістологічних досліджень на початкових етапах розвитку CAG спостерігалось потовщення слизової оболонки на 10-15 %, що можна пояснити гіперпроліферацією

стовбурових клітин у відповідь на дію пошкоджувальних агентів. Відомо, що для атрофічного гастриту характерне прискорене оновлення клітин. Це призводить до того, що епітеліоцити шлунка не встигають повністю диференціюватися і на місці зрілих спеціалізованих клітин з'являються клітини молоді, які не здатні виробляти HCl та пепсиноген [2]. На початкових етапах розвитку патології високий рівень проліферації обумовлений не тільки її прямою стимуляцією, а й включенням механізмів негативного зворотного зв'язку. Це означає, що посилена загибель клітин призводить до їх новоутворення. З іншого боку, сама інтенсивна проліферація клітин активує апоптоз. CAG характеризується перш за все втратою (атрофією) залоз шлунка, зокрема парієтальних клітин, через переважання процесів клітинної загибелі над процесами диференціації, що характерно для хронічних патологічних станів [10]. Гістологічно це проявляється зменшенням товщини слизового шару шлунка та нерегулярним, більш вільним, розміщенням залоз (рис. 1). На 5-6 тижнях розвитку атрофічного гастриту товщина слизової оболонки зменшувалася порівняно з контролем. На пізніх етапах розвитку CAG спостерігалось часткове розгладження макроскопічних складок шлунка, залози розташовувались неупорядковано, їх кількість зменшилась порівняно з контролем ($p > 0,05$). Починаючи з 3-го тижня, мали місце стоншення підслизового шару, проростання сполучної тканини в основу залоз, а також лімфатична інфільтрація, що є стійкою ознакою хронічного атрофічного гастриту [5, 18].

Наявність у слизовій оболонці шлунка зрілих парієтальних клітин, які активно функціонують, – необхідна умова для нормального оновлення епітелію шлунка, оскільки вони є джерелом факторів росту. Зокрема, на мембранах тубулоезикул парієтальних клітин виявляють трансформуючий фактор росту β (TGF- β), який сприяє пригніченню кислої секреції шлунка і є сильним мітогеном, що стимулює загоєння виразкового дефекту [2]. Згідно з даними, отриманими в досліді на трансгенних мишах, парієтальні клітини відіграють вирішальну роль в механізмах диференціації клітин у ділянці перешийка залоз в головні клітини. Блокування активності або зменшення кількості парієтальних клітин призводить до порушення процесів клітинного оновлення в слизовій оболонці шлунка [1].

Важливу роль в патогенезі багатьох захворювань, в тому числі й атрофічного гастриту, відіграють активні форми кисню. Існує велика

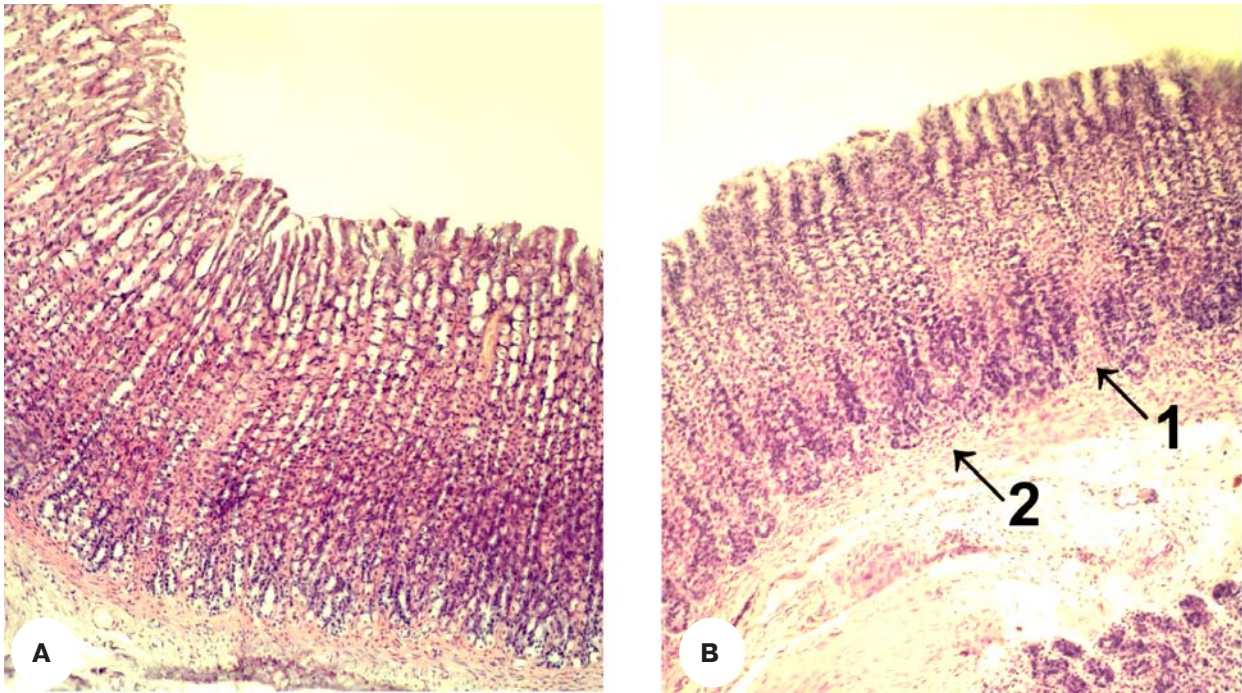


Рис. 1. Гістологічні зрізи нормального шлунка щура (А) та шлунка на 6-му тижні розвитку атрофічного гастриту (В). 1 – проростання сполучної тканини в основу залоз; 2 – потовщення сполучнотканинного шару (забарвлення гематоксиліном та еозином, x 100).

кількість даних, що вказують на зв'язок між генерацією АФК, мітохондріями та апоптозом [13, 14, 17]. Ключова роль в захисті клітин від оксидативного стресу належить трипептиду, редокс-регулятору клітинних функцій – глутатіону. Саме вихід GSH через спеціалізовані мегаканали мітохондріальної мембрани розглядають як ранню ознаку апоптозу [6]. Вихід GSH призводить до порушення окисно-відновного балансу і може стати причиною окисного стресу, який прямо не пов'язаний із продукцією АФК.

Для оцінки загального стану антиоксидантної системи парієтальних клітин шлунка за умов розвитку атрофічного гастриту в щурів було досліджено вміст GSH. На 7-й день розвитку CAG він збільшувався на 44 % порівняно з контролем (рис. 2). Такий ефект може бути зумовленим активізацією процесів антиоксидантного захисту, що сприяють компенсаторному гіперсинтезу глутатіону, активізацією усіх внутрішніх процесів, спрямованих на елімінацію впливу пошкоджувальних агентів, а також оксидативного стресу. 2-й і 3-й тижні розвитку CAG теж характеризуються підвищенням вмісту GSH на 27 та 35 % відповідно.

На 4-му тижні рівень GSH повертається до контрольних величин, а достовірне його зниження на 28 % спостерігається на 5-му тижні розвитку експериментального атрофічного гастриту. Така тенденція, можливо, зумовле-

на підвищеним використанням глутатіону глутатіонзалежними ферментами (глутатіонпероксидазою, трансферазою), а також діяльністю глутаредоксину [6]. При пояснюванні встановлених ефектів не можна також виключати прямого окиснення чи відновлення глутатіоном SH-груп білків [16]. Так, на відміну від початкових етапів розвитку CAG, механізми поповнення пулу відновленого GSH порушуються, і вміст його у клітині зменшується. Одним з імовірних причин такого виснаження є зниження активності глутатіонредуктази, яка відновлює GSSG до GSH. Даний фермент використовує NADPH як відновний еквівалент, а вміст цієї сполуки, як і інших макроергів, значно зменшується за умов оксидативного стресу [7].

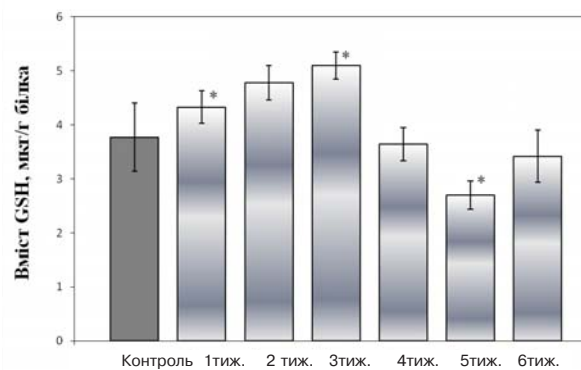


Рис. 2. Вміст відновленого глутатіону (GSH) у парієтальних клітинах шлунка за умов розвитку атрофічного гастриту в щурів.

На 6-му тижні вміст глутатіону повертається до контрольних значень. Можливою причиною цього є процес переходу до хронічної фази патології та відносна стабілізація внутрішньоклітинних процесів. Але таке підвищення рівня GSH може також свідчити і про початок дедиференціації клітин слизової оболонки шлунка та формування зон кишкової (або пілоричної) метаплазії. Такі видозмінені клітини мають вищу стійкість до апоптозу [13].

Потрібно зазначити, що зменшення кількості GSH має місце в пацієнтів з хронічним атрофічним гастритом [7]. Швидкість відновлення пулу GSH у них є вищою за норму, але в клітинах переважає окиснений глутатіон. Існують дані щодо зменшення кількості відновленого глутатіону в слизовій оболонці пацієнтів з раком шлунка [10]. Це дозволяє припустити, що рівень GSH тісно корелює зі ступенем ураження слизової оболонки шлунка та бере участь у патогенезі ХАГ.

Хронічний атрофічний гастрит – це перш за все порушення балансу між клітинною проліферацією та апоптозом. Як агент, що активує апоптотичний сигнал у даній експеримен-

тальній моделі, використовували деоксихолат натрію. Відомо, що жовчні кислоти, зокрема деоксихолієва, можуть викликати апоптоз у клітинах шлункового епітелію. Вважається, що даний агент діє через активацію протеїнкінази С, яка через інші сигнальні молекули, зокрема мітохондріальні комплекси Вах, сприяє активації каспаз 3, 6, 9 [5, 7].

Нами встановлено, що вміст Вах, проапоптотичного білка, який відповідає за утворення мітохондріальної пори, був нижчим за контрольний рівень протягом перших двох тижнів розвитку CAG (рис. 3А). Можливо, такий ефект зумовлений гострою фазою захворювання, коли клітини гинуть від стресових уражень, в основному шляхом некрозу, а не апоптозу. Вміст Bcl-2, білка, що є антагоністом Вах, на 1-му тижні дещо підвищується (рис. 3Б), що можна пояснити загальною активізацією синтетичних процесів клітин у відповідь на стрес, гіперпроліферацією клітин слизової оболонки шлунка, що підтверджується гістологічними даними. На 2-му тижні, ймовірно, через виснаження клітинних енергетичних пулів, вміст Bcl-2 помітно знижується.

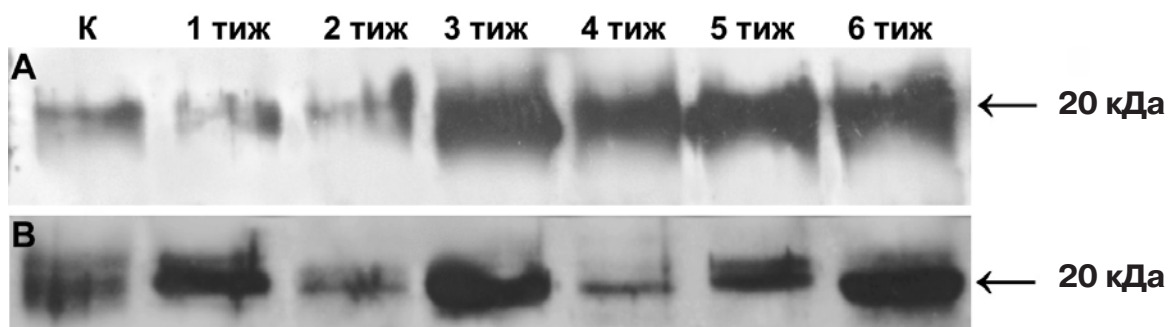


Рис. 3. Вміст білків Вах (А) і Bcl-2 (В) у парієтальних клітинах за умов розвитку атрофічного гастриту в щурів.

Зменшення слизового шару шлунка, починаючи з 3-го тижня розвитку CAG, супроводжується зростанням рівня проапоптотичного білка Вах у парієтальних клітинах до 6-го тижня включно, при цьому він залишається стабільно високим. Отримані результати можуть свідчити про перехід гострого запального процесу в хронічний і відносну стабілізацію процесів проліферації та апоптозу, що, ймовірно, і призводить до появи атрофії. Рівень Bcl-2 на 3-му тижні також істотно підвищується, але потім зменшується і протягом 4-го та 5-го тижнів залишається низьким.

Сигнал до апоптотичної загибелі клітини зворотний, його регуляція здійснюється багатьма регуляторними білками у багатьох компартментах клітини [14]. Одним з основних регуляторів клітинної смерті є мітохондрія, з

якою асоційовані як про-, так і антиапоптотичні фактори [11]. Одним з найпотужніших мітохондріальних факторів, що стимулюють апоптоз, є білок Вах. Він відповідає за збільшення проникності зовнішньої мембрани мітохондрій. Ефект Вах блокується антиапоптотичним білком Bcl-2, що зупиняє утворення мітохондріальної пори. Співвідношення вмісту Вах/Bcl-2 (так званий Вах/Bcl-2 реостат) і буде визначати подальшу долю клітини. Отримані нами дані демонструють переважання вмісту Вах над Bcl-2 на 3-6-му тижнях розвитку CAG. Тому можна припустити, що зміни вмісту апоптотичних білків залучені до патогенезу хронічного атрофічного гастриту.

На 6-му тижні розвитку CAG кількість Bcl-2 підвищується. Є дані, що вміст Bcl-2 значно зростає у пацієнтів з раком шлунка [11], тому

рівень Bcl-2 використовують як один з маркерів при діагностуванні пілоричної метаплазії [17]. Рівень Bcl-2 є чутливим до будь-яких змін у клітині, які можуть призвести до її дедиференціації. Таким чином, згідно з отриманими нами результатами можна припустити, що на 6-му тижні розвитку експериментального атрофічного гастриту виникає метаплазія клітин.

ВИСНОВКИ. Встановлено підвищення вмісту GSH і антиапоптотичного білка Bcl-2 на 1-му, а та-

кож на 3-6-му тижнях розвитку експериментального CAG. Починаючи з 3-го і закінчуючи 6-м тижнем розвитку патології, спостерігалось стабільне зростання рівня проапоптотичного білка Bax, що може свідчити про перехід патологічного процесу в хронічну стадію. Отримані нами результати підтверджують наявність взаємозв'язку між вмістом GSH та рівнем апоптотичних білків, їх роль у процесах програмованої клітинної загибелі, які залучені до механізмів розвитку хронічного атрофічного гастриту.

ЛІТЕРАТУРА

1. Аруин А.И., Григорьев П.Я., Исаков В.А., Яковенко Е.П. Хронический гастрит. –Амстердам, 1993.
2. Аруин Л.И. Апоптоз при патологических процессах в органах пищеварения // Клини. мед. – 2000. – **78**, № 1. – С. 5-10.
3. Бабак О.Я. Атрофический гастрит: прогнозы и перспективы // Здоров'я України. – 2006. – № 21/1 (додатковий). – С. 26-27.
4. Бабак О.Я., Протас Ю.В. Хронический атрофический гастрит – точка отсчета начала канцерогенеза // Суч. гастроентерол. – 2005. – № 5 (25). – С. 9-14.
5. Букин Ю.В., Драудин-Криленко В.А. Молекулярно-биологические механизмы гастроканцерогенеза и подходы к профилактике рака желудка // Усп. биол. химии. – 2000. – **40**. – С. 329-356.
6. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Глутатион митохондрий // Биохимия. – 2007. – **72**, № 7. – С. 856-859.
7. Мазо В.К. Глутатион как компонент антиоксидантной системы желудочно-кишечного тракта // Рос. журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1998. – № 1. – С. 47-53.
8. Самсонов В.А. Новые методы количественной оценки состояния железистого аппарата слизистой оболочки желудка // Архив патологии. – 1973. – **35**, вып. 8. – С. 79-82.
9. Таиров М.М., Берсимбаев Р.И., Аргутинская С.В., Салгани Р.И. Клеточная локализация аденилатциклаз, стимулируемых гистамином и простагландином E₂, в слизистой оболочке желудка крыс и их роль в регуляции желудочной секреции // Биохимия. – 1983. – **48**, № 6. – С. 1035-1041.
10. Фадеев Г.Д., Просолонко К.О., Соломенцева Т.А. Атрофический гастрит: механизмы возникновения, окремі питання діагностики та оборотності розвитку // Сучасна гастроентерологія. – 2007. – № 2 (34). – С. 7-13.
11. Шоно Н.И., Баскаева Е.М. Метод определения белка по Бредфорд: область применения, преимущества, недостатки // Лаб. дело. – 1980. – № 4. – С. 4-7.
12. Adams J.M., Cory S. The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival // Science. – 1998. – **281**. – P.1322-1326.
13. Coppola S., Ghibelli L. GSH extrusion and the mitochondrial pathway of apoptotic signaling // Biochemical Society Transactions. – 2000. – **28** (part 2). – P. 56-61.
14. Gross A., McDonnell J.M., Korsmeyer S.J. BCL-2 family members and the mitochondria in apoptosis // Genes & Development. – 2008. – July 7. – P. 1899-1911.
15. Mokrasch L.C., Teschke E.J. Glutathione content of cultured cells and rodent brain regions: a specific fluorometric assay // Analytical Biochemistry. – 1984. – № 140. – P. 506-509.
16. Taliercio C.P., Seward J.B., Driscoll D.J. et al. Idiopathic dilated cardiomyopathy in the young: Clinical profile and natural history // JACC. – 1985. – **6**. – P. 1126.
17. Voehringer D.W., Meyn R.E. Redox aspects of bcl-2 function // Antioxidants & Redox Signaling. – 2000. – **2**, № 3. – P. 537-550.
18. Wang L., Chen S., Chen Z. et al. Morphological and pathologic changes of experimental chronic atrophic gastritis (CAG) and the regulating mechanism of protein expression in rats // J. Zhejiang Univ. Science. – 2006. – **7** (8). – P. 634-640.

СОДЕРЖАНИЕ ВОССТАНОВЛЕННОГО ГЛУТАТИОНА И АПОПТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ BCL-2 И BAX В ПАРИЕТАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ПРИ РАЗВИТИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АТРОФИЧЕСКОГО ГАСТРИТА

Л.Н. Гайда, Л.В. Дробинская, Л.И. Остапченко
КИЕВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ТАРАСА ШЕВЧЕНКО

Резюме

Исследовано содержание восстановленного глутатиона (GSH), а также уровень апоптогенных белков Bcl-2 и Bax в париетальных клетках желудка крыс в условиях развития экспериментального хронического атрофического гастрита (CAG). Возрастание содержания GSH и снижение уровня проапоптотического белка Bax на ранних этапах развития CAG могут свидетельствовать о гиперпролиферации стволовых клеток и активизации процессов антиоксидантной защиты. Поздние стадии развития патологии характеризуются повышением уровня Bax и снижением GSH, что может быть причиной уменьшения количества специализированных желез, а увеличение содержания GSH и антиапоптотического Bcl-2 на 6-й неделе может служить маркером пилорической метаплазии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: атрофический гастрит, париетальные клетки, глутатион, Bcl-2, Bax, апоптоз.

REDUCED GLUTATHIONE AND APOPTOTIC PROTEINS (BCL-2 AND BAX) CONTENT IN PARIETAL CELLS UNDER EXPERIMENTAL ATROPHIC GASTRITIS DEVELOPMENT

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

Summary

Reduced glutathione (GSH) and apoptotic proteins (BCL-2 and BAX) content in rat stomach parietal cells under experimental chronic atrophic gastritis (CAG) development was investigated. Increasing of GSH content and proapoptotic of Bax –protein decreasing on primary stages of the pathology may prove the hyperproliferation of stem cells and antioxidant protection process activation. Late stages of CAG are characterized by increase of Bax and decrease of GSH, that may be a cause of specific glands degradation. Rise of GSH and Bcl-2 content on the 6-th week of experiment may be a marker of pyloric metaplasia.

KEY WORDS: atrophic gastritis, parietal cells, glutathione, Bcl-2, Bax, apoptosis.

Отримано 22.07.2008 р.

Адреса для листування: Л.М. Гайда, вул. Наб-Корчуватська, 96, кв 59, Київ, 03045, Україна.

ВПЛИВ ЕНТЕРОСОРБЕНТІВ СИЛІКСУ ТА ЕНТЕРОСГЕЛЮ НА СТАН ОКСИДУ АЗОТУ В МЕМБРАННИХ СТРУКТУРАХ КЛІТИН ПЕЧІНКИ ЗА УМОВ ОТРУЄННЯ 1,2-ДИХЛОРЕТАНОМ

О.В. Задоріна, Ю.І. Губський

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

У результаті проведених експериментів встановлено, що отруєння щурів 1,2-дихлоретаном спричиняє підвищення активності індукцибельної ізоформи NO-синтази та пулу нітрит-аніона і нітрат-аніона в мітохондріях та постмітохондріальній фракції клітин печінки.

Введення отруєним 1,2-дихлоретаном щурам з метою корекції ентеросорбентів силіксу та ентеросгелю призводило до нормалізації активності індукцибельної NO-синтази, пулу нітрит-аніона та нітрат-аніона в мітохондріях та постмітохондріальній фракції клітин печінки.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: печінка, мітохондрії, постмітохондріальна фракція, оксид азоту, силікс, ентеросгель.

ВСТУП. Останнім часом в літературі велику увагу приділяють оксиду азоту (NO), який тепер відносять до нового класу сигнальних молекул міжклітинної взаємодії [1, 9, 11, 12, 15, 18]. Відомо, що NO бере участь у багатьох фізіологічних та патологічних процесах [1, 9, 11, 12]. В організмі оксид азоту синтезується з амінокислоти L-аргініну трьома основними ізоформами синтази оксиду азоту (NOS): двома конститутивними – нейрональною (nNOS) і ендотеліальною (eNOS) та однією індукцибельною (iNOS). Конститутивні ізоформи є Ca^{2+} /Кальмодулін-залежними і синтезують NO у порівняно невеликій кількості протягом кількох секунд після їх активації при підвищеній концентрації іонів кальцію в клітині [1]. На відміну від конститутивної (cNOS), яка залежить від концентрації іонів Ca^{2+} і виконує регуляторні функції, iNOS не залежить від іонів Ca^{2+} і здійснює захист організму від чужорідних клітин [1, 9, 12]. Вважають, що вона не знаходиться постійно в клітині, а синтезується при патологічних станах після стимуляції цитокинами чи ліпополісахаридами, продукуючи NO протягом тривалого часу у великій кількості [1].

Інтенсивне використання природних ресурсів призвело до прогресуючого забруднення навколишнього середовища, що в цілому ряді регіонів досягає масштабу екологічних катастроф [4-6]. Забруднення навколишнього середовища внаслідок науково-технічної революції вимагає вивчення механізмів його впливу на організм людини і тварин та потре-

бує розробки нових способів захисту від токсичної дії ксенобіотиків.

Печінка відіграє центральну роль у детоксикації ендогенних токсичних речовин та ксенобіотиків і є одним з основних органів, що піддаються впливу NO при різних патологічних станах [9, 15]. Відомо, що всі клітини печінки здатні генерувати оксид азоту, який бере участь у більшості метаболічних процесів, що відбуваються в печінці [1]. Зокрема, NO проявляє комплексну і різноманітну дію в печінці: може бути як інгібітором, так і агоністом у механізмах передачі сигналів у гепатоцитах, мати про- й антиоксидантний ефекти, інгібувати й активувати апоптоз [9]. Припускають, що NO бере участь у регуляції міжклітинної взаємодії в печінці, неспецифічній імунній відповіді, а також у процесах утворення та секреції жовчі [1]. За фізіологічних умов NO проявляє цитопротекторну дію, забезпечує розслаблення судин у печінці, запобігає розвитку тромбозу, виступає в ролі антиоксиданта, проте при надлишковому його утворенні має цитотоксичну дію [1].

Метою нашого дослідження було вивчення стану NO-системи в мітохондріях та мікросомальній фракції клітин печінки за умов отруєння 1,2-дихлоретаном та корекції ентеросорбентами силіксом та ентеросгелем.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на щурах лінії Вістар масою 150-200 г. Хімічне ураження клітин викликали шляхом введення тваринам 1,2-дихлоретану одноразово внут-

рішньошлунково у вигляді 25 % розчину на рослинній олії в дозі 3 мл/кг маси. З метою корекції отруєним 1,2-дихлоретаном щурам протягом 7 днів вводили ентеросорбенти ентеросгель і силікс внутрішньошлунково в дозах 200 і 900 мг/кг відповідно. Після припинення введення здійснювали евтаназію тварин під легким ефірним наркозом шляхом декапітації. Виділення мітохондрій та постмітохондріальної фракції клітин печінки проводили методом диференційного центрифугування [7]. Вміст нітрит-аніона (NO_2^-) визначали в безбілкових і надосадових аліквотах проб після визначення активності NO-синтази у колориметричній реакції за допомогою реактиву Гріса методом Гріна [16]. Вміст нітрат-аніона (NO_3^-) визначали спектрофотометричним методом [17] у модифікації з бруцином. Активність сумарної NOS визначали за вмістом новоутвореного нітрит-аніона колориметричним методом [14]. Для визначення iNOS в інкубаційну суміш замість CaCl_2 додавали 0,1 ммоль ЕДТА. Розрахунок активності cNOS проводили шляхом віднімання від показника активності сумарної NOS показника активності iNOS.

Статистичну обробку одержаних даних проводили варіаційно-статистичним методом з використанням t-коефіцієнта Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати експериментальних досліджень свідчать про те, що активність індукцибельної NO-синтази і пул NO_2^- та NO_3^- в мітохондріях і постмітохондріальній фракції клітин печінки за умов отруєння 1,2-дихлоретаном достовірно зросли (табл. 1-2).

Активність індукцибельної NO-синтази в мітохондріях та постмітохондріальній фракції клітин печінки щурів після введення 1,2-дихлоретану вірогідно підвищувалась у 4,1 та 4,6 рази відповідно порівняно з контрольною групою. Відомо, що всі клітини печінки (гепатоцити, клітини Купфера, ендотеліальні клітини судин, зірчасті Іто-клітини) містять індукцибельну NO-синтазу, разом із тим, конститутивна eNOS знаходиться тільки в синусоїдальних ендотеліальних клітинах [9].

Як свідчать результати нашого дослідження, активність конститутивної NO-синтази в мітохондріях та постмітохондріальній фракції клітин печінки за умов отруєння 1,2-дихлоретаном достовірно не змінювалась (див. табл. 1-2).

Результати досліджень інших вчених вказують на те, що за умов введення ацетату свинцю відбувається незначне підвищення активності cNOS та iNOS в гомогенаті клітин печінки щурів, активність cNOS через місяць після вве-

Таблиця 1 – Вплив ентеросорбентів силіксу та ентеросгелю на стан оксиду азоту в мітохондріях клітин печінки щурів за умов ураження 1,2-дихлоретаном ($M \pm m$, $n=12$)

Групи досліджуваних	Активність cNOS, пмоль/хв·мг білка	Активність iNOS, пмоль/хв·мг білка	NO_2^- , пмоль/мг білка	NO_3^- , нмоль/мг білка
1. Контрольна	10,8±0,9	9,7±0,7	198,2±23,1	136,7±25,1
2.+1,2-дихлоретан	12,4±0,7	39,7±0,8*	284,0±21,1*	421,3±41,3*
3. 1,2-дихлоретан +силікс	10,3±0,6	12,4±0,6**	201,2±17,3**	148,6±34,7**
4. 1,2-дихлоретан +ентеросгель	11,5±0,8	14,8±0,9**	174,5 ±31,3**	125,4 ±43,4*

Примітка. Тут і в наступній таблиці: * – вірогідна різниця ($p < 0,05$) порівняно з контролем; ** – вірогідна різниця ($p < 0,05$) порівняно з групою отруєних 1,2-дихлоретаном щурів.

дення знижується до контролю, а активність iNOS більш суттєво зростає (у 10 разів) [1].

Зростання індукцибельної NO-синтази може бути пов'язано зі стимуляцією синтезу iNOS або посттрансляційною активацією даної ізоформи ферменту при інтоксикації 1,2-дихлоретаном.

На сьогодні найкраще вивченою є регуляція експресії iNOS в гепатоцитах [9]. Експресія iNOS в гепатоцитах стимулюється рядом цитокінів.

Як видно з результатів наших досліджень (див. табл. 1-2), пул нітрит-аніона в мітохондріях та постмітохондріальній фракції клітин печінки щурів за отруєння тварин 1,2-дихлоретаном підвищувався в 1,4 та 1,6 рази відповідно. У мітохондріях та постмітохондріальній фракції клітин печінки за цих умов спостеріга-

ли збільшення пулу нітрат-аніона в 2,9 рази, що, поряд із зростанням активності iNOS та пулу нітрит-аніона, може свідчити про підвищене продукування NO в печінці дослідних тварин за умов отруєння.

Підвищене продукування NO спостерігається при ряді патологічних станів і дії токсичних агентів [9]. Посилення його продукування при гострому токсичному ураженні печінки можна розглядати як адаптивну відповідь на гостре запалення і ранній сепсис, оскільки NO сприяє підвищенню тканинної перфузії, попереджує агрегацію тромбоцитів, нейтралізує реактивні радикальні форми кисню [9].

Відомо, що при запаленні відбувається надмірне накопичення NO в результаті акти

Таблиця 2 – Вплив ентеросорбентів силіксу та ентеросгелю на стан оксиду азоту в постмітохондріальній фракції клітин печінки щурів за умов ураження 1,2-дихлоретаном ($M \pm m$, $n=12$)

Групи досліджуваних	Активність cNOS, пмоль/хв·мг білка	Активність iNOS, пмоль/хв·мг білка	NO ₂ ⁻ , пмоль/мг білка	NO ₃ ⁻ , нмоль/мг білка
1. Контрольна	12,6±0,6	10,2±0,6	213,2±23,2	169,2±35,1
2. +1,2-дихлоретан	14,3±0,7	47,3±0,5*	348,9±46,1*	498,5±25,3*
3. 1,2-дихлоретан +силікс	12,4±0,25	9,9±0,6**	230,3±44,5*	151,2±42,6**
4. 1,2-дихлоретан +ентеросгель	11,8±0,35	10,9±0,7**	197,3 ±36,3	138,2 ±35,1**

вації індукцибельної NO-синтази [11]. Це, у свою чергу, спричиняє збільшення продуктів метаболізму NO – сильних оксидантів – пероксинітритного аніона (ONOO⁻), пероксинітритної кислоти (ONOOH), які призводять до утворення гідроксильного радикала (OH[•]). Накопичення токсичних вільних радикалів зумовлює активацію пероксидного окиснення ліпідів, що відбувається за умов отруєння 1,2-дихлоретаном, як було показано нами раніше [8].

Результати експериментальних та клінічних досліджень свідчать про істотну роль змін у системі оксиду азоту в патогенезі цирозу печінки [1]. Порушення при цирозі можуть бути спричинені гіперпродукцією NO внаслідок активації індукцибельної ізоформи NO-синтази ендо- та екзотоксинами. Підвищене продукування NO в печінці спостерігається при ендотоксемії, ураженні печінки етанолом, тетрахлорметаном, кадмієм [9].

Розробка ефективних способів видалення з організму ксенобіотиків є одним із перспективних шляхів розв'язання проблеми терапії токсичного ураження організму людини. Є повідомлення про використання сорбційного методу для лікування печінкової недостатності [2, 3, 10, 13].

Як свідчать результати наших досліджень (див. табл. 1, 2), введення ентеросорбентів си-

ліксу та ентеросгелю щурам на фоні отруєння 1,2-дихлоретаном призводило до нормалізації активності індукцибельної NO-синтази, пулу нітрит-аніона та нітрат-аніона в мітохондріях і постмітохондріальній фракції клітин печінки. Конститутивна NO-синтаза за умов введення ентеросорбентів залишалась на рівні контролю. У дослідженнях інших вчених також було показано, що при використанні кремнієорганічного ентеросорбенту полісорбу у відновний період холестатичного ураження відбуваються покращення функціонального стану печінки, пригнічення процесів пероксидації ліпідів [13].

Проведені експериментальні дослідження свідчать про ефективність застосування ентеросорбції при токсичному ураженні клітин печінки.

ВИСНОВКИ. 1. Отруєння щурів 1,2-дихлоретаном призводить до порушення в системі оксиду азоту. При цьому відбувається зростання активності індукцибельної ізоформи NO-синтази та пулу нітрит-аніона і нітрат-аніона в мітохондріях та постмітохондріальній фракції клітин печінки.

2. Введення отруєним щурам з метою корекції ентеросорбентів силіксу та ентеросгелю призводить до нормалізації активності індукцибельної NO-синтази, пулу нітрит-аніона та нітрат-аніона в мітохондріях і постмітохондріальній фракції клітин печінки.

ЛІТЕРАТУРА

1. Апихтіна О.Л., Коцюрuba А.В., Андрусишина І.М. та ін. Продукція оксиду азоту в печінці за умов впливу ацетату свинцю в експерименті // *Современные проблемы токсикологии.* – 2007. – № 2. – С. 22-26.
2. Білик Л.С. Ефективність ентеросорбції полісорбом при тяжкій формі хімічного ураження печінки // *Ліки.* – 1995. – № 1. – С.78-79.
3. Гонский Я.И., Корда М.М., Клищ И.Н. Влияние ентеросорбции на процессы перекисного окисления липидов и антиоксидантную систему при экспериментальном токсическом гепатите // *Экспер. и клин. мед.* – 1991. – № 2. – С. 184-188.
4. Губский Ю.И. Коррекция химического поражения печени. – Київ: Здоров'я, 1989. – 168 с.

5. Губский Ю.И. Токсическая гибель клетки: свободно-радикальное повреждение и апоптоз // *Лікування та діагностика.* – 2001. – № 4. – С. 8-15.
6. Губский Ю.И., Долго-Сабуров В.Б., Храпак В.В. Химические катастрофы и экология. – Київ: Здоров'я, 1993. – 220 с.
7. Ещенко Н.Д. Выделение митохондриальной и цитоплазматической фракций тканей для анализа активности ферментов // *Методы биохим. исследований / липидный и энергетический обмен /* Под ред. М.И. Прохоровой. – М.: Изд-во ЛГУ, 1982. – 272 с.
8. Задоріна О.В., Яницька Л.В., Осинська Л.Ф., Стеченко О.В. Стан ферментів антиоксидантної си-

стеми та окиснювальна модифікація білків за умов токсичного ураження // Матеріали ІХ Укр. біохім. з'їзду, 24-27 жовтня 2006 р., Харків.-Т.2. – С.56-57.

9. Корда М.М., Ярошенко Т.Я. Роль оксиду азоту в патогенезі ураження печінки ксенобіотиками // Медична хімія. – 2005. – 7, № 3. – С. 74-80.

10. Корильчук Т.Б. Корекція печінково-ниркових порушень, викликаних токсичними ураженнями хімічної етіології // Медична хімія. – 2006. – 8, № 4. – С. 70-73.

11. Лев Н.С. Патогенетическая роль оксида азота при бронхиальной астме // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2000. – № 4. – С. 48-51.

12. Марков Х.М. О биорегуляторной системе L-аргинин-окись азота // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1996. – № 1. – С. 34-38.

13. Посохова К.А., Олещук О.М., Давидович О.В. та ін. Вплив ентеросорбентів різного хімічного

складу на функціональний стан печінки в нормі й при холестази // Медична хімія. – 1999. – 1, № 1. – С. 76-81.

14. Bredt D.S., Snyder S.H. Isolation of nitric oxide synthetase, a calmodulin-requiring enzyme // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1990. – 87, № 2. –P. 682-685.

15. Chen T., Zamora R., Zuckerbraun B. Role of nitric oxide in liver injury // Curr. Mol. Med. – 2003. – № 3. – P. 519-526.

16. Green L.C., David A.W., Glosowski J. et al. Analysis of nitrate, nitrite and [15N] nitrate in biological fluids // Anal. Biochemistry. – 1982. – 126, № 1. – P. 131-138.

17. Isukahara H., Miura M., Isusida S. et al. Effect of NOS inhibitors on bone metabolism in growing rats // Amer. J. Physiol. – 1996. – 271, № 1. –P. 840-845.

18. Knowles R. G., Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals // Biochem. J. – 1994. – 298. – P. 249-258.

ВЛИЯНИЕ ЭНТЕРОСОРБЕНТОВ СИЛИКСА И ЭНТЕРОСГЕЛЯ НА СОСТОЯНИЕ ОКСИДА АЗОТА В МЕМБРАННЫХ СТРУКТУРАХ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ ОТРАВЛЕНИЯ 1,2-ДИХЛОРЕТАНОМ

О.В. Задорина, Ю.И. Губский

НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ А.А. БОГОМОЛЬЦА

Резюме

В результате проведенных экспериментов установлено, что отравление крыс 1,2-дихлорэтаном является причиной повышения активности индуцибельной изоформы NO-синтазы и пула нитрит-аниона и нитрат-аниона в митохондриях и постмитохондриальной фракции клеток печени.

Введение отравленным 1,2-дихлорэтаном крысам с целью коррекции энтеросорбентов силикса и энтеросгеля приводило к нормализации активности индуцибельной NO-синтазы, пула нитрит-аниона и нитрат-аниона в митохондриях и постмитохондриальной фракции клеток печени.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: печень, митохондрии, постмитохондриальная фракция, оксид азота, силикс, энтеросгель.

INFLUENCE OF ENTEROSORBENTS SILIX AND ENTEROSGEL ON STATUS OF NITRIC OXIDE IN MEMBRANE STRUCTURES OF LIVER CELLS UNDER POISONING WITH 1,2 DICHLORETHANE

O.V. Zadorina, Yu.I. Hubsy

NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLETS

Summary

In the result of experiments it has been shown that poisoning of rats with 1,2-dichlorethane causes the increasing of activity of inducible isoform of NO-synthase and pool of nitrite-anion and nitrate-anion in mitochondria and postmitochondrial fraction of liver cells.

Injection of enterosorbents silix and enterosgel to poisoned with 1,2 dichlorethane rats for correction results in normalization of activity of inducible NO-synthase, pool of nitrite-anion and nitrate-anion in mitochondria and postmitochondrial fraction of liver cells.

KEY WORDS: liver, mitochondria, postmitochondrial fraction, nitric oxide, silix, enterosgel.

Отримано 5.05.2008 р.

Адреса для листування: О.В. Задорина, вул. Правди, 6^а, кв. 136, Київ, 04108, Україна.

Медична хімія – т. 10, № 4, 2008

ПРОТИЗАПАЛЬНИЙ ФІТОГЕЛЬ НА ОСНОВІ ВОДОРОЗЧИННОГО КОМПЛЕКСУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН ПЛОДІВ ПЕРЦЮ СТРУЧКОВОГО

Л.В. Бензель, Л.В. Дубровна, Р.М. Федін, І.Л. Бензель
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

У статті наведено склад і технологію виготовлення гелю на основі діючих речовин плодів перцю стручкового (*Capsicum annuum*). Клінічні дослідження підтвердили його ефективність при лікуванні запальних процесів м'яких тканин щелепно-лицевої ділянки.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: фітосубстанція, фітогель, плоди перцю стручкового, біологічно активні речовини, протизапальна дія, прополіс.

ВСТУП. Місцеве лікування запальних процесів м'яких тканин щелепно-лицевої ділянки (ЩЛД) залишається актуальною проблемою і сьогодні, незважаючи на широкий вибір протизапальних засобів для місцевого застосування, оскільки більшість з них недостатньо ефективні та безпечні, часто викликають побічні реакції місцевого та загального характеру. Тому є необхідність у створенні й вивченні нових ефективних засобів природного походження, які, на відміну від синтетичних, характеризуються високою біодоступністю, широким спектром фармакологічних ефектів, відсутністю протипоказань і побічних реакцій [5, 6].

Нами розроблено спосіб одержання водорозчинної ліофілізованої фітосубстанції біологічно активних речовин (БАР) плодів перцю стручкового, яка має виражену протизапальну та знеболювальну дію завдяки вмісту алкалоїду капсаїцину, вітамінів, стероїдних сапонінів, глюкоалкалоїду соланіну, флавоноїдів, макро- і мікроелементів [7]. Вказана фітосубстанція не є лікарською формою і тому має нижчі біофармацевтичні та лікувальні властивості й не стабільна в процесі зберігання.

Серед засобів для місцевої терапії запальних процесів м'яких тканин ЩЛД одне з важливих місць займають м'які лікарські форми, зокрема гідрофільні гелі. Введення діючих речовин через слизову оболонку, як і трансдермальний шлях, вважають одним з найбільш безпечних, оскільки вся доза ліку-

вального препарату знаходиться ззовні, а також її легко можна змінити. Аплікаційне застосування лікарського засобу дозволяє забезпечити високу концентрацію діючих речовин безпосередньо у вогнищі запалення, пролонгувати час дії БАР, тому цей спосіб може успішно конкурувати з іншими способами введення ліків [4].

Метою нашої роботи була розробка фітозасобу з протизапальною дією у формі гелю, який, завдяки вдосконаленню складу і кількісного співвідношення компонентів, забезпечить максимальний терапевтичний ефект без побічної дії, значно покращить фізико-хімічні властивості та стабільність у процесі зберігання.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У процесі розробки складу і технології виготовлення гелю важливим є вибір оптимальної основи-носія, яка повинна відповідати вимогам сумісності з усіма інгредієнтами, індіферентності, фізико-хімічної, хімічної та мікробіологічної стабільності протягом усього терміну придатності [1].

З метою вибору гелевої основи вивчали різні гелеутворювачі, зокрема такі, як карбопол, похідні целюлози (метилцелюлоза, натрійкарбоксилметилцелюлоза), аеросил (колоїдний двоокис кремнію), а також допоміжні речовини – пропіленгліколь, макрогол-400, гліцерин, спирт ізопропіловий.

Для досліджуваних зразків гелевих основ і гелів визначали значення рН середовища, однорідність, стабільність у процесі зберігання при температурі 20-25 °С, проводили ор-

ганолептичні спостереження та аналітичний контроль. Ґрунтовне вивчення фізико-хімічних властивостей, а також біофармацевтичні дослідження дозволили опрацювати фітогель, який включає ліофілізовану фітосубстанцію плодів перцю стручкового (*Capsicum annuum*) (4 %), метилцелюлозу (4 %), пропіленгліколь (20 %) та воду очищену (до 100 %). Необхідну гелеподібну консистенцію засобу надає відповідна кількість метилцелюлози та води очищеної. Однорідність і стабільність лікарської форми забезпечуються наявністю пропіленгліколю у складі гелю. Застосування фітосубстанції з плодів перцю стручкового у вигляді гелю дозволяє забезпечити високу концентрацію діючих речовини безпосередньо у вогнищі запалення та пролонгувати час дії БАР.

Технологія виготовлення фітогелю така: розраховану кількість метилцелюлози заливають водою очищеною кімнатної температури на 3-4 год для набрякання та повного її розчинення. Ліофілізовану фітосубстанцію плодів перцю стручкового розтирають у ступці з розчином метилцелюлози і пропіленгліколем до отримання однорідного напівпрозорого гелю коричневого кольору з характерним запахом і пекучим смаком.

Розроблені склад і технологія виготовлення гелю з використанням ліофілізованої фітосубстанції плодів перцю стручкового за біофармацевтичними показниками відповідають вимогам ДФ України [2].

Порівняльні клінічні дослідження протизапальної дії фітогелю і 3 % мазі прополісу проводили у 115 хворих (68 чоловіків і 47 жінок) із запальними процесами м'яких тканин ШЛД одонтогенного і неодонтогенного походження (абсцесом, флегмоною, гнійним лімфаденітом, фурункулумом, карбункулумом), без супутніх захворювань. Вік пацієнтів становив 18-59 років. Усі хворі перебували на стаціонарному лікуванні в клінічній базі кафедри хірургічної та ортопедичної стоматології, що знаходиться в Львівському обласному госпіталі інвалідів війни і репресованих імені Юрія Липи.

У всіх пацієнтів невід'ємним компонентом комплексного лікування було хірургічне втручання, дренажування патологічного вогнища, при одонтогенних запальних процесах – видалення "причинного" зуба. Операції проводили в умовах місцевого ін'єкційного знеболювання (Ультракаїн® Д-С форте Авентіс Фарма Дойчланд ГмБХ, Німеччина 4 % 2,0-8,0 мл) з премедикацією (Sol. Atropini sulfatis 0,1 % – 1,0 ml; Sol. Analgini 50 % – 2,0 ml). Усі хворі отримували антибіотики в терапевтичних до-

зах (Далацин Ц, Пфайзер Ейч. Сі. Пі. Корпорнйшн, 300 мг 4 рази на добу) впродовж не менше шести днів, гіпосенсибілізувальні препарати (Sol. Calcii chloridi 10 % – 10,0 ml).

За способом місцевого лікування гнійної рани усі пацієнти були поділені на 3 групи:

1-ша група – контрольна (43 хворих) – проводили традиційне місцеве лікування, що включало розкриття гнійного вогнища, ревізії рани та промивання 0,05 % розчином фурациліну для повної евакуації з рани гнійного вмісту, дренажування стрічковими або трубчастими дренажами, накладання асептичної пов'язки.

Лікування хворих 2-ї групи (37 пацієнтів) проводили аналогічно з контрольною групою, з тією відмінністю, що у післяопераційний період щоденно під час проведення перев'язок після промивання рани 0,05 % розчином фурациліну застосовували гель на основі фітосубстанції перцю стручкового у кількості 0,2-0,3 мг, який вводили на марлевих турундах на 10-15 хв.

При лікуванні хворих 3-ї групи (35 пацієнтів) у післяопераційний період за аналогічною схемою застосовували 3 % мазь прополісу.

З великого спектра клінічних симптомів, що характеризують місцевий перебіг гострого запального процесу, для оцінки його інтенсивності у хворих досліджуваних груп були обрані й проаналізовані такі ознаки: наявність та інтенсивність набряку й інфільтрату, стан слизової оболонки перехідної згортки та регіонарних лімфатичних вузлів, наявність та інтенсивність болю у вогнищі запалення, терміни очищення рани від ексудату, інтенсивність регенерації.

Для вивчення впливу фітогелю на етіопатогенетичні ланки запалення, а також для обґрунтування ефективності лікування в динаміці, досліджували такі найбільш інформативні показники, отримані лабораторними методами: кількість лейкоцитів і лейкограму, лейкоцитарний індекс інтоксикації (ЛІІ), швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ). Природною реакцією організму на запальний процес є зміни лейкоцитарної формули. При зсуві лейкоцитарної формули вліво, що спостерігається у хворих із запальними процесами, ЛІІ, відповідно, збільшується. ЛІІ є важливим критерієм динаміки гнійної рани та сумарним виразом загальної реакції організму на локальний гнійний процес [3]. ЛІІ визначали за формулою:

$$ЛІІ = (4мі + 3ю + 2п + с) \times (Пл + 1) / (Мо + Л) \times (Е + 1),$$

де мі – відсоток мієлоцитів, ю – юних, п – паличкоядерних, с – сегментоядерних, Пл –

плазматичних клітин, Мо – моноцитів, Л – лімфоцитів, Е – еозинофілів у формулі крові; 4, 3, 2, 1 – коефіцієнти.

Величина прискорення осідання еритроцитів, як і інші об'єктивні тести, залежить від гостроти, величини і локалізації запального процесу.

Ступінь вираження кожного з названих симптомів оцінювали за 4-бальною шкалою. При цьому повна відсутність симптому відповідала 0 балам, незначний ступінь вираження – 1 балу, помірний ступінь – 2 балам, виражений ступінь прояву симптому – 3 балам. Дослідження проводили на 1-й, 3-й та 7-й дні лікування.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Між дослідними групами пацієнтів не було значних змін у розподілі за статтю, віком, клінічною картиною при госпіталізації, типом та тривалістю втручання, загальному медикаментозному лікуванні. Перед знеболюванням у хворих була нормальна чутливість в ділянці операційного поля. В усіх пацієнтів проведено адекватне знеболювання для хірургічного лікування. Це дає підстави вва-

жати, що зміни, які відзначали в перебігу захворювання та клініко-лабораторних показниках, викликані безпосередньою дією на рану застосовуваних медикаментозних засобів.

У таблиці 1 подано результати клініко-лабораторних методів досліджень, проведених в 1-й день лікування.

Згідно з отриманими результатами, у 1-й день дослідження не було достовірної відмінності між клініко-лабораторними показниками хворих контрольної та дослідних груп. Спостерігалось лише достовірне зменшення болючості (на 20 % порівняно з контрольною групою та на 17 % порівняно з 2-ю дослідною групою) у вогнищі запалення після застосування гелю, що пов'язано з його знеболювальною дією. Відсутність достовірної різниці між клініко-лабораторними показниками контрольної і дослідних груп зумовлена недостатністю впливу досліджуваних медикаментозних середників на рану.

У таблиці 2 відображено клініко-лабораторні показники, отримані на 3-й день дослідження.

Таблиця 1 – Оцінка тяжкості клінічного стану в 1-й день спостереження

Клінічні симптоми	Групи пацієнтів		
	контрольна група	1-ша дослідна група	2-га дослідна група
Набряк м'яких тканин зі сторони запалення	2,571±0,113	2,648±0,097	2,571±0,113
Інфільтрація м'яких тканин зі сторони запалення	2,418±0,111	2,513±0,092	2,457±0,130
Консистенція інфільтрату	2,465±0,112	2,297±0,084	2,343±0,127
Колір шкіри над інфільтратом	2,279±0,106	2,351±0,087	2,343±0,127
Слизова перехідної згортки на сторони запалення	1,977±0,149	1,811±0,127	1,771±0,175
Регіонарні лімфатичні вузли	2,000±0,164	2,135±0,129	1,914±0,182
Інтенсивність болю у вогнищі запалення	2,302±0,107	1,865±0,129**	2,257±0,145
Лейкоцитоз	2,651±0,103	2,594±0,090	2,628±0,120
ШОЕ	2,814±0,066	2,649±0,087	2,771±0,102
ЛПІ	2,511±0,106	2,486±0,092	2,486±0,138

Примітка. Тут і в наступних таблицях: * – достовірні відмінності (p<0,05) від відповідних показників у контрольній групі; ** – достовірні відмінності (p<0,05) від відповідних показників у 2-й дослідній групі.

Таблиця 2– Оцінка тяжкості клінічного стану на 3-й день спостереження

Клінічні симптоми	Групи пацієнтів		
	контрольна група	1-ша дослідна група	2-га дослідна група
Набряк м'яких тканин зі сторони запалення	2,163±0,146	1,676±0,121**	2,057±0,127
Інфільтрація м'яких тканин зі сторони запалення	1,790±0,139	1,378±0,177*	1,686±0,148
Консистенція інфільтрату	1,837±0,121	1,243±0,123**	1,571±0,113
Колір шкіри над інфільтратом	1,744±0,104	1,405±0,116*	1,428±0,113
Слизова перехідної згортки на сторони запалення	1,511±0,106	1,324±0,105	1,371±0,101
Регіонарні лімфатичні вузли	1,512±0,106	1,216±0,114*	1,286±0,116
Інтенсивність болю у вогнищі запалення	1,837±1,126	1,135±0,122**	1,600±0,121
Лейкоцитоз	1,814±0,105	1,459±0,109**	1,743±0,113
ШОЕ	1,860±0,144	1,486±0,125*	1,686±0,133
ЛПІ	1,791±0,119	1,324±0,095**	1,600±0,121

Як показали результати проведених досліджень, на 3-й день після хірургічного лікування у хворих 1-ї дослідної групи були достовірно менш виражені набряк та інфільтрація м'яких тканин, інтенсивність болю. Так, набряк зі сторони запалення був на 22,5 % меншим, ніж у контрольній групі, та на 18,5 % порівняно з 2-ю дослідною групою. Інфільтрація м'яких тканин на 23 % менша при зіставленні з контрольною групою. Нормалізацію

місцевого стану зумовило і зменшення інтоксикації організму, що можна прослідкувати за динамікою зміни ступеня лейкоцитозу, ЛПІ, ШОЕ. Не спостерігалось достовірних відмінностей у стані слизової оболонки перехідної згортки і лімфатичних вузлів на стороні запалення у хворих контрольної та дослідних груп.

У таблиці 3 подано результати клінічних і лабораторних методів досліджень, проведених на 7-й день лікування.

Таблиця 3 – Оцінка тяжкості клінічного стану на 7-й день спостереження

Клінічні симптоми	Групи пацієнтів		
	контрольна група	1-ша дослідна група	2-га дослідна група
Набряк м'яких тканин зі сторони запалення	1,163±0,096	0,757±0,108**	1,000±0,078
Інфільтрація м'яких тканин зі сторони запалення	1,070±0,077	0,649±0,106**	0,914±0,094
Консистенція інфільтрату	0,907±0,095	0,513±0,091**	0,743±0,082
Колір шкіри над інфільтратом	0,884±0,098	0,513±0,091**	0,743±0,082
Слизова перехідної згортки на стороні запалення	0,558±0,092	0,243±0,078**	0,486±0,094
Регіонарні лімфатичні вузли	0,814±0,084	0,513±0,101**	0,771±0,102
Інтенсивність болю у вогнищі запалення	0,581±0,091	0,216±0,075**	0,486±0,104
Термін очищення рани від ексудату	2,349±0,081	1,865±0,087**	2,143±0,112
Терміни епітелізації рани	1,977±0,077	1,243±0,079**	1,743±0,082
Лейкоцитоз	0,767±0,072	0,459±0,101**	0,714±0,085
ШОЕ	0,651±0,115	0,324±0,096**	0,600±0,121
ЛПІ	0,698±0,093	0,405±0,090**	0,657±0,089

При порівнюванні результатів клінічного перебігу запального процесу на 7-й день спостереження встановлено, що найповільніше зменшувався набряк та розсмоктувались інфільтрати, припинялись гнійні виділення, з'являлись грануляції і відбувалась епітелізація ран у хворих контрольної групи. При використанні гелю у пацієнтів 1-ї дослідної групи відзначалось значне скорочення всіх вищезгаданих показників порівняно з хворими 2-ї дослідної групи. Зокрема, набряк та інфільтрація тканин зі сторони запалення зменшились приблизно на 37 % порівняно з контрольною групою та на 26 % порівняно з 2-ю дослідною групою.

Аналізуючи динаміку змін ступеня вираження місцевих проявів у вогнищі запалення, необхідно відзначити, що вираження болювого симптому зменшувалось в 1-й дослідній групі швидше, ніж у контрольній та 2-й дослідній групі, достовірно знизившись вже на 1-шу добу. На 7-му добу пацієнти 1-ї дослідної групи біль у вогнищі запалення практично не відмічали, тоді як хворі контрольної групи та пацієнти 2-ї дослідної групи скаржились на біль різного ступеня вираження.

Проведено також порівняльний аналіз результатів дослідження периферичної крові. Відзначено, що нормалізація показників крові у пацієнтів контрольної групи відбувалась по-

вільніше, що зумовлено пізнішим копіюванням запального процесу. В 1-й день спостереження ЛПІ у хворих 1-2 дослідних груп був майже однаковим. У процесі лікування ЛПІ найістотніше змінювався у хворих 1-ї дослідної групи; у пацієнтів, які отримували мазь прополісу, він залишався на рівні, який свідчить про утримання інтоксикації організму. Зіставлення цього показника, визначеного в кожній групі хворих, дозволяє підтвердити закономірності, викладені вище.

ВИСНОВКИ. 1. Розроблено склад і технологію виготовлення фітогелю на основі БАР плодів перцю стручкового, який за біофармацевтичними показниками відповідає вимогам ДФ України.

2. Порівняльний аналіз результатів лікування хворих контрольної і дослідних груп дав можливість зробити висновок, що, незважаючи на подібність у характері ураження м'яких тканин, клінічній картині й лабораторних показниках при госпіталізації у лікувальний заклад, загоєння гнійних ран під впливом фітогелю перцю стручкового було більш ефективним, ніж при використанні традиційних засобів. Так, аналіз результатів клініко-лабораторних методів досліджень дозволив констатувати, що фітогель позитивно впливає на динаміку

клінічних показників, які характеризують місцевий перебіг запальних процесів м'яких тканин ЩЛД, та нормалізує клінічні показники крові, що вказує на виражений дезінтоксикаційний ефект. Встановлено, що динаміка змін лабораторних показників крові з моменту розкриття гнійника, при комплексному лікуванні із застосуванням фітогелю, є значно сприятливішою, ніж при лікуванні без нього, оскільки зменшення набряку та скорочення термінів

очищення рани, завдяки створеному фітозасобу, було передумовою зменшення інтоксикації організму. При проведених клінічних спостереженнях побічних реакцій не відзначали.

3. Позитивний терапевтичний ефект досягається оптимальним підбором компонентів фітогелю, поліпшенням його фізико-хімічних і біофармацевтичних властивостей та стабільності при відсутності побічних проявів стандартизованої лікарської форми.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бурлака Б.С. Технологія композиційних основ-носіїв для гелів // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики: Збірник наукових статей. – Запоріжжя: Вид-во ЗДМУ, 2006. – Вип. 15 – С. 415-416.

2. Державна фармакопея України. – 1-ше вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – С. 507-511.

3. Дурново Е.А. Развитие синдрома эндогенной интоксикации у больных с острыми гнойно-воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области и шеи: Уч.-метод. пособие. – Н. Новгород: Нижегородская государственная медицинская академия, 2000. – 28 с.

4. Герелюк В.І., Материнський В.В., Чабан У.В., Кобрин О.П. Застосування м'яких лікарських форм у лікуванні захворювань пародонта // Арх. клін. медицини. – 2003. – № 2. – С. 10-14.

5. Зорян Е.В. Медикаментозная терапия в консервативной стоматологии // Клин. стоматология. – 2004. – № 3. – С. 36-40.

6. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. А.М. Гродзінський. – К.: Голов. ред. УРЕ, 1989. – С. 331.

7. Патент України на корисну модель № 19547. МПК А61К 36/00. Спосіб одержання фітосубстанції з протизапальною дією / Л.В. Дубровна, Л.В. Бензель, Ю.В. Вовк та ін. – Опубл. 15.12.06, Бюл. № 12.

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ФИТОГЕЛЬ НА ОСНОВЕ ВОДОРАСТВОРИМОГО КОМПЛЕКСА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ПЛОДОВ ПЕРЦА СТРУЧКОВОГО

Л.В. Бензель, Л.В. Дубровна, Р.М. Федин, И.Л. Бензель
ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

Резюме

В статье представлены состав и технология изготовления геля на основе действующих веществ плодов перца стручкового (*Capsicum annuum*). Клинические исследования подтвердили его эффективность при лечении воспалительных процессов мягких тканей челюстно-лицевой области.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: фитосубстанция, фитогель, плоды перца стручкового, биологически активные вещества, противовоспалительное действие, прополис.

CAPSICUM ANNUM ANTI-INFLAMMATORY PHYTOGEL ON THE BASIS OF WATER-SOLUBLE COMPLEX OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

L.V. Benzel, L.V. Dubrovna, R.M. Fedin, I.L. Benzel
LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY

Summary

The article represents the composition and production technology of gel on the basis of bioactive substances of *Capsicum Annum* fruit. Clinical researches proved its efficiency in treatment of soft tissue inflammation of maxillofacial area.

KEY WORDS: phytosubstance, phytogel, *Capsicum Annum* fruit, biologically active substances, anti-inflammatory action, propolis.

Отримано 27.10.2008 р.

Адреса для листування: Л.В. Дубровна, просп. Червоної Калини, 43, кв. 33, Львів, 79060, Україна.

АДСОРБЦІЙНІ ВЛАСТИВОСТІ СУСПЕНЗІЇ НАНОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМУ

О.В. Ніцак, І.І. Геращенко, І.С. Чекман

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, КИЇВ

У роботі вивчено специфічні білоксорбційні властивості суспензії нанодисперсного кремнезему. Встановлено, що введення до складу суспензії поліетиленоксиду ПЕО-400 не порушує седиментаційної стабільності й не впливає на білоксорбційні властивості. Суспензія нанодисперсного кремнезему з додаванням ПЕО-400 характеризується високою швидкістю зв'язування білкових молекул.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: силікс, суспензія, адсорбція, білки, поліетиленоксид, кінетика сорбції.

ВСТУП. Нанотехнології та одержані з їх допомогою наноматеріали почали широко застосовувати у медичній практиці. Одним із таких матеріалів є високодисперсний кремнезем (ВДК, хімічна формула SiO_2), до складу якого входять непористі, майже сферичні частинки розміром ~ 10 нм, що об'єднуються за рахунок нековалентних взаємодій в агрегати та конгломерати [2, 9, 10]. На основі ВДК створено препарат з сорбційно-детоксикаційною дією "Силікс", який успішно застосовують для лікування діарей різного генезу, вірусних гепатитів, алергічних станів, для аплікацій на гнійні рани [6, 7, 8, 11]. Відомо, що білкову природу мають такі патогенні фактори, як мікробні екзо- та ендотоксини, більшість антигенів та алергенів, пептиди середньої молекулярної маси, олігопептиди [4]. Тому терапевтичну ефективність силіксу визначають такі структурні особливості:

1. Велика питома поверхня з гідроксильними групами зумовлює високу адсорбційну ємність стосовно білків.

2. Завдяки відсутності пор сорбція відбувається надзвичайно швидко. Разом із тим, силікс цілком відповідає вимогам до сорбентів медичного призначення, серед яких фізико-хімічна стабільність, фізіологічна нешкідливість тощо [5].

Силікс у вигляді порошку є препаратом першого покоління серед неорганічних сорбентів. Наступним кроком слід розглядати розробку та впровадження нових лікарських форм, зокрема суспензії силіксу, яка була б зручнішою у використанні та мала б ширші сфери клінічного застосування [2]. Тому в

Інституті хімії поверхні НАН України розроблено спеціальну технологію виготовлення суспензії, в якій силікс в широкому діапазоні концентрацій зберігає нанодисперсний стан [3].

Отже, метою роботи було вивчити специфічну білоксорбційну активність наносуспензії силіксу та дослідити при цьому вплив різних фізико-хімічних чинників.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Адсорбційну активність суспензії нанодисперсного кремнезему вивчали відносно модельних білків – желатини медичної (М.м.=350 000) та яєчного альбуміну (овальбуміну, М.м.=45 000). При цьому використовували метод побудови ізотерми адсорбції. До 1 мл 4 % суспензії у пробірках додавали по 4 мл розчину білка у воді, помірно перемішували протягом 30 хв, потім центрифугували (3000 об/хв, 20 хв). Рівноважну концентрацію білка (C_p) в центрифугаті визначали спектрофотометрично за допомогою біуретового реактиву при довжині хвилі 540 нм. За різницею між вихідною і рівноважною концентраціями визначали величину адсорбції білка (Γ) у розрахунку на 1 г сорбенту. За результатами вимірювань будували ізотерму адсорбції – графік залежності Γ від C_p .

При тривалому зберіганні суспензії частина сорбенту утворює осад, який з часом ущільнюється і потім важко ресуспендується. Тому виникла необхідність дослідити вплив різних водорозчинних полімерів на стійкість суспензії та модифікування осаду для покращення ресуспендування.

Для дослідження впливу водорозчинних полімерів на стабільність суспензії нанодис-

© О.В. Ніцак, І.І. Геращенко, І.С. Чекман, 2008.

персного кремнезему були виготовлені зразки з додаванням полівінілового спирту (ПВС), полівінілпіролідону (ПВП), поліетиленоксидів (ПЕО-400, ПЕО-1500, ПЕО-4000), метилцелюлози та карбополу в діапазоні концентрацій від 0,1 до 2 %. Візуальне спостереження проводили протягом двох тижнів. Суспензії оцінювали за зовнішнім виглядом, об'ємом осаду, швидкістю ресуспендування, яку визначали як кількість струшувань, необхідних для відновлення однорідності суспензії.

Для визначення впливу полімерів на білоксорбційну активність суспензії нанодисперсного кремнезему до 0,8 мл 5 % суспензії (вміст силіксу – 40 мг) додавали розчин полімерної сполуки, створюючи різні співвідношення між SiO₂ та полімером, і 5 мл розчину желатини. Суміш перемішували протягом 0,5 год, центрифугували і в центрифугаті визначали рівноважну концентрацію білка.

Дані, отримані в результаті дослідження, обробляли статистично за допомогою t-критерію Стьюдента.

Для медичної практики велике значення має швидкість зв'язування екзо- та ендотоксинів білкового походження. Тому проводили порівняльне вивчення кінетики адсорбції двох білків – желатини і сироваткового альбуміну людини (САЛ, М.м.=68 500) 5 % суспензією нанодисперсного кремнезему, що містить 0,5 % ПЕО-400, порівняно із силіксом та енторосгелем. Спільною характеристикою силіксу та енторосгелю є хімічна будова за рахунок силіксанового зв'язку (Si-O) та наявність частково або повністю гідроксильованої поверхні. Величину адсорбції через певні проміжки часу вимірювали за методикою, наведеною вище.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати вивчення сорбції желатини та овальбуміну наведено на рисунку 1. Як видно, для обох білків одержані ізотерми підпорядковуються рівнянню ізотерми Ленгмюра:

$$\Gamma = \Gamma_{\infty} \omega C_p / (1 + \omega C_p),$$

де Γ_{∞} – гранична адсорбція, ω – константа адсорбції.

Таблиця 1 – Вплив поліетиленоксидів на білоксорбційні властивості суспензії нанодисперсного кремнезему

Склад суспензії	Величина адсорбції білка, мг/г, для різних співвідношень полімер: силікс в суспензії			
	1:20	1:10	1:2	1:1
Силікс + ПЕО-400	300±9	300±7	250±6*	225±9*
Силікс + ПЕО-1500	250±7*	200±8*	150±10*	125±9*
Силікс + ПЕО-4000	250±10*	200±8*	75±7*	75±7*
Силікс	300±10			

Примітка. * – вірогідна різниця з величиною сорбції вихідного препарату "Силікс".

Гранична адсорбція для желатини становить близько 360 мг/г, для овальбуміну – 320 мг/г. Графічним способом визначали константу адсорбції для кожного з білків (якщо $\Gamma = \Gamma_{\infty}/2$, то $\omega = 1/C_p$). Для желатини константа адсорбції складає близько 8, для овальбуміну – 0,5-1,0. Отже, адсорбційна активність суспензії стосовно обох білків не поступається білоксорбційним властивостям силіксу, що добре вивчено у попередніх роботах [4].

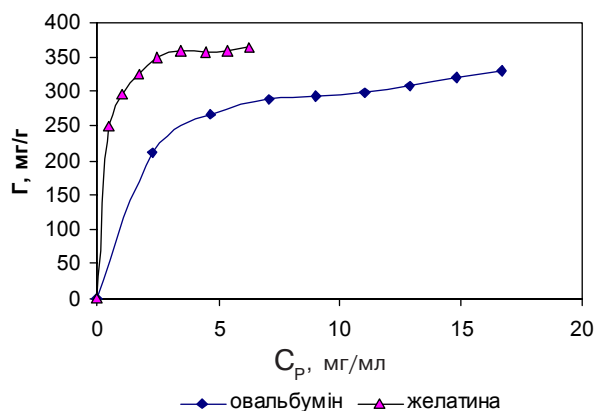


Рис. 1. Ізотерми адсорбції білків суспензією нанодисперсного кремнезему.

Встановлено, що метилцелюлоза і карбопол спричиняють швидку седиментацію суспензій з утворенням великих пластівців. ПВС діє як загусник, перетворюючи суспензію на в'язкий гель. Після додавання ПВП, ПЕО-1500 та ПЕО-4000 суспензія розшаровувалась з утворенням аморфного осаду, який легко піддавався ресуспендуванню. Додавання ПЕО-400 мало стабілізуючий ефект: зразки суспензії залишалися седиментаційно стійкими протягом всього часу спостереження. Отже, для подальшого вивчення білоксорбційної активності були обрані зразки суспензії з додаванням ПВП та ПЕО. Встановлено, що ПЕО не заважає визначенню желатини біуретовим методом. Достовірні дані для зразків з ПВП одержати не вдалося через його взаємодію з біуретовим реактивом. Результати дослідження наведено в таблиці 1.

Як видно з таблиці, ПЕО-400 у співвідношеннях 1:20 та 1:10 не впливає на білоксорбційні властивості суспензії, тоді як введення ПЕО з більшою молекулярною масою і в більшій кількості поступово знижує даний показник. Це можна пояснити блокуванням гідроксильних груп на поверхні кремнезему, відповідальних за сорбцію білка. Одержані дані узгоджуються з результатами роботи [1], в якій показано, що гемолітична дія суспензії ВДК *in vitro*, механізм якої включає взаємодію з мембранними білками, різко зменшується після досягнення концентрації ПЕО в суспензії 100 мг/г (1:10) і більше. Суспензія з вмістом ПЕО-400 близько 100 мг/г не має гемолітичного ефекту й одночасно характеризується

високою білоксорбційною активністю та оптимальними седиментаційними властивостями.

Результати вивчення кінетики зв'язування білків наведено на рисунках 2 і 3. Як видно, силікс та суспензія нанодисперсного кремнезему з додаванням ПЕО-400 швидше сорбують желатину та САЛ, ніж ентеросгель: для повного зв'язування білків достатньо 5 хв для суспензії та 10 хв для силіксу. Ентеросгель зв'язує ці білки дещо повільніше: протягом перших 10 хв він сорбує близько 90 % від граничної адсорбції і потім поступово продовжує зв'язувати решту білка. Такі розбіжності пояснюються непористою структурою силіксу і пористою – ентеросгелю, для якого в механізмі адсорбції певну роль відіграє дифузійна складова.

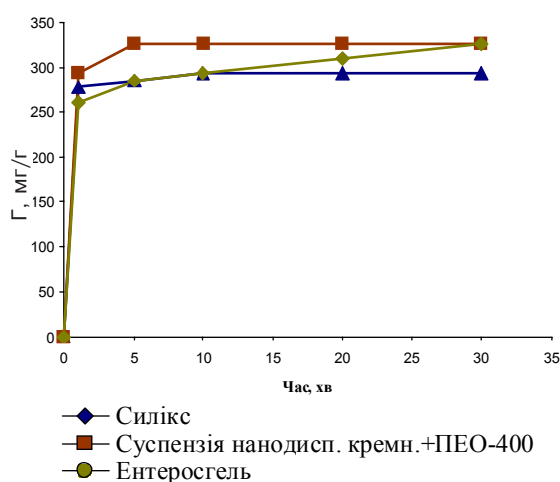


Рис. 2. Кінетика сорбції желатини.

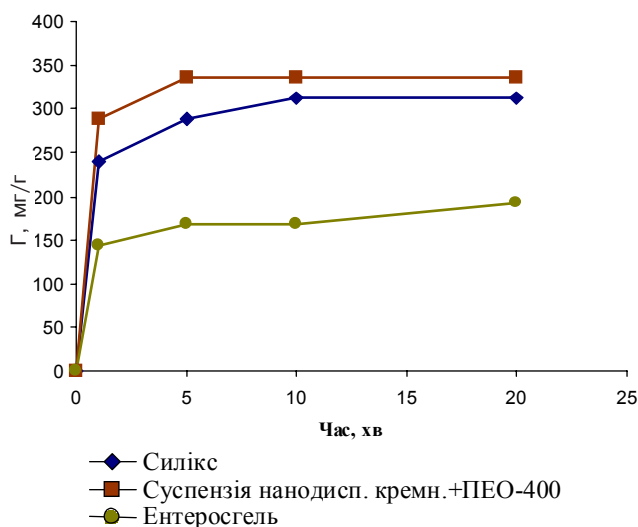


Рис. 3. Кінетика сорбції сироваткового альбуміну людини.

ВИСНОВКИ. 1. Суспензія нанодисперсного кремнезему за показником сорбції білка не поступається вихідному препарату "Силікс".

2. Додавання до складу суспензії поліетиленоксиду ПЕО-400 покращує седиментаційну стабільність суспензії і не впливає на білоксорбційні властивості.

3. Комплексна суспензія нанодисперсного кремнезему (з додаванням ПЕО-400) характеризується більшою сорбційною ємністю відносно сироваткового альбуміну, ніж препарат "Ентеросгель", а також вищою швидкістю зв'язування білків.

ЛІТЕРАТУРА

1. Андрійко Л.С., Габчак О.Л., Зарко В.І. та ін. Дослідження взаємодії еритроцитів з поверхнею ентеросорбенту "Силікс", модифікованою водорозчинними полімерами // Фармац. журн. – 2007. – № 1. – С. 83-87.
2. Геращенко І.І. Силікс – отечественный сорбент многоцелевого назначения // Провизор. – 2005. – № 9. – С. 22-23.
3. Геращенко І.І. Фізико-хімічне обґрунтування, розробка та вивчення нових лікарських засобів на

основі високодисперсного кремнезему: Автореф. дис. ... д-ра фармац. наук. – Харків, 1997. – 40 с.

4. Куришук К.В., Пентюк О.О., Погорелий В.К. Ентеросорбент силікс, властивості та клінічне застосування. – Інститут хімії поверхні НАН України, 2003. – 21 с.
5. Лопатин Н.А., Лопухин Ю.М. Эфферентные методы в медицине. – М.: Медицина, 1989. – 345 с.
6. Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния / Под ред. А.А. Чуйко. – К.: Наукова думка, 2003. – 416 с.

7. Пат. № 52744 (Укр.) Спосіб одержання лікарської форми на основі аморфного високодисперсного діоксиду кремнію / О.О. Чуйко, Є.П. Воронін, Є.М. Пахлов, І.І. Геращенко. – Опубл. 15.01.03, Бюл. № 1.

8. Aliushin M.T., Astrakhanova M.M. Aerosil and its use in pharmaceutical practice // Farmatsiia. – 2000. – 17, № 6. – P. 73-77.

9. Jonat S., Hasenzahl S., Gray A. et al. Influence of compacted hydrophobic and hydrophilic colloidal silicon dioxide on tableting properties of pharmaceutical

excipients // Drug Dev. Ind. Pharm. – 2005. – 31, № 7. – P. 687-696.

10. McLaughlin J.K., Chow W.H., Levy L.S. Amorphous silica: a review of health effects from inhalation exposure with particular reference to cancer // J. Toxicol. Environ. Health. – 1997. – № 25. – P. 50-52.

11. Villota R., Hawkes J.G. Food applications and the toxicological and nutritional implications of amorphous silicon dioxide // Crit. Rev. Food. Sci. Nutr. – 2006. – 23, – № 4. – P. 289-321.

АДСОРБЦИОННЫЕ СВОЙСТВА СУСПЕНЗИИ НАНОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМА

О.В. Ницак, И.И. Геращенко, И.С. Чекман
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ А.А. БОГОМОЛЬЦА, КИЕВ

Резюме

В работе изучены специфические белоксорбирующие свойства суспензии нанодисперсного кремнезема. Установлено, что введение в состав суспензии полиэтиленоксида ПЕО-400 не нарушает седиментационной стабильности и не влияет на белоксорбирующие свойства. Суспензия нанодисперсного кремнезема с добавлением ПЕО-400 характеризуется высокой скоростью связывания белковых молекул.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **силикс, суспензия, адсорбция, белки, полиэтиленоксид, кинетика сорбции.**

THE ADSORPTION PROPERTIES OF SUSPENSION OF NANODISPERSED SILICA

O.V. Nitsak, I.I. Herashchenko, I.S. Chekman
NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY O.O. BOHOMOLET, KYIV

Summary

The specific features of protein adsorption by suspension of nanodispersed silica have been studied. The polyethylenoxide PEO-400 (Macrogol 400) added to suspension does not impact on its sedimentation stability as well as on the ability to absorb the proteins. Suspension of nanodispersed silica with added Macrogol 400 has a high rate of protein adsorption.

KEY WORDS: **silics, suspension, adsorption, proteins, polyethylenoxide, kinetics of sorption.**

Отримано 16.07. 2008 р.

Адреса для листування: О.В. Ницак, вул. Руданського, 4-6, кв.78, Київ, 04112, Україна.

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ НОВОГО ПРОСТАТОПРОТЕКТОРНОГО ЗАСОБУ – СУПОЗИТОРІЇВ “АЛЬТАБОР” НА МОДЕЛІ КРІОУРАЖЕННЯ ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ У ЩУРІВ

Л.В. Яковлева, Н.Я. Музика, А.С. Шаламай
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

У статті наведено результати дослідження простатопротекторної активності нового поліфенольного засобу – супозиторіїв “Альтабор” на моделі кріоураження передміхурової залози у щурів. Їх вводили ректально в умовнотерапевтичній дозі 50 мг/кг (за діючою речовиною). Препаратом порівняння були супозиторії з олією насіння гарбуза у дозі 60 мг/кг.

Терапевтичний ефект препаратів оцінювали за їх впливом на масовий коефіцієнт передміхурової залози, рівень лейкоцитів у сироватці крові, швидкість осідання еритроцитів та деякі показники ПОЛ/АОС. Оцінку впливу препаратів на вищезазначені показники проводили в групах тварин з різними термінами перебування в експерименті (протягом 7, 12 та 18 днів).

Отримані результати свідчать про те, що досліджуваний препарат сприяє відновленню функції передміхурової залози та відновлює фізіологічний рівень перекисного окиснення ліпідів в організмі за умов експериментального простатиту. Ефективність супозиторіїв “Альтабор” за своїм вираженням переважає дію препарату порівняння – супозиторіїв з олією насіння гарбуза. Отже, подальше вивчення та впровадження в медичну практику препарату є перспективним.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: простатит, супозиторії “Альтабор”, перекисне окиснення ліпідів.

ВСТУП. Хронічний простатит займає провідне місце серед хвороб передміхурової залози та є однією з причин чоловічого безпліддя [11, 13]. За даними багатьох авторів, на хронічний неспецифічний простатит хворіють 35-40 % чоловіків найбільш працездатного та репродуктивного віку (20-50 років) [6, 15].

На фармацевтичному ринку України засоби для лікування простатитів представлені в основному препаратами іноземного виробництва, які є дорогими та малодоступними для населення [4]. Такий стан проблеми став підґрунтям для розробки та впровадження нових ефективних вітчизняних засобів для лікування та профілактики простатитів, що мають мінімальну кількість побічних ефектів. Перспективною групою в цьому відношенні є препарати на основі рослинної сировини [1].

Об'єктом наших досліджень є супозиторії “Альтабор”, створені на основі субстанції альтабору, яка розроблена на ЗАТ НВЦ “Борщівський ХФЗ” із шишок вільхи клейкої (*Alnus glutinosa* L.) і вільхи сірої (*Alnus cinerea* L.) родини Березові (*Betulaceae*). Субстанція альтабору містить переважно олігомерні елаго-таніни на основі глюкози, елагової і валоні-

вої кислот (60-70 %), а також полімери – меланінові водорозчинні пігменти (10-15 %), вуглеводи, водорозчинні полісахариди (5-7 %), вільні амінокислоти, фенолокислоти. З урахуванням патогенетичних механізмів розвитку захворювань передміхурової залози найбільший інтерес викликає те, що зазначені БАР здатні проявляти такі види фармакологічної дії, як антиоксидантна, капіляроукріплювальна, протизапальна, антисклеротична, спазмолітична, антимікробна, регенеративна, анальгетична та ін. [2].

Метою даної роботи стало дослідження простатопротекторної активності супозиторіїв “Альтабор” на моделі кріоураження передміхурової залози у щурів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. З огляду на те, що гемодинамічні порушення є обов'язковим компонентом патогенезу простатитів, незалежно від їх етіології, для оцінки простатопротекторної дії супозиторіїв “Альтабор” було обрано експериментальну модель простатиту, в розвитку якого провідну роль відіграють гемодинамічні порушення. Кріогенний вплив хлоретилу на залозу проявляється прямим ураженням її тканини з порушенням гемодинаміки та розвитком запалення залозистої

© Л.В. Яковлева, Н.Я. Музика, А.С. Шаламай, 2008.

тканини, що відповідає механізмам розвитку простатиту [5].

В експерименті використовували білих безпородних щурів-самців масою 250-280 г. Кріоураження передміхурової залози викликали шляхом проведення місцевого струмінного зрошення хлоретиллом передньої поверхні центральної частини (перешийок та вентральні частки) залози [5]. Супозиторії "Альтабор" вводили у дозі 50 мг/кг (за діючою речовиною), яку обрано за результатами попередніх досліджень мембраностабілізуючої, протизапальної та анальгетичної дій. Препарат порівняння – супозиторії з олією насіння гарбуза у дозі 60 мг/кг (за діючою речовиною), яку розраховували за методом Риболовлева, виходячи з добових доз для людини [7]. Досліджувані засоби вводили тваринам ректально за 0,5 год до кріотравми та надалі щоденно однократно протягом означеного терміну моделювання. Експеримент проводили в динаміці 7, 12 та 18 днів. Перед виведенням з експерименту в щурів брали кров із хвостової вени для клінічного аналізу. Евтаназію тварин здійснювали методом декапітації під ефірним наркозом з дотриманням вимог біоетики.

Критеріями розвитку патології були лейкоцитоз, збільшення швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ), зменшення масового коефіцієнта передміхурової залози (МКПЗ) та її зовнішній вигляд.

З метою аналізу ефективності лікувальної дії препаратів у сироватці крові визначали рівень відновленого глутатіону (ВГ) як показник антиоксидантного захисту організму, вміст ТБК-активних продуктів як показник активності процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), активність кислоти фосфатази (КФ) як показник функціонального стану передміхурової залози. Вміст ТБК-активних продуктів та активність КФ визначали також у гомогенаті передміхурової залози. Рівень ТБК-активних продуктів визначали тіобарбітуровим методом, ВГ – за методом Елмана, активність КФ – за методом Боданські [3]. Отримані результати аналізували методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При експериментальній патології у щурів спостерігали ознаки запального процесу: на 7-й день на передміхуровій залозі мали місце зони некрозу, гнійні виділення, вірогідне збільшення у крові кількості лейкоцитів та ШОЕ порівняно з групою інтактного контролю; на 12-й та 18-й дні розвитку патології, окрім збереження вищезазначених ознак запалення, спостеріга-

ли достовірно зменшення МКПЗ порівняно з групою інтактного контролю (рис. 1).

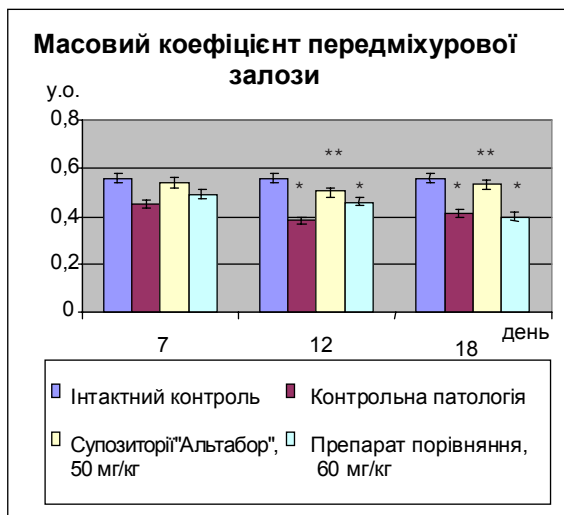
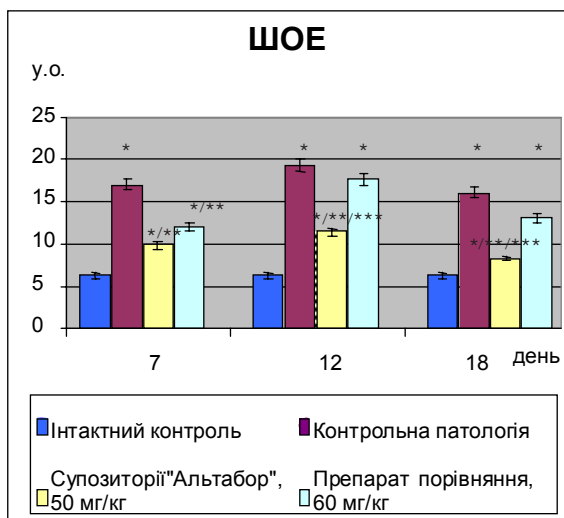
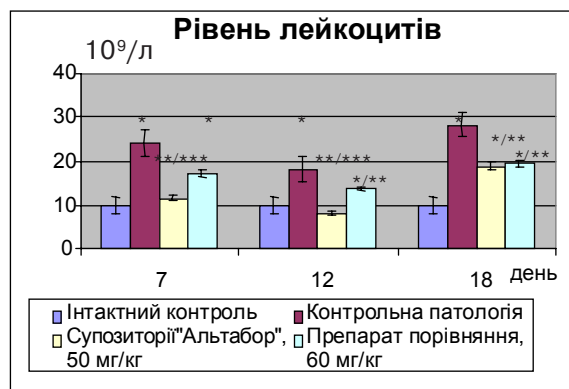


Рис. 1. Вплив препаратів на рівень лейкоцитів, ШОЕ та МКПЗ (n=6).

Примітка. Тут і в таблиці 1:

* – відхилення вірогідне відносно групи інтактного контролю, $p < 0,05$;

** – відхилення вірогідне відносно групи контрольної патології, $p < 0,05$;

*** – відхилення вірогідне відносно групи тварин, які отримували препарат порівняння, $p < 0,05$.

Аналіз результатів вивчення впливу досліджуваних засобів на запальний процес у передміхуровій залозі дозволив встановити виражений лікувальний ефект супозиторіїв "Альтабор". Результати макроскопічного огляду залози свідчили про відсутність ознак запального процесу в більшості щурів. Результати клінічного аналізу крові дослідних тварин дозволили встановити, що за умов лікування супозиторіями "Альтабор" відбувалось зниження рівня лейкоцитів, порівняно з контрольною патологією, в усі терміни експерименту (7, 12, 18 днів). Незважаючи на те, що показник ШОЕ в групі щурів, які отримували супозиторії "Альтабор", був більшим, ніж у групі інтактного контролю, порівняно з контрольною патологією він значно зменшувався внаслідок дії препарату в усі зазначені терміни. Показник МКПЗ зберігався на рівні групи інтактного контролю протягом всього експерименту, що також свідчить про запобігання порушенням у передміхуровій залозі під впливом супозиторіїв "Альтабор".

Результати досліджень у групі щурів, які на фоні патології отримували супозиторії з олією насіння гарбуза у дозі 60 мг/кг, показали, що за впливом на запальний процес індукований у передміхуровій залозі препарат порівняння значно поступався супозиторіям "Альтабор". На 7-й день на передміхуровій залозі спостерігали зони некрозу та гнійні виділення, хоча вони і не були такими вираженими, як у групі контрольної патології. Мало місце також вірогідне підвищення кількості лейкоцитів у крові тварин щодо групи інтактного контролю в усі терміни експерименту, але на

12-й та 18-й дні даний показник зменшувався під впливом препарату порівняння у зіставленні з контрольною патологією. Вплив препарату на показник ШОЕ спостерігали тільки на 7-й день експерименту, він проявлявся зниженням його значення щодо контрольної патології. Порівняно з інтактним контролем зазначений показник був вірогідно вищим як на 7-й день, так і протягом наступних термінів спостереження (12, 18 днів). Показник МКПЗ під впливом супозиторіїв з олією насіння гарбуза залишався на рівні з інтактним контролем.

Ефективність супозиторіїв "Альтабор" щодо гальмування розвитку ознак запалення у передміхуровій залозі за своїм вираженням переважала дію препарату порівняння – супозиторіїв з олією насіння гарбуза. Висока фармакологічна активність досліджуваного засобу обумовлена наявністю у його складі дубильних речовин – їх протизапальна дія реалізується завдяки мембраностабілізуючій активності, що призводить до гальмування звільнення медіаторів запалення [2]. За даними літератури, антиексудативні властивості притаманні також меланіновим пігментам та водорозчинним полісахаридам, які містяться в субстанції альтабору в достатній кількості.

У таблицях 1, 2 наведено біохімічні показники, які свідчать про інтенсивність ПОЛ, стан антиоксидантної системи організму та ступінь фізіологічного функціонування передміхурової залози. Аналіз досліджуваних показників сироватки крові та гомогенату передміхурової залози тварин групи контрольної патології свідчить про те, що кріоураження передміхурової залози щурів призводило до активації

Таблиця 1 – Вплив препаратів на досліджувані показники ПОЛ та рівень кислій фосфатази у сироватці крові тварин (n=6)

Показник	Дослідні групи			
	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Супозиторії "Альтабор", 50 мг/кг	Супозиторії з олією насіння гарбуза, 60 мг/кг
7-й день				
ТБК-акт.продукти, мкмоль/л	0,37±0,03	0,68±0,07*	0,44±0,06**	0,41±0,05**
КФ, ммоль/г-л	0,84±0,08	1,41±0,05*	0,79±0,06**/**	0,42±0,07*
ВГ, мкмоль/л	3,30±0,18	2,33±0,19*	3,90±0,32**	3,21±0,40
12-й день				
ТБК-акт.продукти, мкмоль/л	0,37±0,03	0,69±0,11*	0,35±0,03**/**	0,56±0,08*
КФ, ммоль/г-л	0,84±0,08	1,46±0,21*	0,71±0,08**	0,80±0,09**
ВГ, мкмоль/л	3,30±0,18	2,21±0,47*	4,09±0,16**	3,93±0,35**
18-й день				
ТБК-акт.продукти, мкмоль/л	0,37±0,03	0,59±0,06*	0,41±0,06**	0,41±0,06**
КФ, ммоль/г-л	0,84±0,08	1,55±0,16*	0,69±0,05**	0,84±0,04**
ВГ, мкмоль/л	3,30±0,18	2,14±0,56*	4,20±0,36**	4,12±0,46**

Таблиця 2 – Вплив препаратів на рівень ТБК-активних продуктів та кислоти фосфатази у гомогенаті передміхурової залози (n=6)

Показник	Дослідні групи			
	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Супозиторії "Альтабор", 50 мг/кг	Супозиторії з олією насіння гарбуза, 60 мг/кг
7-й день				
ТБК-акт.продукти, мкмоль/л	31,91±2,81	61,75±4,63*	35,04±4,19**	42,52±5,93**
КФ, ммоль/г-л	1,67±0,11	1,04±0,18*	1,97±0,17**	1,07±0,25*
ВГ, мкмоль/г	3,04±0,44	1,12±0,11*	3,10±0,42**	2,81±0,42
12-й день				
ТБК-акт.продукти, мкмоль/л	31,91±2,81	63,67±2,92*	36,97±2,72**	41,45±1,71**
КФ, ммоль/г-л	1,67±0,11	0,70±0,12*	1,27±0,10**	1,09±0,12**
ВГ, мкмоль/г	3,27±0,23	1,50±0,24*	3,17±0,22**	3,07±0,31**
18-й день				
ТБК-акт.продукти, мкмоль/л	31,91±2,81	67,52±4,16*	42,37±2,71**	40,17±3,70**
КФ, ммоль/г-л	1,67±0,11	0,57±0,08*	1,39±0,15**	1,21±0,14**
ВГ, мкмоль/г	3,27±0,15	1,30±0,21*	3,43±0,12**	2,90±0,01**

Примітка. * – відхилення вірогідне відносно групи інтактного контролю, $p < 0,05$;

** – відхилення вірогідне відносно групи контрольної патології, $p < 0,05$.

процесів ПОЛ та зниження активності антиоксидантної системи, на що вказують достовірне збільшення вмісту ТБК-активних продуктів і зменшення рівня ВГ у сироватці крові та гомогенаті передміхурової залози. На фоні патології відбувалися вірогідне зростання активності КФ у сироватці крові й зниження – у гомогенаті передміхурової залози відносно групи інтактних тварин, що вказує на порушення цілісності й підвищення проникності мембран простатичних ацинусів і вихід ферменту в сироватку. Зазначені зміни мали місце в усі дослідні терміни експерименту (7, 12, 18 днів).

Введення на фоні патології супозиторіїв "Альтабор" сприяло достовірному зниженню вмісту ТБК-активних продуктів у сироватці крові та гомогенаті передміхурової залози, порівняно з групою контрольної патології, протягом усіх термінів дослідження, що свідчить про нормалізацію процесів ПОЛ. Під дією препарату відбувались також вірогідне збільшення концентрації показника антиоксидантного захисту – ВГ та нормалізація концентрації КФ (у сироватці й гомогенаті передміхурової залози) порівняно з групою контрольної патології.

Група тварин, яка на фоні патології отримувала супозиторії з олією насіння гарбуза у дозі 60 мг/кг, характеризувалася менш позитивною динамікою досліджуваних показників порівняно з групою інтактного контролю та супозиторіями "Альтабор". Введення препарату

порівняння сприяло збереженню антиоксидантного статусу організму, але рівень ТБК-активних продуктів у сироватці крові на 12-й день спостереження був вищим за показники груп інтактного контролю та дослідної групи, яка отримувала супозиторії "Альтабор". Крім того, на 7-й день дослідження спостерігали зниження концентрації КФ у гомогенаті простати до рівня контрольної патології, хоча на 12-й та 18-й дні концентрація ферменту відновлювалась під дією препарату з олією насіння гарбуза до рівня показників групи інтактного контролю.

Таким чином, за умов експериментального простатиту супозиторії "Альтабор" у дозі 50 мг/кг проявили антиоксидантний ефект, що був більш виражений порівняно з препаратом порівняння – супозиторіями з олією насіння гарбуза у дозі 60 мг/кг. Антиоксидантна активність альтабору визначається наявністю у хімічному складі великої кількості поліфенольних сполук. Відомо, що вони є донорами легкорухливих атомів водню, які взаємодіють безпосередньо з вільними радикалами та зупиняють реакції вільнорадикального окиснення; можуть використовуватись для відновлення та поповнення фонду компонентів АОС, що витрачаються в ході аномального процесу ПОЛ [12, 14]. За даними літератури, серед різних класів рослинних поліфенольних сполук найбільш виражені антиоксидантні влас-

тивості притаманні дубильним речовинам, зокрема елаготанінам, які мають у складі молекули велику кількість гідроксильних груп, з'єднаних з ароматичною структурою, що визначає їх виражений відновний потенціал. Крім того, дубильні речовини утворюють комплекси з іонами Fe^{3+} , які є ініціаторами процесу ПОЛ, а також здатні підвищувати активність антиоксидантних ферментів [8-10]. Отже, можна припустити, що саме елаготаніни, які містяться в діючій речовині супозиторіїв "Альтабор" у значній кількості, визначають виражену антиоксидантну активність препарату. Крім цього, було виявлено, що завдяки стабільному

вільнорадикальному стану і здатності зворотно окиснюватись та відновлюватись, за умов активації ПОЛ, меланіни, які складають 10-15 % субстанції альтабору, також можуть захищати мембрани клітин.

ВИСНОВОК. За вираженням простатопротекторної дії за умов експериментального простатиту супозиторіїв "Альтабор" у дозі 50 мг/кг перевищують препарат порівняння – супозиторії з олією насіння гарбуза у дозі 60 мг/кг. Доцільним є подальше вивчення супозиторіїв "Альтабор" з метою впровадження їх у промислове виробництво та медичну практику.

ЛІТЕРАТУРА

1. Акопов И.Э. Важнейшие отечественные лекарственные растения и их применение: Справочник. – М.: Медицина, 1990. – С. 275-276.
2. Барабой В.А. Биологическое действие растительных фенольных соединений. – Киев, 1976. – 260 с.
3. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. – Минск, 2000. – 1. – С. 409-412.
4. Компендіум 2004 – лікарські препарати / За ред. В.М. Коваленка, О.П. Вікторова. – К.: МОПІОН, 2004. – 1664 с.
5. Ларьяновская Ю.Б., Дранова И.Н., Кишинец Н.В. и др. Холодовая травма предстательной железы крысы как экспериментальная модель простатита // Материали Національного з'їзду фармакологів України: Тез. доп. – Харків, 1999. – С.597.
6. Мартин И., Резник Э., Новак К. Секреты урологии. – С.Пб.: Vinom Publishers, 2002. – 400 с.
7. Рыболовлев Ю.П., Рыболовлев Р.С. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности // Доклады АН СССР. – 1979. – 247, № 6. – С. 1513-1516.
8. Borsa Wolf and Michela Christa. Antioxidant capacity of flavanols and gallate esters: pulse radiolysis // Free Radical Biology and Medicine. – 1999. – 27, № 11-12. – P. 1413-1426.
9. Brune M., Rossander L., Harberg L. Iron absorption and phenolic compounds: importance of different phenolic structures // Eur. J. Clin. Nutr. – 1989. – № 43. – P. 547-548.
10. Chesi Michele, Shweller Roland. Inhibition of constitutive emethelal nosynthase activity by tannin and quercetin // Biochem. Pharmacol. – 1995. – 49, № 4. – P. 495-501.
11. Gerald J., Domingue Sr., Wayne J.G. Hellstrom. Prostatitis // Clinical Microbiology Reviews. – 1998. – 11, № 4. – P. 604-613.
12. Halliwell B. Mechanism involved in the generation of free radicals: Symp. Conf. Lilly'95 "Role oxydants et antioxydants pathol. Humaine", Paris, 10 Oct. 1995 // Pathol. Biol. – 1996. – 44, № 1. – P. 6-13.
13. Ja Hyeon Ku, Soo Woong Kim, Jae-Seung Paick. Epidemiologic risk factors for chronic prostatitis // International Journal of Andrology. – 2005. – 28, № 6. – P. 317-327.
14. Robak Jadwiga, Gryglewski Ryszara J. Bioactivity of flavonoids // Pol. J. Pharmacol. – 1996. – 6. – P. 555-564.
15. Shaeffer F.J. Epidemiology and demographics of prostatitis // European Urology Supplements. – 2003. – № 2. – P. 5-10.

ИССЛЕДОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВОГО ПРОСТАТОПРОТЕКТОРНОГО СРЕДСТВА – СУПОЗИТОРИЕВ "АЛЬТАБОР" НА МОДЕЛИ КРИОПОРАЖЕНИЯ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У КРЫС

Л.В. Яковлева, Н.Я. Музыка, А.С. Шаламай
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

В статье приведены результаты исследования простатопротекторной активности нового полифенольного средства – супозиториев "Альтабор" на модели криопоражения предстательной железы у крыс. Их

вводили ректально в условнотерапевтической дозе 50 мг/кг. Сроки введения составляли 7, 12, 18 дней. Препарат сравнения – суппозитории с маслом семян тыквы в дозе 60 мг/кг.

По результатам исследования было установлено, что суппозитории “Альтабор” проявляют выраженную простатопротекторную активность, которая превосходит действие препарата сравнения. В условиях экспериментального простатита исследуемое средство способствует восстановлению функции предстательной железы и нормализует показатели ПОЛ/АОС до физиологического уровня. Суппозитории “Альтабор” являются перспективным препаратом для более углубленного исследования с последующим внедрением в промышленное производство и медицинскую практику.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: простатит, суппозитории “Альтабор”, перекисное окисление липидов.

RESEARCH OF EFFECTIVENESS OF NEW PROSTATOPROTECTIVE PREPARATION – SUPPOSITORIUM “ALTABOR” ON MODEL OF PROSTATE GLAND CRYODAMAGE IN RATS

L.V. Yakovleva, N.Ya. Muzyka, A.S. Shalamay
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

Summary

The results of research of prostatoprotective activity of new polyphenolic preparation – suppository “Altabor” on model of experimental prostatitis in rats are stated in the article.

For procreation of experimental pathology chlorethylum cryodesrtruction of prostate gland was used. Suppository “Altabor” was introduced per rectum in a dose 50 mg/kg. Terms of introduction were 7, 12, 18 days. Preparation of comparison was suppository with oil from seeds pumpkin in a dose 60 mg/kg.

According to the results of researches, it was established, that suppository “Altabor” shows expressed prostatoprotective activity, which surpasses action of preparation of comparison. Suppository “Altabor” promotes regeneration of function of prostate gland and normalizes parameters of lipid peroxidation and antioxidative system up to physiological level in conditions of experimental prostatitis. Suppository “Altabor” is a perspective preparation for more profound research with the subsequent introduction into industrial production and medical practice.

KEY WORDS: prostatitis, suppository “Altabor”, lipid peroxidation.

Отримано 31.03. 2008 р.

Адреса для листування: Л.В. Яковлева, Національний фармацевтичний університет, вул. Мельникова, 12, Харків, 61002, Україна.

ВМІСТ ВІЛЬНИХ СУЛЬФІДРИЛЬНИХ ГРУП В ЛЕГЕНЕВІЙ ТКАНИНІ ТА ЇХ ПАТОГЕНЕТИЧНА РОЛЬ У РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО НАБРЯКУ ЛЕГЕНЬ

А.І. Березнякова, Т.І. Тюпка

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

В експерименті на щурах встановлено, що при гострогіпоксичному і гемодинамічному набряку легень знижується вміст сульфідрильних груп в легеневої тканині. При застосуванні інгібіторів ангіотензинперетворюючого ферменту зофеноприлу та еналаприлу вираження набряку легень зменшується. Ефективність зофеноприлу вища за еналаприл, що пов'язано з наявністю сульфідрильної групи в його хімічному складі.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: набряк легень, сульфідрильна група, зофеноприл, еналаприл.

ВСТУП. Серед різних видів легеневої патології гострий набряк легень займає особливе місце за швидкістю свого розвитку, тяжкістю порушень дихальної функції і складністю лікування. Незважаючи на те, що клініку багатьох форм гострого набряку легень добре вивчено, патогенез їх розвитку з'ясовано недостатньо. У складному патогенезі набряку легень, поряд з розладами легеневого кровообігу, суттєва роль належить біохімічним змінам у тканині легень і організмі в цілому [2]. В літературі з проблеми набряку легень практично відсутні роботи про біохімічні зміни, що його супроводжують. Відомо, що структурна цілісність біологічних мембран великою мірою залежить від вмісту в них функціонально активних сульфідрильних груп (SH-груп). При блокуванні й окисненні цих груп порушуються структура і цілісність біологічних мембран. Підвищується їх проникність, прискорюється розпад АТФ у легеневої тканині, що сприяє набряку легень [4]. На початку 70-х років ХХ століття було опубліковано декілька робіт з вивчення вмісту SH-груп при гострому токсичному набряку [1]. Але подальшого розвитку ці дослідження не набули. У доступній літературі ми не знайшли більше робіт, в яких би детально вивчалася роль сульфідрильних груп в патогенезі набряку легень, а також можливість корекції даного стану за допомогою інгібіторів ангіотензинперетворюючого ферменту (АПФ) – донаторів сульфідрильних груп (каптоприл, зофеноприл).

Мета дослідження – вивчення вмісту вільних сульфідрильних груп в легеневої тканині при

набряку легень і патогенетичне обґрунтування доцільності використання інгібіторів АПФ у комплексній терапії набряку легень.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведено на 70 нелінійних щурах, поділених на 7 груп: 1-ша – інтактний контроль; 2-га – щури з гострогіпоксичним набряком легень; 3-тя щури з гемодинамічним набряком легень; 4-та – щури з гострогіпоксичним набряком легень, яким за 30 хв до початку моделювання набряку вводили внутрішньовенно зофеноприл (зокардис, Berlin-Chemie, Німеччина) в дозі 2,5 мг/кг; 5-та – щури з гемодинамічним набряком і профілактичним введенням зофеноприлу аналогічно 4-й групі; 6-та – щури з гострогіпоксичним набряком легень, яким за 30 хв до початку моделювання набряку вводили внутрішньовенно еналаприл (енап, KRKA, Slovenia) в дозі 18 мкг/100 г маси; 7-ма – щури з гемодинамічним набряком легень і профілактичним введенням еналаприлу аналогічно 6-й групі. Модель гострогіпоксичного набряку легень розроблено у відділі з вивчення гіпоксичних станів Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. Гіпоксичні умови для тварин створювали в герметичній камері з постійним потоком газової суміші та поглинанням вуглекислого газу одноразово протягом 1 год. Суміш містила 7 % O₂ в азоті. Гемодинамічний набряк легень моделювали шляхом внутрішньом'язового одноразового введення адреналіну гідрохлориду в дозі 0,5 мг/кг [5]. Вміст вільних SH-груп в легеневої тканині визначали амперометричним методом (J.M. Kolthoff і W.E. Harris, 1946 в модифікації С.М. Ністратової, 1959).

©А.І. Березнякова, Т.І. Тюпка, 2008.

Наявність і ступінь набряку оцінювали за величиною легеневого коефіцієнта і сухого залишку тканини легень.

Легеневий коефіцієнт розраховували за

$$\text{формулою: ЛК} = \frac{\text{маса легень}}{\text{маса щура}} \times 100\%$$

Сухий залишок легеневої тканини визначали після просушування тканини у вакуумній сушильній шафі до постійної маси при 80-90 °С з наступним зважуванням на аналітичних терезах.

Протягом експерименту з тваринами проводилися відповідно до міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментів та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986).

Результати експерименту обробляли статистично з використанням t-коефіцієнта Стьюдента [5].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналіз результатів дослідження показав, що застосування вказаних способів моделювання набряку легень привело до розвитку його повної клінічної картини в усіх групах експериментальних тварин. Набряк легень викликав загибель в перші 30 хв 100 % тварин з гемодинамічним набряком легень (3-тя група) і 60 % – з гострогіпоксичним набряком (2-га група). Про тяжкість набряку свідчили значне збільшення коефіцієнта маси легень і зниження відносної маси сухого залишку їх тканини (табл. 1).

Таблиця 1 – Вплив зофеноприлу і еналаприлу на розвиток гострогіпоксичного і гемодинамічного набряку легень у щурів ($X \pm Sx$, n=10)

№ групи	Об'єкт дослідження	Легеневий коефіцієнт, %	Сухий залишок, %	Вміст вільних сульфгідрильних груп в легеневій тканині, мкМ на 100 г сирової тканини
1	Інтактний контроль	0,68±0,01	20,80±0,27	0,68±0,04
2	Гострогіпоксичний набряк	1,66±0,01*	15,83±0,18*	0,52±0,07*
3	Гемодинамічний набряк	2,25±0,03*	13,95±0,36*	0,34±0,06*
4	Гострогіпоксичний набряк +зофеноприл	1,26±0,03*/**	18,1±0,13*/**	0,58±0,03*/**
5	Гемодинамічний набряк + зофеноприл	1,45±0,04*/**	17,85±0,25*/**	0,54±0,05*/**
6	Гострогіпоксичний набряк + еналаприл	1,35±0,02*/**	16,67±0,22*	0,53±0,04*
7	Гемодинамічний набряк + еналаприл	1,63±0,03*	16,58±0,20*	0,39±0,03*

Примітка. * – p<0,05 – відносно інтактного контролю; ** – p<0,05 – відносно тварин з набряком легень без лікування.

Так, у тварин з гемодинамічним набряком легень легеневий коефіцієнт збільшився в 3,3 раза порівняно з інтактним контролем, де він дорівнював 0,68 %. При гострогіпоксичному набряку цей показник теж збільшився, але меншою мірою – в 2,4 раза.

Оскільки легеневий коефіцієнт може зростати не тільки за рахунок надлишку води в легенях, а ще й в результаті підвищеного кровонаповнення, то для повнішої характеристики набряку ми визначали сухий залишок легень, який більшою мірою відображає ступінь надлишкової їх гідратації. Встановлено, що при гемодинамічному набряку легень сухий залишок легень був в 1,5 раза меншим, ніж у інтактних тварин, а при гострогіпоксичному набряку легень – в 1,3 раза. Отримані результати збігаються з даними літератури, згідно з якими зменшення сухого залишку легеневої тканини є вірогідною ознакою накопичення в них рідини [1, 2].

Крім того, було встановлено, що при гострогіпоксичному і гемодинамічному набряку легень вміст сульфгідрильних груп зменшувався на 23 і 50 % відповідно порівняно з інтактним контролем, де цей показник склав (0,68±0,04) мкМ на 100 г сирової тканини. Тобто спостерігалась пряма залежність між вираженням набряку легень і ступенем зменшення вмісту вільних сульфгідрильних груп в їх тканині. Це пов'язано з тим, що сульфгідрильні сполуки, до яких відносять глутатіон, цистеїн та ін., належать до антиоксидантних субстратів клітин. Особливе місце серед них займає глутатіон. В організмі людини він присутній у двох формах – окисненій (10 %) і відновленій (90 %). Відновлена форма глутатіону захищає SH-групи білків від окиснення різними окиснювальними агентами. Механізм захисту полягає в окисненні SH-груп самого глутатіону з утворенням окисненої форми, що сприяє збере-

женню SH-груп білків в активній відновленій формі, тобто бере на себе функцію захисту білків у тканині, в тому числі і в легеневій. В умовах експериментального набряку легень відбуваються пошкодження клітин і кількісне зменшення сульфгідрильних груп, що супроводжується порушенням захисних механізмів, як результат – виражені ознаки набряку. Це відповідає загальним уявленням про те, що блокування та окиснення сульфгідрильних груп порушують структуру і цілісність біологічних мембран, що сприяє розвитку набряку легень [1, 4].

Відомо, що ренін-ангіотензин-альдостеронова система відіграє важливу роль в регуляції артеріального тиску, електролітного і водного балансу, у зв'язку з чим фармакологічна блокада цієї системи на будь-якому рівні може давати позитивні ефекти в лікуванні набряку легень [6, 7]. Крім того, серед інгібіторів ангіотензинперетворюючого ферменту є такі, що належать до донаторів SH-груп (каптоприл, зозеноприл та ін.) [3]. Тому ми вирішили вивчити вплив одного з них (зозеноприлу) на розвиток гострогіпоксичного і гемодинамічного набряку легень і порівняти його дію з дією еналаприлу – інгібітора ангіотензинперетворюючого ферменту, який не містить в собі сульфгідрильну групу.

Встановлено, що у тварин 4-ї і 5-ї груп, яким профілактично ввели зозеноприл, вираження набряку легень було меншим порівняно з контрольними тваринами 2-ї і 3-ї груп. Про це свідчив показник легеневого коефіцієнта, який, порівняно з контрольними групами, був нижчим на 24 % при гострогіпоксичному набряку легень і на 36 % – при гемодинамічному. Крім того, при застосуванні зозеноприлу спостерігали тенденцію до нормалізації кількості сухого залишку легень: при гемодинамічному набряку він збільшився на 28 %, а при гострогі-

поксичному – на 14 %. Таким чином, профілактичне введення зозеноприлу тваринам з різними експериментальними формами набряку легень призводить до зменшення явищ гіпергідратації в легенях. Найбільш виражений протинабряковий ефект був відмічений при гемодинамічному набряку легень.

Введення еналаприлу також зменшувало явища гіпергідратації в легенях, що полягало у зменшенні легеневого коефіцієнта і збільшенні сухого залишку, але меншою мірою порівняно із зозеноприлом. При цьому вірогідної зміни вмісту сульфгідрильних груп в легеневій тканині не відбувалося. Таку відмінність можна пояснити відсутністю сульфгідрильної групи у складі еналаприлу, яка дає йому можливість нейтралізувати реактивні форми вільних радикалів кисню, кількість яких збільшується при набряку легень внаслідок активації перекисного окиснення ліпідів. Згідно з літературними даними, ефект “очищення від вільних радикалів” полягає у зменшенні продукції реактивних форм вільних радикалів кисню і супероксиду аніона в клітинах [4]. Крім того, захисні ефекти сульфгідрильних груп інгібіторів ангіотензинперетворюючого ферменту зменшують не тільки клітинну загибель, але і ступінь “набухання мембран” [6].

ВИСНОВКИ. 1. Вираження набряку легень залежить від концентрації сульфгідрильних груп в легеневій тканині: чим більше зменшується концентрація сульфгідрильних груп, тим більший ступінь гіпергідратації в легенях.

2. Інгібітор ангіотензинперетворюючого ферменту зозеноприл більшою мірою зменшує ступінь гіпергідратації в легенях при їх набряку порівняно з еналаприлом, що пов'язано з наявністю сульфгідрильної групи в хімічному складі зозеноприлу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Байманова Х.М., Серебровская И.А. Влияние донаторов сульфгидрильных групп на развитие некоторых форм экспериментального отека легких // Пат. физиол. и эксперим. терапия. – 1973. – № 2. – С. 74-76.
2. Гриппи М.А. Патофизиология легких. – 2-е испр. изд. – М.: Бином, Х.: МТК-книга, 2005. – 304 с.
3. Марчук Е.Ю., Воеводина И.В. Современные представления об использовании ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента для лечения артериальной гипертензии // РМЖ. – 2005 – 13, № 19. – С. 1287-1291.

4. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. – М.: Фирма “Слово”, 2006. – 556 с.
5. Сернов Л.Н., Гацуря В.В. Элементы экспериментальной фармакологии. – М., 2000. – С. 192.
6. Conlin P.R. Angiotensin II antagonists in the treatment of hypertension: more similarities than differences // J. Clin. Hypertension. – 2000. – 2, № 4. – P. 253-257.
7. Julius S., Cohn J., Neutel J. et al. Antihypertensive utility of perindopril in large, general practice-based clinical trial // J. Clin. Hypertension. – 2004. – № 6 (1). – P. 10-17.

СОДЕРЖАНИЕ СВОБОДНЫХ СУЛЬФИДРИЛЬНЫХ ГРУПП В ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ И ИХ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ В РАЗВИТИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОТЕКА ЛЕГКИХ

А.И. Березнякова, Т.И. Тупка
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

В эксперименте на крысах установлено, что при острогипоксическом и гемодинамическом отеке легких снижается содержание сульфгидрильных групп в легочной ткани. При применении ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента зофеноприла и эналаприла выраженность отека легких уменьшается. Эффективность зофеноприла выше, чем эналаприла, что связано с наличием сульфгидрильной группы в его химическом составе.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **отек легких, сульфгидрильная группа, зофеноприл, эналаприл.**

MAINTENANCE OF FREE SULFHYDRILE GROUPS IN PULMONARY TISSUE AND THEIR PATHOGENETIC ROLE IN DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL LUNG EDEMA

A.I. Bereznyakova, T.I. Tупka
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

Summary

In experiment on rats it has been established that at acute hypoxic and hemodynamic edema of lungs the maintenance of SH groups in pulmonary tissue decreases. At application of inhibitors of angiotensin converting enzyme zofenapril and enalapril the expressiveness of lung edema decreases. Efficiency of zofenapril is higher than enalapril, that is connected with presence of SH groups in its chemical composition.

KEY WORDS: **lung edema, SH group, zofenapril, enalapril.**

Отримано 25.05.2008 р.

Адреса для листування: А.І. Березнякова, Національний фармацевтичний університет, вул. Мельникова 12, Харків, 61002, Україна.

ВПЛИВ КОНДЕНСОВАНИХ ПОХІДНИХ [1,2,4]-ТРИАЗИНО[2,3-С]-ХІНАЗОЛІНІВ НА ДЕСТРУКЦІЮ НЕЙРОНІВ КОРИ МОЗКУ ЩУРІВ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ГЛУТАМАТНОЇ ЕКСАЙТОТОКСИЧНОСТІ В ДОСЛІДАХ IN VITRO

В.В. Галиця, І.Ф. Беленічев, С.І. Коваленко
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Додавання глутамату при інкубації нейронів у середовищі призводить до загибелі та нейродеструктивних порушень у клітинах. Внесення конденсованих похідних [1,2,4]-триазино[2,3-с]-хіназолінів, особливо бензилового естеру 2-(3,4-дигідро-3-оксо-2Н-[1,2,4]триазино[4,3-с]-хіназолін-4-іл)-етанової кислоти (КО-17), в інкубаційне середовище зменшує загибель, запобігає розвитку як некрозу, так і апоптозу, знижуючи відсоток апоптично та деструктивно змінених нейронів. Нейропротекторна дія КО-17 пояснюється блокуванням NMDA-асоційованих каналів потенціалзалежним способом і гальмуванням процесу деполяризації нервових клітин, який виникає при глутаматній ексайтотоксичності.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: [1,2,4]-триазино[2,3-с]-хіназоліни, деструкція нейронів, глутаматна ексайтотоксичність, деполяризація нервових клітин, некроз, апоптоз.

ВСТУП. Головному мозку, з огляду на особливості функціонування, притаманна високо-розвинена та тонко диференційована судинна сітка. Система внутрішньочерепних і внутрішньомозкових судин забезпечує сталість та функціональну динамічність мікроциркуляції мозку, залежить не лише від стану загального кровообігу організму, але й від загальних нейрогуморальних впливів та рівня стану внутрішньомозкового обміну речовин. Кровообіг може погіршуватись у результаті змін тону судин і утруднення кровотоку внаслідок їх обмеженого звуження, викликаного атеросклерозом. Порушення тону судин мозкових судин може проявлятися у вигляді спазмів артерій, що призводять до недостатнього кровопостачання та розвитку гіпоксії мозку, зниження тону внутрішньочерепних вен, яке супроводжується застоєм крові та зумовлює стискання мозку. Можлива стадійність перебігу процесу, коли спочатку виникає спазм, а потім спостерігається розширення артеріальних та венозних судин. Зміни в мозкових судинах, пов'язані з тонусом та їх обмеженим звуженням, можуть призвести до різних форм порушення мозкового кровообігу, як ішемічного, так і геморагічного характеру [4, 7].

Наслідки гострої церебральної ішемії, ступінь її пошкоджувальної дії перш за все виз-

начаються тяжкістю та тривалістю зниження мозкового кровообігу. При зниженні рівня кровотоку до 70-80 % (менше 50-55 мл на 100 г тканини мозку за 1 хв – перший критичний рівень) виникають перша реакція у вигляді гальмування білкового синтезу та селективна експресія генів. Гальмування синтезу білків може бути результатом розгрупування рибосом на перших етапах ішемії.

Подальше зниження кровотоку до 50 % від нормальної величини, яка становить близько 80 мл на 100 г тканини за 1 хв (до 35 мл/100 г за 1 хв – другий критичний рівень) супроводжується збільшенням концентрації лактату, розвитком лактат-ацидозу, набряканням мозкових тканин.

Зростаюча ішемія 27-30 % (зниження кровотоку до 10-15 мл/100 г за 1 хв – третій критичний рівень) призводить до розвитку ряду патобіохімічних реакцій у нейронах – виникнення енергодефіциту за рахунок зниження синтезу АТФ, дискоординацій в циклі Кребса, порушення роботи дихального ланцюга мітохондрій, розвитку аноксичної деполяризації мембран, що є критерієм незворотних ішемічних уражень.

На всіх етапах розвитку ішемії відбувається ряд патологічних порушень. На особливу увагу в даному випадку заслуговує глутаматна ексайтотоксичність, розвиток якої має місце при активації NMDA-рецепторів, при цьому та-

© В.В. Галиця, І.Ф. Беленічев, С.І. Коваленко, 2008.

кож спостерігаються надлишкове надходження Ca^{2+} -іонів у нейрони та раптове збільшення його концентрації [5, 8, 9].

Незважаючи на позитивні результати антиоксидантної терапії ішемічних станів в експериментах на модельних патологіях, при тривалому застосуванні сучасних антиоксидантів-нейропротекторів відмічено ряд побічних ефектів (алергічні реакції, нудота, подразнення шкіри, помірне підвищення артеріального тиску тощо). Тому на сьогодні перспективним є вивчення нових нейропротекторів з антиоксидантним механізмом дії як засобів первинної нейропротекції. Цей напрямок широко використовують при створенні речовин, які блокують NMDA-рецептори (глутаматний сайт), а також посилюють відповідь AMPA/каїнатних рецепторів.

Антагоністи NMDA-рецепторів повинні проявляти "первинну" нейропротекторну дію, знижуючи при цьому розвиток ексайтотоксичних процесів. При цьому висока нейропротекторна активність може проявлятися агоністами гліцинового сайту NMDA-рецепторів. Такі речовини здатні не лише знижувати явище глутаматної ексайтотоксичності, але й проявляти антиоксидантні властивості, інгібуючи основні шляхи утворення активних форм кисню при нейродеструкції [1, 7, 10].

Зокрема, серед агоністів гліцинзв'язуючого сайту NMDA-рецепторів особливий інтерес становить структура ACEA 1021 (дихлорнітро-2,3-дикетобензпіперазин), подібна до хімічної будови молекули хіназоліну [8]. У зв'язку з цим, перспективними є конденсовані похідні [1,2,4]-триазинонів, отримані на кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету (проф. С.І. Коваленко) шляхом хімічної конденсації молекул хіназоліну з 1,2,4-триазином з подальшим дизайном, яким притаманний широкий спектр біологічної активності.

У ряді попередніх досліджень виявлено нейропротекторну активність конденсованих похідних [1,2,4]-триазино[2,3-с]-хіназолінів, які блокують NMDA-асоційовані канали потенціалзалежним способом, їм притаманні нейропротекторні властивості з мінімальними побічними ефектами. При стимуляції NMDA-рецепторів їх лігандами ці сполуки гальмують процес, що виникає при деполяризації мембран нервових клітин [8, 9].

Метою нашого експерименту було дослідження нейропротекторної дії конденсованих похідних [1,2,4]-триазино[2,3-с]-хіназолінів на виділених збагачених фракціях нейронів в умовах моделювання глутаматної ексайтотоксичності.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження нейропротекторної дії біологічно активних речовин та фармакологічних препаратів до недавнього часу викликали труднощі через відсутність адекватних нейрохімічних методів, оскільки нервова тканина гетерогенна і класичні моделі церебральної ішемії та біохімічні підходи лише узагальнюють картину відповіді нервової тканини на клітинні стимули та подальшу нейропротекторну терапію [10, 11]. На сучасному етапі розвитку фармакології розроблено методи отримання нервових клітин в індивідуальному стані, в якому вони тривалий час зберігають свою життєздатність [9]. Дослідження цих клітин за допомогою цитохімічних та морфометричних методів дозволяє отримати якісно нову та вірогідну інформацію щодо нервової тканини в умовах моделювання патологічних станів [3].

Експериментальну частину виконано на білих щурах-самцях віком 4 місяці та масою 80-100 г. Виділення збагачених фракцій нейронів та нейроглії проводили у два етапи. На першому етапі мозкову тканину дезінтегрували з метою отримання клітинної суспензії, на другому – виконували диференційне ультрацентрифугування в градієнті щільності цукрози та фіколу. Для одержання нейронів та нейроглії щурів декапітували, швидко виймали головний мозок. Кору мозку відокремлювали від білої речовини, подрібнювали та поміщали в розчин, який складався з таких компонентів, як: 7,5 % розчин полівінілпіролідону (ПВП), 1 % бичий сироватковий альбумін (БСА) й 10 мМ розчин кальцій хлориду. Отриману суспензію фільтрували через три сита під незначним тиском для зменшення втрати нейрональних клітин. Після послідовного пропускання через сита клітинну суспензію нашарували на градієнт, який містив 1 М та 1,75 М розчини цукрози. Центрифугування проводили при 60 000 g у рефрижераторній центрифугі VAC-25. У результаті центрифугування отримували два шари та щільний осад. Верхній шар містив залишки мієлінових оболонок, другий – гліальні та нейрональні клітини. Осад являв собою тіла нейронів зі ступенем чистоти 90 %. У подальшому проводили додаткове очищення другого шару шляхом повторного фільтрування та ультрацентрифугування. Виділені нейрональні клітини відмивали від цукрози та альбуміну охолодженим фізіологічним розчином. Отриману таким чином клітинну суспензію розподіляли на серії: перша – інтактна, друга – суспензія, в якій інду-

кували розвиток глутаматної ексайтотоксичності з додаванням глутамінової кислоти, каїнату або N-метил-D-аспартату, третя – нейрональна суспензія, в якій індукували глутаматну ексайтотоксичність з додаванням досліджуваних речовин у концентраціях 1, 10, 100 та 200 мкМ (табл. 1). Суспензії інкубували протягом години при температурі 37°C. Для вивчення морфофункціонального стану нейронів робили мазки, які фарбували аргентум нітратом [6]. Морфометричний аналіз дегенеруючих клітин мозку проводили в автоматичному режимі за допомогою макропрограми, розробленої у спеціалізованому середовищі програмування VIDAS-2.5 (Kontron Elektronik, Німеччина).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У результаті дослідження встановлено, що інгібуюча дія конденсованих похідних [1,2,4]-триазино[2,3-с]-хіназолінів на процеси розвитку ексайтотоксичності мала прояв на NMDA- та AMPA-рецептори (табл. 2-4). При ініціюванні глутаматної ексайтотоксичності *in vitro* відмічали не лише загибель нейронів, а й розвиток апоптозу. Це супроводжувалось зростанням відсотка апоптичних нейронів. Причому дане явище мало дозозалежний характер. При зростанні кількості агоністів глутамінових рецепторів в інкубаційному середовищі збільшувалася кількість некротичних нейронів та знижувався відсоток апоптичних клітин (див. табл. 1). Внесення по-

Таблиця 1 – Залежність типу загибелі нейронів від концентрації агоністів глутаматних рецепторів

Агоністи		Клітини, що вижили, %	Клітини з ознаками апоптозу	Клітини з ознаками некрозу
Інтактна		85,3±3,15	10,3±2,53	4,4±0,62
Глутамат	50 мкмоль	67,6±3,46	18,5±2,14	13,9±1,32
	100 мкмоль	60,5±3,13*	22,7±1,48*	16,8±1,65*
	500 мкмоль	45,9±2,8*	18,8±0,96*	35,3±1,84*
Каїнат	50 мкмоль	71,2±4,01	16,0±2,57	12,8±1,44
	100 мкмоль	60,2±3,07*	23,8±2,01*	16,0±1,06*
	500 мкмоль	43,7±2,05*	24,8±0,66*	31,5±2,71*
N-метил-D-аспартат	50 мкмоль	68,2±2,64	17,5±1,33	14,3±1,31
	100 мкмоль	59,4±2,92*	23,9±1,37*	16,7±1,55*
	500 мкмоль	44,3±2,4*	21,5±0,4*	34,2±2,8*

Примітка. * – $p \leq 0,05$ відносно серії інтакту.

хідних [1,2,4]-триазино[2,3-с]-хіназолінів, особливо бензилового естеру 2-(3,4-дигідро-3-оксо-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]-хіназолін-4-іл)-етанової кислоти (КО-17), призводило до зниження інтенсивності як некрозу, так і апоптозу. Направленість нейропротекторної дії конденсованих похідних [1,2,4]-триазино[2,3-с]-хіназолінів залежала від їх концентрації у пробі. При незначних концентраціях КО-10 та КО-17 більшою мірою гальмували некротичну загибель нейронів, не спричиняючи вірогідного впливу на розвиток апоптичних змін. А при підвищенні їх концентрації у пробах КО-10 та КО-17 знижували і відсоток некротичних змін, і кількість апоптичних нейронів. Нейропротекторна дія конденсованих похідних [1,2,4]-триазино[2,3-с]-хіназолінів проявляється зміною морфологічного типу загибелі нейронів. Також відомо, що регуляція апоптозу клітини залежить від концентрації нітроген монооксиду. В умовах глутаматної ексайтотоксичності відбувається відкриття кальцієвих каналів. Накопичення Ca^{2+} іонів призводить до активації продукції активних

форм кисню. Ca^{2+} -залежна активація NO-синтази зумовлює накопичення нітроген монооксиду. При високому рівні накопичення нітроген монооксиду активуються фактори апоптозу – p53, bax, гени раннього реагування c-fos та bcl-2, каспаз [2, 5]. У попередніх дослідженнях антиоксидантної дії конденсованих похідних [1,2,4]-триазино[2,3-с]-хіназолінів при моделюванні нітрозуючого стресу встановлено їх здатність знижувати активність NO-синтази і, як наслідок, зменшувати вміст нітроген монооксиду в нейронах [4].

При дослідженні дозозалежної нейропротекторної активності встановлено, що найбільш ефективною концентрацією конденсованих похідних [1,2,4]-триазино[2,3-с]-хіназолінів є 10 мкМ. При зростанні концентрації сполук до 100-200 мкМ нейропротекторна активність конденсованих похідних [1,2,4]-триазино[2,3-с]-хіназолінів знижувалась (див. табл. 2-4).

Похідні [1,2,4]-триазино[2,3-с]-хіназолінів проявляли нейропротекторну активність залежно від характеру агоніста глутаматних

рецепторів при ініціюванні ексайтотоксичності. Найбільша нейропротекторна активність КО-10 та КО-17 спостерігалася при ініціюванні ексайтотоксичності агоністами NMDA-рецепторів. Так, при внесенні в інкубаційне середовище N-метил-D-аспартату КО-10 та КО-17 у концентрації 10 мкМ зменшували загибель нейронів у середньому на 23 %, кількість некротичних клітин – в середньому на 41 %, апоптичних клітин – в середньому на 30 %. При додаванні неспецифічного агоніста (глутамату) в інкубаційне середовище сполуки КО-10

та КО-17 у концентрації 10 мкМ зменшували загибель нейронів на 25-33 %, кількість некротичних клітин – на 47-53 %, кількість апоптичних клітин – на 36-48 % відповідно. При внесенні в інкубаційне середовище агоніста АМРА-рецепторів – кайнату нейропротекторна активність сполук КО-10 та КО-17 знижувалася. Так, загибель нейронів під дією сполук КО-10 та КО-17 зменшувалась в середньому на 16 %, кількість некротичних клітин – в середньому на 20 %, апоптичних клітин – в середньому на 23 % (див. табл. 2-4).

Таблиця 2 – **Нейропротекторна дія конденсованих похідних [1,2,4]-триазино[2,3-с]-хіназолінів в умовах моделювання глутаматної ексайтотоксичності in vitro**

Інкубаційне середовище		Клітини, що вижили, %	Клітини з ознаками апоптозу	Клітини з ознаками некрозу	
Інтактна		85,3±3,15	10,3±2,53	4,4±0,62	
Глутамат (100 мкмоль) (контроль)		60,5±3,13	22,7±1,48	16,8±1,65	
Глутамат (100 мкМ)	КО-10	1 мкМ	63,3±1,96	21,4±0,17	15,3±1,79
		10 мкМ	75,5±3,4*	15,1±2,4	9,4±1,0*
		100 мкМ	75,0±2,55*	15,0±1,25	10,0±1,3*
		200 мкМ	73,7±2,97*	16,1±1,55	10,2±1,42*
	КО-17	1 мкМ	65,4±2,34	19,0±0,38	15,6±1,96
		10 мкМ	79,4±1,96*	12,3±0,26	8,3±1,7*
		100 мкМ	78,9±2,35*	12,4±1,41*	8,7±0,94*
		200 мкМ	76,9±2,07*	14,1±0,9*	9,0±1,17*

Примітка. Тут і в наступних таблицях: * – $p \leq 0,05$ відносно контрольної серії.

Таблиця 3 – **Нейропротекторна дія конденсованих похідних [1,2,4]-триазино[2,3-с]-хіназолінів в умовах моделювання глутаматної ексайтотоксичності in vitro при додаванні кайнату**

Інкубаційне середовище		Клітини, що вижили, %	Клітини з ознаками апоптозу	Клітини з ознаками некрозу	
Інтактна		85,3±3,15	10,3±2,53	4,4±0,62	
Кайнат (100 мкмоль) (контроль)		60,2±3,07	23,8±2,01	16,0±1,06	
Кайнат (100 мкМ)	КО-10	1 мкМ	61,7±1,97	22,8±0,1	15,5±1,87
		10 мкМ	69,6±1,5*	17,8±0,32*	12,6±1,82*
		100 мкМ	68,2±2,32*	18,3±0,63*	13,5±1,69*
		200 мкМ	67,9±3,24*	18,5±1,44*	13,6±1,8*
	КО-17	1 мкМ	62,8±2,48	22,2±0,97	15,0±1,51
		10 мкМ	70,4±2,34*	17,8±1,11*	11,8±1,23*
		100 мкМ	70,0±2,41*	17,8±0,82*	12,2±1,59*
		200 мкМ	66,4±1,96*	21,1±0,16*	12,5±1,8*

ВИСНОВКИ. 1. Внесення в інкубаційне нейрональне середовище агоністів глутаматних рецепторів – глутамату, кайнату та N-метил-D-аспартату призводить до нейродеструкції. При низьких концентраціях агоністів спостерігається апоптоз, при високих – некроз, тобто це явище має дозозалежний характер.

2. Додавання конденсованих похідних [1,2,4]-триазино[2,3-с]-хіназолінів в умовах моделювання глутаматної ексайтотоксичності попереджує клітинну деструкцію, зменшуючи розвиток як апоптозу, так і некрозу. Найбільш ефективною виявилась концентрація 10 мкМ. .

Таблиця 4 – Нейропротекторна дія конденсованих похідних [1,2,4]-триазино[2,3-с]-хіназолінів в умовах моделювання глутаматної ексайтотоксичності *in vitro* при додаванні N-метил-D-аспартату (NMDA)

Інкубаційне середовище		Клітини, що вижили, %	Клітини з ознаками апоптозу	Клітини з ознаками некрозу	
Інтактна		85,3±3,15	10,3±2,53	4,4±0,62	
NMDA (100 мкМоль) (контроль)		59,4±2,92	23,9±1,37	16,7±1,55	
NMDA (100 мкМ)	KO-10	1 мкМ	62,1±2,15	21,5±0,66	16,4±1,49
		10 мкМ	72,2±3,36*	17,1±2,24*	10,7±1,12*
		100 мкМ	71,0±1,98*	17,7±1,08*	11,3±0,9*
		200 мкМ	70,9±3,02*	17,5±1,83*	11,6±1,19*
	KO-17	1 мкМ	65,0±2,08	18,9±0,23	16,1±1,85
		10 мкМ	73,3±2,54*	16,5±1,2*	10,2±1,34*
		100 мкМ	72,1±2,39*	17,0±1,09*	10,9±1,3*
		200 мкМ	71,8±1,95*	17,3±0,39*	10,9±1,56*

При зростанні концентрації до 100 мкМ нейропротекторна активність знижується.

3. Конденсовані похідні [1,2,4]-триазино[2,3-с]-хіназолінів, особливо бензиловий естер 2-(3,4-дигідро-3-оксо-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]-хіназолін-4-іл)-етанової кислоти (KO-17), проявляють нейропротекторну дію більшою мірою при

ініціюванні глутаматної ексайтотоксичності з додаванням агоністів NMDA-рецепторів, а при ініціюванні глутаматної ексайтотоксичності з додаванням агоністів AMPA-рецепторів нейропротекторна активність конденсованих похідних [1,2,4]-триазино[2,3-с]-хіназолінів знижується.

ЛІТЕРАТУРА

1. Андреев Б.В. Ноотропные средства // Мир Медицины. – 1998. – № 8. – С. 25-28.
2. Болдырев А.А. Роль активных форм кислорода в жизнедеятельности нейрона // Усп. физиол. наук. – 2003. – **34**, № 3. – С. 21-34.
3. Горбунов Н.В. Активация образования окиси азота, опосредованная метаболитами глутаматными рецепторами в первичных культурах клеток-зерен мозжечка // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1995. – № 7. – С. 40-48.
4. Губський Ю.І., Беленічев І.Ф., Левицький Є.Л. та ін. Антиоксидантна активність конденсованих похідних [1,2,4]-триазинонів в умовах нітрозуючого стресу // Укр. біохім. журн. – 2007. – **79**, № 5. – С. 159-164.
5. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. – М.: Медицина, 2001. – 328 с.
6. Пирс Э. Гистохимия. – М., 1962. – 962 с.
7. Поварова О.В., Городецкая Е.И., Медведев О.С. Антиоксиданты как нейропротекторы при ишемическом инсульте // Эксперим. и клин. фарм. – 2003. – **66**, № 3. – С. 69-73.
8. Сергеев П.В., Шимановский Н.Л., Петров В.И. Рецепторы физиологически активных веществ: Монография. – Волгоград: Семь ветров, 1999. – 640 с.
9. Сидорова І.В. Пошук церебропротекторів у ряду 4-гідріазинохіназоліна та його конденсованих аналогів: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.03.05 – фармакологія. – К., 2006. – 24 с.
10. Современные методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под ред. М.И. Прохоровой. – Л.: Изд-во Ленинградского ун-та, 1982. – 272 с.
11. Харкевич Д.А. Основные направления создания новых лекарственных средств // Эксперим. и клин. фарм. – 2003. – **66**, № 3. – С. 74-79.

ВЛИЯНИЕ КОНДЕНСИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ [1,2,4]-ТРИАЗИНО[2,3-С]-ХИНАЗОЛИНОВ НА ДЕСТРУКЦИЮ НЕЙРОНОВ КОРЫ МОЗГА КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ГЛУТАМАТНОЙ ЭКСАЙТОТОКСИЧНОСТИ В ОПЫТАХ IN VITRO

В.В. Галица, И.Ф. Беленичев, С.И. Коваленко
ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Добавление глутамата при инкубации нейронов в среде приводит к гибели и нейродеструктивным нарушениям в клетках. Внесение конденсированных производных [1,2,4]-триазино[2,3-с]-хиназолинов, особенно бензилового эстера 2-(3,4-дигидро-3-оксо-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]-хиназолин-4-ил)-этановой кислоты (КО-17), в инкубационную среду уменьшает гибель, предотвращает развитие как некроза, так и апоптоза, снижая процент апоптически и деструктивно измененных нейронов. Нейропротекторное действие КО-17 объясняется блокировкой NMDA-ассоциированных каналов потенциалзависимым способом и торможением возникающего при глутаматной эксайтотоксичности процесса деполяризации нервных клеток.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: [1,2,4]-триазино[2,3-с]-хиназолины, деструкция нейронов, глутаматная эксайтотоксичность, деполяризация нервных клеток, некроз, апоптоз.

INFLUENCE OF CONDENSED DERIVATIVES OF [1,2,4]-TRIAZINE-[2,3-C]-QUINAZOLINES ON DESTRUCTION OF RAT CORTEX NEURONS UNDER MODELLING OF GLUTAMATE EXITOTOXICITY IN EXPERIMENTS IN VITRO

V.V. Halitsia, I.F. Bielenichev, S.I. Kovalenko
ZAPORIZHYAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

Addition of glutamate under incubation of neurons into medium results in death and neurodestructive changes in the cells. Carrying of condensed derivatives of [1,2,4]-triazine-[2,3-c]-quinazolines, especially benzyl ester of 2-(3,4-dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazine[4,3-c]-quinazoline-4-yl)-acetic acid (KO-17) into medium decreases destruction, prevents the development of both necrosis and apoptosis, reduces percentage of apoptically and destructively changed neurons. Neuroprotective activity of KO-17 can be explained by blocking NMDA-associated canals by potential-depended way and inhibition of nervous cells depolarization process under glutamate exitotoxicity.

KEY WORDS: [1,2,4]-triazine[2,3-c]-quinazolines, destruction of neurons, glutamate exitotoxicity, depolarization of nervous cells, necrosis, apoptosis.

Отримано 7.11.2008 р.

Адреса для листування: С.І. Коваленко, просп. Маяковського, 26, Запоріжжя, 69035, Україна.

ПАРАМЕТРИ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗУ ВИСОКО-І НИЗЬКОРЕЗИСТЕНТНИХ ЩУРІВ В УМОВАХ ВПЛИВУ НІТРИТУ НАТРІЮ ПРИ ПОПЕРЕДНЬОМУ ЗАСТОСУВАННІ ОЛІЇ АМАРАНТУ ТА ІНТЕРВАЛЬНОГО ГІПОКСИЧНОГО ТРЕНУВАННЯ

Л.В. Паніна

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

Досліджували механізми впливу нітриту натрію на параметри вільнорадикального гомеостазу мітохондрій печінки, серця, мозку та крові високо- і низькорезистентних до дії гіпоксії щурів при попередньому застосуванні олії амаранту та інтервального гіпоксичного тренування. Установлено, що вплив нітритної інтоксикації у тварин з різною резистентністю до гіпоксії проявляється різним типом реакцій системи "пероксидне окиснення ліпідів – антиоксидантна активність" у всіх аналізованих середовищах. Попереднє стосовно нітритної інтоксикації застосування коригуючих засобів у високорезистентних щурів, згідно з аналізом змін параметрів вільнорадикального гомеостазу, забезпечує вищий рівень та ефективність пристосувальних реакцій у всіх досліджуваних органах порівняно з низькорезистентними.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гемічна гіпоксія, олія амаранту, інтервальне гіпоксичне тренування, вільнорадикальний гомеостаз, кров, печінка, серце, мозок, мітохондрії.

ВСТУП. Нітросполуки у токсичних дозах є одними з основних антропогенних забруднювачів середовища. Їх надходження в організм зумовлює розвиток метгемоглобінемії. На рівні енергопродукуючих структур відмічено інгібування швидкості поглинання кисню, зниження ефективності окисного фосфорилування [7]. Сукупність таких змін безпосередньо впливає на параметри вільнорадикального гомеостазу. Тому за умов нітритної інтоксикації виняткове значення має дослідження мітохондріальних окисно-відновних перетворень. За даних умов важливим є комплексний аналіз цих процесів у тканинах органів з різною резистентністю до впливу гіпоксії із врахуванням індивідуальної чутливості організму до дії стресорів.

При нітритній інтоксикації серед низки коригуючих чинників перспективними видаються мембранопротекторні засоби, здатні забезпечувати структурну та функціональну цілісність мембранних структур, зокрема олія амаранту. Поряд із цим, обґрунтованим за цих умов є застосування методу інтервального гіпоксичного тренування (ІГТ), який шляхом мобілізації ендогенних антиоксидантних резервів універсально забезпечує високий рівень та ефективність адаптивних реакцій.

Мета роботи полягала у дослідженні змін функціонально-метаболическої активності міто-

хондрій тканин печінки, серця, мозку та крові високо- (ВР) і низькорезистентних (НР) до гіпоксії тварин за умов нітритної інтоксикації та при попередньому застосуванні ІГТ і олії амаранту.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на нелінійних щурах-самцях масою 180-220 г. Всі маніпуляції виконано згідно з вимогами гуманного ставлення до експериментальних тварин. Щурів розділили за резистентністю до гіпоксії за методом В.А. Березовського (1978). Критерієм резистентності до дефіциту кисню при експозиції у припливно-втяжній барокамері на умовній "висоті" 11 000 м був час від моменту "підняття" (швидкість 180 м/с) до появи другого агонального вдиху. В досліджуваній популяції щурів, які б за часом "перебування на висоті" відповідали високій резистентності (до 20 хв), не виявлено, тому тварин розділили на 2 групи: до 2 хв – умовно-низькорезистентні і до 12 хв – умовно-високорезистентні. Гемічну гіпоксію моделювали за методом В.П. Реутова (1998) шляхом внутрішньочеревного введення розчину нітриту натрію (NaNO_2) у дозі 20 мг/кг маси тіла. Дослідження проводили через 1 год – у період піку утворення метгемоглобіну (близько 40 % від загального вмісту гемоглобіну).

Окремим групам контрольних і дослідних щурів попередньо вводили олію амаранту або застосовували курс ІГТ, після чого викликали

гемічну гіпоксію. Олію амаранту (НВО “Даніка”, м. Харків) тварини отримували з їжею у дозі 38 мг/кг маси тіла впродовж 10 днів. ІГТ проводили 10 днів у припливно-витяжній барокамері при “піднятті на висоту” 3000 м (1-й день – 1000 м, 2-й – 2000 м, 3-й і наступні – 3000 м) в такому режимі: 5 сеансів по 10 хв з перервою 15 хв, за принципом Е.А. Коваленко (1993).

Мітохондрії печінки виділяли в середовищі: 250 ммоль сахарози і 1 ммоль тріс-НСІ буфера, рН – 7,4; мітохондрії серця: 250 ммоль сахарози, 2 ммоль ЕДТА і 5 ммоль тріс-НСІ буфера, рН – 7,4; мітохондрії мозку: 250 ммоль сахарози, 1 ммоль ЕДТА і 4 ммоль тріс-НСІ буфера, рН – 7,4.

Спектрофотометрично оцінювали рівень Fe^{2+} -індукованого нагромадження ТБК-активних продуктів (ТБКАП) за методом Р.А. Тімірбулатова (1981) у модифікації [5], загальну антиоксидантну активність (АОА) – за індексом $I_{АОА}$, згідно з методом [5], супероксиддисмутазу (СОД) активність – за методом В.А. Костюка (1990), каталазу (КТ) – за методом М.А. Королюка (1988) та глутатіонпероксидазу (ГПО) – за методом В.М. Моїна (1986); реєстрували рівень відновленого глутатіону (ГВ) [2], концентрацію похідного оксиду азоту – нітрит-іона – за методом Гріна (1982). В даній роботі вірогідних відмінностей про- та антиоксидантних параметрів у ВР та НР щурів контрольної групи не було виявлено, тому контролем при аналізі слугували середньостатистичні показники загальної вибірки тварин. Достовірні зміни метаболічних показників між групами щурів різної резистентності зафіксовано лише після введення нітросполуки.

Опрацювання результатів здійснювали з використанням електронних таблиць Microsoft Excel та статистичної програми STATISTICA FOR WINDOWS.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Вибір тканин мозку, печінки та міокарда мотивувався насамперед відносно високим рівнем їх аеробного метаболізму, а відповідно, значною чутливістю до гіпоксії різної природи. Водночас поєднання генералізованої та гемічної гіпоксії, порушуючи окисний та вільнорадикальний гомеостаз досліджуваних тканин, істотно видозмінює специфічний вклад кожного з цих органів у формування загального тла пристосувальних реакцій цілісного організму. Необхідно відзначити, що введення нітриту натрію проявлялося різним типом реакцій системи “пероксидне окиснення – антиоксидантна активність” (ПОЛ–АОА) у ВР та

НР тварин при відсутності вірогідних змін метаболічних параметрів у досліджуваних тканинах контрольних щурів з різною резистентністю до гіпоксії. Установлено, що в мітохондріях серця та мозку ВР тварин, порівняно з НР, достовірно вищими були рівень нітрит-іонів та інтенсивність про- й антиоксидантних процесів (рис. 1). Водночас у мітохондріях серця ВР і НР щурів, а також у крові та мітохондріях усіх тканин НР тварин відмічено нижчий щодо контролю та ВР щурів рівень утворення ТБКАП. Такі зміни, ймовірно, зумовлені специфічним ефектом дії нітросполук, опосередкованим взаємодією з жирнокислотними складовими мембран та, безпосередньо, з ТБКАП [11]. Стосовно досліджуваних ланок антиоксидантного захисту відзначено певні особливості змін у крові та мітохондріях аналізованих тканин.

Зокрема, у крові ВР тварин, порівняно з НР та відносно норми, спостерігалось збільшення рівня ГВ ((2,12±0,14) vs (1,75±0,09) мкмоль GSH/мл, $p<0,05$), $I_{АОА}$ ((1,62±0,11) vs (1,29±0,05) відн. од., $p<0,05$), активності КТ ((0,119±0,007) vs (0,103±0,005) мкмоль H_2O_2 /мл × год, $p<0,05$) і ГПО ((2,60±0,17) vs (1,25±0,07) мкмоль GSH/мл × хв, $p<0,05$). Поряд із цим, було відмічено вірогідне зниження СОД, щодо норми, у крові тварин обох груп (рис. 2).

У мітохондріях серця ВР та НР щурів, як і в крові, спостерігалось зниження щодо контролю активності СОД. Проте у мітохондріях серця НР тварин зниження СОД відносно норми було у 2,6 раза більшим ((17,20±1,25) vs (45,28±2,25) ум.од.акт./мг білка, $p<0,05$) на відміну від ВР ((39,51±3,16) vs (45,28±2,25) ум.од.акт./мг білка, $p<0,05$). У серці НР щурів також мало місце вірогідне зменшення майже усіх досліджуваних параметрів системи “ПОЛ–АОА” щодо норми. Водночас характерними властивостями мітохондрій серця цієї групи тварин були компенсаторне задіяння каталазної активності (до значень (1,71±0,16) мкмоль H_2O_2 /мг білка проти контролю (1,25±0,11) мкмоль H_2O_2 /мг білка, $p<0,05$) та відсутність достовірних змін вмісту нітрит-іонів. Це може свідчити про участь цих іонів та їх високореактивних похідних у процесах взаємодії зі складовими внутрішньоклітинних структур.

Особлива увага до змін окисного метаболізму при нітритній інтоксикації у тканині серця зумовлена тими обставинами, що гіпоксія міокарда як прояв генералізованої гіпоксії є важливою передумовою не лише порушень функціональної активності клітинних та субклітинних структур кардіоміоцитів, але і гомео-

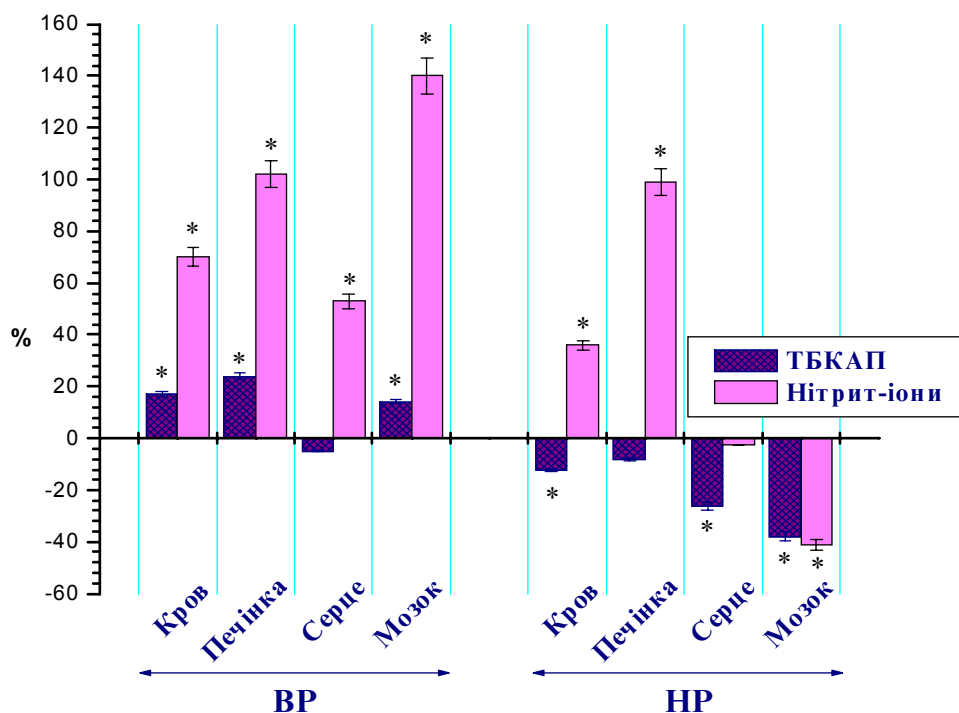


Рис. 1. Зміни вмісту ТБК-активних продуктів (ТБКАП) та концентрації нітрит-іонів у крові, мітохондріях печінки, серця, мозку високо- (ВР) та низькорезистентних (НР) щурів за умов нітритної інтоксикації щодо норми (0 %). Примітка. * – вірогідність відносно контролю ($p < 0,05$).

остаткування фізіологічних параметрів інших життєво важливих систем.

За умов введення нітриту натрію печінка (основний детоксикуючий орган) зазнавала як впливу вільнорадикальних похідних нітрит-іона, серед яких оксид азоту, токсичний пероксинітрит, так і дії інших наслідків гемічної гіпоксії. При такому характері обмінних перетворень у щурів обох груп виявлено однотипну активацію ферментів антирадикальної ланки антиоксидантного захисту (АОЗ) мітохондрій печінки. На це вказує підвищення активності СОД на 34 % у ВР і 24 % у НР тварин, а також значне зростання активності КТ – в 1,5 раза та на 85 % відповідно до груп. Такий характер змін антирадикального захисту на даному етапі має важливе адаптивне значення, запобігаючи утворенню значної кількості токсичного пероксинітриту. Це узгоджується і з даними літератури, оскільки відомо, що нетривала ініціація окисно-відновного циклу трансформації ксенобіотика може стимулювати систему АОЗ, пригнічуючи процес вільнорадикального окиснення ліпідів [1, 9]. У мітохондріях мозку НР тварин відмічено односпрямоване вірогідне зниження усіх досліджуваних показників на відміну від ВР (див. рис. 2). Зокрема, це можна пояснити виснаженням у даний період субстратних та енергетичних резервів, зумовленим розвитком деструктивних процесів. Поряд із цим, відмічені нами у мітохондріях

мозку ВР тварин, порівняно з НР, вищий ступінь нагромадження нітрит-іонів ($(4,75 \pm 0,39)$ vs $(1,15 \pm 0,07)$ нмоль при нормі $(1,98 \pm 0,17)$ нмоль, $p < 0,05$) та більша інтенсивність про- й антиоксидантних процесів свідчать про вищий рівень функціонально-метаболічної активності мітохондрій цієї групи щурів. Отже, на рівні енергопродукуючих структур печінки, мозку та серця, а також у крові виявлено типологічні особливості змін параметрів вільнорадикального гомеостазу, що визначалися індивідуальною чутливістю організму експериментальних тварин до гіпоксії, а також органоспецифічним характером реакції досліджуваних тканин до дії нітросполуки.

Нааявність змін окремих ланок окисного метаболізму за умов нітритної інтоксикації обґрунтовує доцільність застосування коригуючих чинників, дія яких спрямована на протегування відповідних киснезалежних процесів. Серед низки ефективних способів розглядається адаптація до короткотривалих стресових впливів та застосування чинників, багатих високоенергетичними субстратами, завдяки тренуванню захисних механізмів організму на рівні як локальних стреслімітуючих ланок, так і центральних регуляторних систем [3, 4, 6, 8, 12]. Тому на даному етапі досліджень була проведена оцінка загального напрямку змін параметрів вільнорадикального гомеостазу за умов нітритної інтоксикації при попередньому використанні олії амаранту та методу ІГТ. З цієї

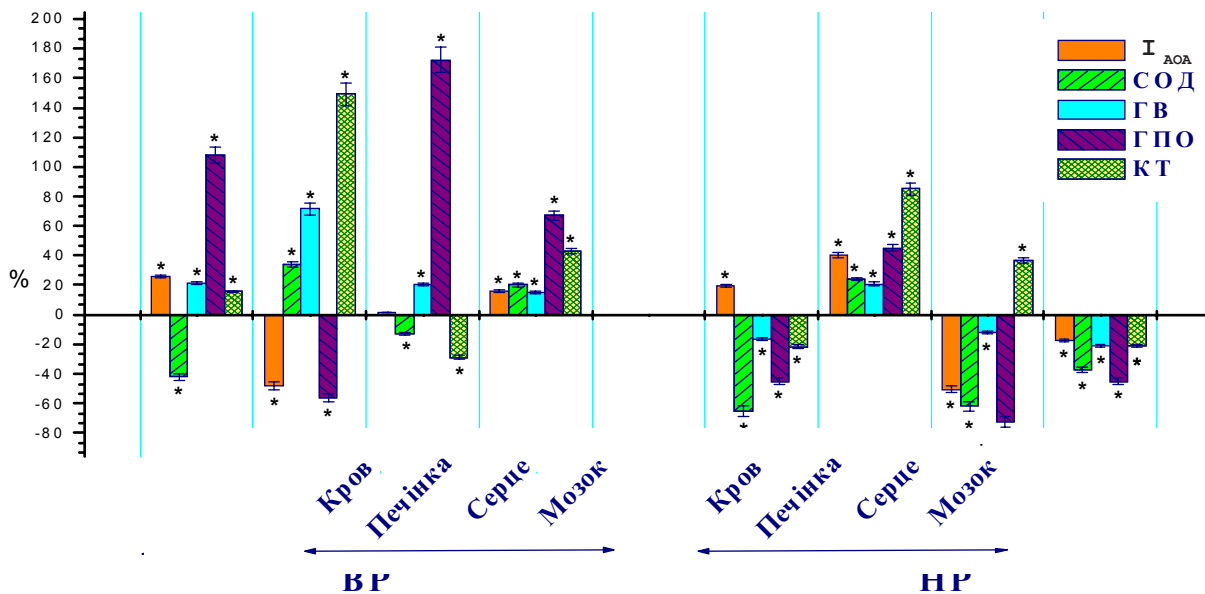


Рис. 2. Зміни параметрів антиоксидантного захисту в крові та мітохондріях печінки, серця і мозку високо- (BR) та низькорезистентних (NR) тварин за умов нітритної інтоксикації щодо норми (0 %). Примітка. * – вірогідність відносно контролю ($p < 0,05$).

метою нами проаналізовано зміни апробованого за інших екстремальних умов інтегративного коефіцієнта $K = AOA/ПОЛ$, введення якого водночас спрощує представлення отриманих результатів [10]. Даний показник

визначали на основі розрахунку співвідношення добутку всіх параметрів АОЗ до інтенсивності процесів ПОЛ (D – параметри дослідних, $E_{\text{контроль}}$ – контрольних серій):

$$K_{AOA/ПОЛ} = \frac{I_{AOA} \left(\frac{D}{K_{\text{контроль}}} \right) \times CO_2D \left(\frac{D}{K_{\text{контроль}}} \right) \times ГВ \left(\frac{D}{K_{\text{контроль}}} \right) \times ГПО \left(\frac{D}{K_{\text{контроль}}} \right) \times КТ \left(\frac{D}{K_{\text{контроль}}} \right)}{ТБКАП \left(\frac{D}{K_{\text{контроль}}} \right)}$$

Аналіз отриманих результатів свідчить про достовірне наростання його значень щодо норми ($K=1$) у всіх досліджуваних середовищах як при введенні олії амаранту контрольним тваринам, так і при тренуванні їх методом ІГТ. Основний ефект наростання зазначеного коефіцієнта пов'язаний зі збільшенням практично всіх ланок АОЗ при відсутності істотних змін з боку активності процесів ліпопероксидації. Дія нітриту натрію на перебіг вільнорадикальних перекисних процесів у обох групах дослідних тварин на тлі попереднього введення олії амаранту, як і проведеного ІГТ, вірогідно різнилась від його впливу на ці параметри у дослідних щурів із суто нітритною інтоксикацією (рис. 3). Зокрема, у групі BR тварин попереднє застосування вказаних чинників забезпечило вищий фон та ефективність пристосувальних реакцій у всіх досліджуваних органах. Це проявлялось достовірним наростанням K щодо норми внаслідок збільшення потужності основних аналі-

зованих складових антиоксидантного захисту. У відсотковому виразі найістотнішим даний ефект був стосовно мітохондрій печінки та серця. До того ж, наростання величини K у мітохондріях цих тканин при застосуванні ІГТ перевищувало відповідні значення дослідної групи із введенням амаранту в 1,6 та 1,7 раза. Щодо групи NR тварин, то попереднє використання відповідних коригуючих чинників мало більш виражений органоспецифічний ефект. Зокрема, стосовно крові та мітохондрій печінки, судячи з параметрів вільнорадикального гомеостазу та величини K , чітко виражений мобілізаційний ефект спостерігався як при введенні амаранту, так і за дії ІГТ. Відносно мітохондрій тканини міокарда NR дослідних тварин, то попереднє введення олії амаранту проявлялось мобілізаційним ефектом, а застосування ІГТ сприяло нормалізації досліджуваних параметрів.

У мітохондріях мозку попереднє до дії нітриту натрію введення в раціон дослідних тварин олії

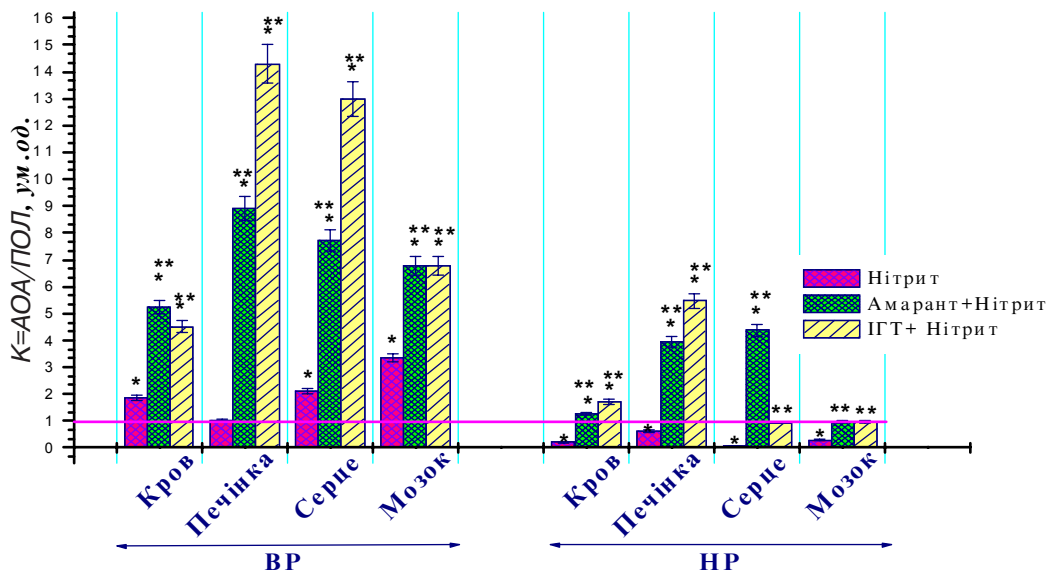


Рис. 3. Зміни коефіцієнта $K=AOA/ПОЛ$ у крові, мітохондріях печінки, серця та мозку високо- (BP) та низькорезистентних (HP) тварин за умов попереднього до дії нітриту натрію курсового застосування олії амаранту чи методу ІГТ та нітритної інтоксикації щодо норми ($K=1$).

Примітка. * – вірогідність відносно контролю ($p<0,05$); ** – вірогідність відносно введення нітриту натрію ($p<0,05$).

амаранту, як і застосування ІГТ, також сприяло відновленню вірогідно знижених при нітритній інтоксикації значень K до параметрів норми.

Необхідно відзначити, що перебіг вільнорадикальних перекисних процесів пов'язаний

з інтенсивністю нітритзалежних перетворень, оскільки ефект попередньої дії коригуючих чинників реалізується на тлі вірогідно високих значень концентрації нітрит-іонів практично у всіх досліджуваних тканинах (рис. 4).

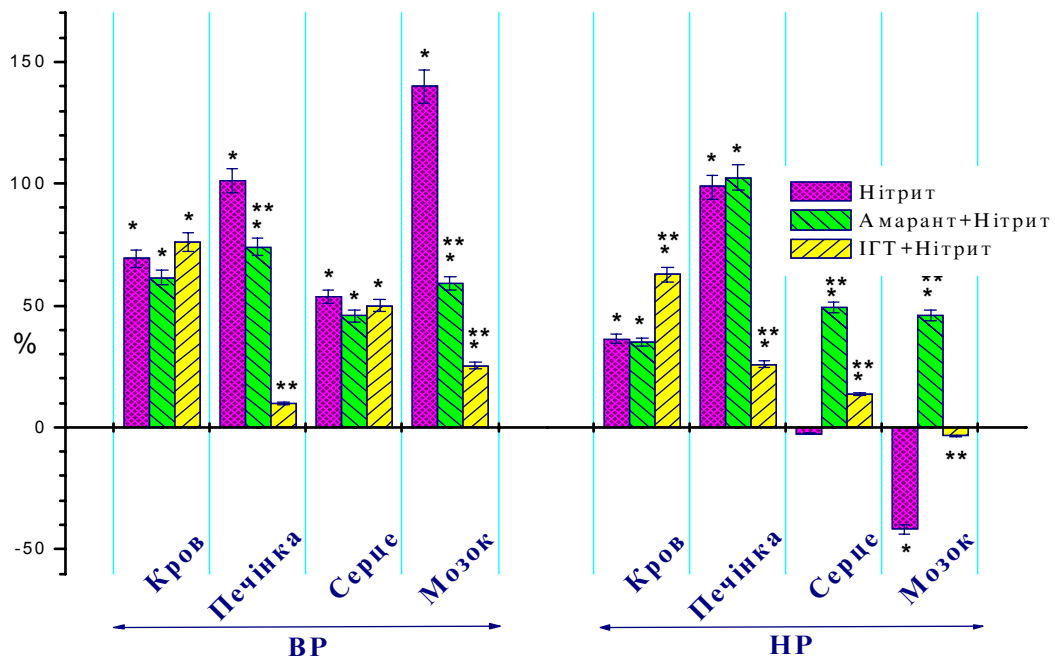


Рис. 4. Зміни вмісту нітрит-іонів у крові, мітохондріях печінки, серця та мозку високо- (BP) та низькорезистентних (HP) щурів за умов попереднього до дії нітриту натрію курсового застосування олії амаранту чи методу ІГТ та нітритної інтоксикації щодо норми (0 %).

Примітка. * – вірогідність відносно контролю ($p<0,05$); ** – вірогідність відносно введення нітриту натрію ($p<0,05$).

ВИСНОВОК. Комплекс отриманих результатів дозволяє говорити про позитивний ефект попереднього застосування методу інтервального гіпоксичного тренування та олії амаранту за умов нітритної інтоксикації. Водночас використання цих коригуючих чинників вимагає

індивідуалізації підходів при виборі схем застосування з урахуванням вихідного рівня резистентності організму.

Дані дослідження були проведені за підтримки WUBMRC (West-Ukrainian BioMedical Research Center).

ЛІТЕРАТУРА

1. Барабой В.А. Роль перекисного окислення в механизме стресса // Физиол. журн. – 1989. – **35**, № 5. – С. 85-97.
2. Гадзиева И.Н. Методические рекомендации по дифференциальной диагностике различных форм ишемической болезни сердца с использованием определения компонентов глутатионовой противоперекисной каталитической системы в эритроцитах крови. – Одесса: Изд-во МЗ СССР, 1982. – 25 с.
3. Гжегоцький М.Р., Панасюк Є.М., Петришин Ю.С. Вплив олії з насіння амаранту на процеси ліпопероксидації в слизовій оболонці травного тракту // Механізми фізіологічних функцій в експерименті та клініці. – Львів, 2001. – С. 26.
4. Горанчук В.В., Сапова Н.И., Иванов А.О. Гипокситерапия. – С.Пб., 2003. – 536 с.
5. Мартынюк В.Б., Ковальчук С.М., Тимочко М.Ф., Панасюк Е.Н. Индекс антиокислительной активности биологического материала // Лаб. дело. – 1991. – № 3. – С. 19-22.
6. Панасюк Є.М. Амарант – природна скарбниця здоров'я // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 1997. – **2**. – С. 28-30.
7. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Охотин В.Е., Косицын Н.С. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих – М.: Наука, 1998.

8. Сазонтова Т.Г., Жукова А.Г., Зенина Т.А. и др. Адаптация к периодическому действию гипоксии и гипероксии. Повышение резистентности мембранных структур печени и мозга при различных видах адаптации к изменению уровня кислорода // Нур. Med. J. – 2003. – **11**, № 1-2. – С. 2-8.
9. Тимочко М.Ф., Єлісеєва О.П., Кобилінська Л.І., Тимочко І.Ф. Метаболічні аспекти формування кисневого гомеостазу в екстремальних станах. – Львів, 1998. – 141 с.
10. Тимочко М.Ф., Терлецька О.І., Ковальчук С.М. Роль співвідношення параметрів перекисне окислення ліпідів – антиоксидантна активність у оцінці напрямку адаптаційного процесу // Механізми фізіологічних функцій в експерименті та клініці. – Львів, 2001. – С. 45-46.
11. d'Ischia M., Palumbo A., Buzzo F. Interactions of nitric oxide with lipid peroxidation products under aerobic conditions: inhibitory effects on the formation of malondialdehyde and related thiobarbituric acid-reactive substances // Nitric Oxide. – 2000. – **4**, № 1. – Р. 4-14.
12. Martirosyan D.M., Miroshnichenko L.A., Kulakova S.N., et al. Amaranth oil application for coronary heart disease and hypertension // Lipids in Health and Disease. – 2007. – **6**. – Р. 1-10.

ПАРАМЕТРЫ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗА ВЫСОКО- И НИЗКОРЕЗИСТЕНТНЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ВЛИЯНИЯ НИТРИТА НАТРИЯ ПРИ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОМ ПРИМЕНЕНИИ МАСЛА АМАРАНТА И ИНТЕРВАЛЬНОЙ ГИПОКСИЧЕСКОЙ ТРЕНИРОВКИ

Л.В. Панина

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

Резюме

Исследовали механизмы влияния нитрита натрия на параметры свободнорадикального гомеостаза митохондрий печени, сердца, мозга и крови высоко- и низкорезистентных к действию гипоксии крыс при предварительном применении масла амаранта и интервальной гипоксической тренировки. Установлено, что влияние нитритной интоксикации у животных, различающихся по резистентности к гипоксии, проявляется различным типом реакций системы "перекисное окисление липидов – антиоксидантная активность".

Предварительное относительно нитритной интоксикации применение корректирующих средств у высокорезистентных крыс, исходя из анализа изменений параметров свободнорадикального гомеостаза, обеспечивает высший уровень и эффективность приспособительных реакций во всех исследуемых органах по сравнению с низкорезистентными.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гемическая гипоксия, масло амаранта, интервальная гипоксическая тренировка, свободнорадикальный гомеостаз, кровь, печень, сердце, мозг, митохондрии.

PARAMETERS OF FREE RADICAL HOMEOSTASIS IN HIGH- AND LOW RESISTANT RATS UNDER SODIUM NITRITE INFLUENCE WITH PREVIOUS APPLICATION OF AMARANTH OIL AND INTERVAL HYPOXIC TRAINING

L.V. Panina

LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY BY DANYLO HALYTSKY

Summary

Functional-metabolic activity of liver, heart, brain mitochondria and blood under sodium nitrite influence were studied. Parameters of free-radical homeostasis in high- and low-resistant to hypoxia rats under given conditions with previous application of amaranth oil and interval hypoxic training were measured. Obtained results showed the variety of reactions, connected with lipid peroxidation and antioxidative activity system. Preventive application of both protective factors in high-resistant rats according to the changes of free-radical homeostasis provides higher quality of adaptive reactions in all researched organs, comparing with low-resistant animals.

KEY WORDS: haemic hypoxia, amaranth oil, interval hypoxic training, free-radical homeostasis, blood, liver, heart, brain, mitochondria.

Отримано 11.06.2008 р.

Адреса для листування: Л.В. Паніна, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів, Україна.

ПРОТИЗАПАЛЬНА АКТИВНІСТЬ 5-R₁-4-R₂-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОНІВ ТА ЇХ S-ПОХІДНИХ

А.Г. Каплаушенко, О.І. Панасенко, Є.Г. Книш, О.О. Свінтозельський, Б.А. Самура¹
 ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
 НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ¹, ХАРКІВ

Вивчено протизапальну активність 5-R₁-4-R₂-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх тіопохідних. Встановлено закономірності відносно будови досліджених сполук і показників їх протизапальної активності.

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

ВСТУП. Відомо, що на основі 1,2,4-тріазолу останнім часом синтезовано велику кількість нових 3-тіо і 4-амінопохідних [3, 4], серед яких виявлено сполуки, що мають високі показники фармакологічної активності. Також слід відзначити, що похідні 1,2,4-тріазол-3-тіону і 4-аміно-1,2,4-тріазолу є нетоксичними або малотоксичними речовинами [2, 4]. Нами [1] зроблено узагальнення відносно залежності протизапальної активності речовин, синтезованих останнім часом, від їх будови. Спираючись на досвід попередніх досліджень, з метою створення нових оригінальних лікарських препаратів нами синтезовано ряд 5-R₁-4-R₂-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх тіопохідних [3], для яких на одному з перших етапів фармакологічного скринінгу досліджено гостру токсичність [2] і вивчено протизапальну активність.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на кафедрі клінічної фармакології і фармації Запорізького державного медичного університету і кафедрі фармакотерапії Національного фармацевтичного університету.

Протизапальну активність синтезованих сполук вивчали на експериментальних моделях ексудативного асептичного запалення. Ексудативне асептичне запалення викликали у білих пацюків лінії Вістар шляхом введення під апоневроз долонної поверхні задніх кінцівок розчину формаліну. Реєстрацію набряку здійснювали волюметричним методом. Об'єм кінцівки вимірювали на 5-й год після

введення агента, що викликав запальну реакцію. Досліджувану речовину вводили в дозі 1/10 від ЛД₅₀ [2] одноразово за 2 год до ін'єкції формаліну. Контролем слугували інтактні тварини і пацюки, в шлунок яких за годину до введення формаліну вводили бутадіон або індометацин. Водонерозчинні сполуки стабілізували твіном-80 і вводили через металевий зонд у шлунок. Спостереження проводили через 24 год. Результати наведено в таблицях 1-6.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. На протизапальну активність 5-R₁-4-R₂-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх S-похідних значною мірою впливають як наявність і характер замісників по ядру 1,2,4-тріазолу, так і природа замісників по атому сірки при С₃-атомі 1,2,4-тріазолового циклу.

Як ми і сподівались [1], 1,2,4-тріазол-3-тіони є сполуками, що не мають високих показників протизапальної активності, але нами встановлено деякі закономірності між будовою цих сполук і досліджуваною дією. Щодо протизапальної активності 5-R₁-4-R₂-1,2,4-тріазол-3-тіонів (Ia-е, табл. 1) слід відзначити, що заміна метильного радикала при четвертому атомі нітрогену 1,2,4-тріазолового кільця (тіон Ia) на фенільну групу (сполука Ib) призводить до зниження протизапальної активності. Подальше моделювання структури 4-феніл-1,2,4-тріазол-3-тіону (Iб) – введення атома бром у четверте положення ядра бензолу, що з'єднаний з N₄-атомом ядра 1,2,4-тріазолу (сполука Iв), надалі знижує досліджувану дію. Введення 2-метокси-фенільного замісника (тіон Iг) практично не впливає на зміну показників протизапальної

© А.Г. Каплаушенко, О.І. Панасенко, Є.Г. Книш, О.О. Свінтозельський, Б.А. Самура, 2008.

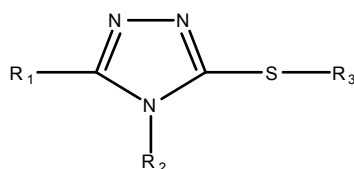
активності. Введення в п'яте положення 1,2,4-тріазолового циклу 4-нітрофенільного, 4-амінофенільного або 4-піридинового замісників (тіони Ід-к) призводить до підвищення протизапальної дії синтезованих сполук.

Алкілювання 4-феніл-1,2,4-тріазол-3-тіону (Іб) етил бромідом супроводжується зниженням протизапальної активності (сполука ІІб), натомість введення по атому сірки 1,2,4-тріазол-3-тіонів (Іа, б, г-є, і, к) залишків ізопентану, октану чи декану (речовини ІІа, в-ж, див. табл. 1) значно підвищує протизапальну дію сполук. При цьому слід припустити, що збільшення числа вуглецевих атомів алкільного радикала у 3-алкілтіо-1,2,4-тріазолів при-

зводить до підвищення досліджуваної фармакологічної дії сполук даного ряду.

Введення по атому сірки 1,2,4-тріазол-3-тіонів залишків 2- і 4-нітробензолу, а також 2,4-динітробензолу, 1-метил-4-нітроімідазолу зумовлює значне підвищення протизапальної активності отриманих 3-арилтіо-1,2,4-тріазолів (ІІІа-д, див. табл. 1) і 3-гетерилтіо-4- R_2 -5- R_1 -1,2,4-тріазолів (ІІІж, і-к, див. табл. 1). Натомість гетерилювання тіону Іа 2-хлорпіридином і 2-етокси-6-нітро-9-хлоракридином знижує протизапальні властивості отриманих сполук (ІІІє, з). Найбільш активною сполукою серед тіонів І, 3-алкілтіо-1,2,4-тріазолів ІІ і 3-арил(гетерил)тіо-1,2,4-тріазолів ІІІ є 3-(2,4-динітрофенілтіо)-

Таблиця 1 – Результати протизапальної активності 5- R_1 -4- R_2 -1,2,4-тріазол-3-тіонів (І), 5- R_1 -4- R_2 -3-алкілтіо-1,2,4-тріазолів (ІІ), 5- R_1 -4- R_2 -3-арилтіо-1,2,4-тріазолів (ІІІа-д), 5- R_1 -4- R_2 -3-гетерилтіо-1,2,4-тріазолів (ІІІе-л)

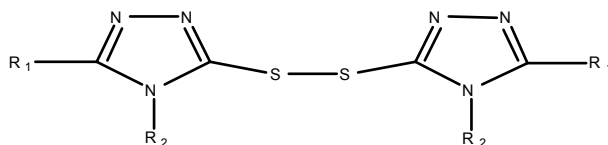


№ сполук	R_1	R_2	R_3	% активност і
Бугадіон				54,1
Індометацін				46,6
Іа	H	CH ₃	H	25,9
Іб	H	C ₆ H ₅	H	17,8
Ів	H	C ₆ H ₄ Br-4	H	14,5
Іг	H	C ₆ H ₄ OCH ₃ -2	H	18,4
Ід	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₆ H ₅	H	22,4
Іє	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₆ H ₄ OCH ₃ -2	H	22,4
Іж	C ₆ H ₄ NH ₂ -4	C ₆ H ₅	H	19,7
Із	C ₆ H ₄ NH ₂ -4	C ₆ H ₄ OCH ₃ -2	H	19,7
Іі	C ₅ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ OCH ₃ -2	H	25,9
Ік	C ₅ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ Br-4	H	16,7
ІІа	H	CH ₃	C ₈ H ₁₇	47,7
ІІб	H	C ₆ H ₅	C ₂ H ₅	15,7
ІІв	H	C ₆ H ₅	C ₁₀ H ₂₁	18,8
ІІг	H	C ₆ H ₄ OCH ₃ -2	C ₈ H ₁₇	30,7
ІІд	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₆ H ₅	C ₅ H ₁₁ -і	22,4
ІІє	C ₅ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ OCH ₃ -2	C ₈ H ₁₇	39,3
ІІж	C ₅ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ Br-4	C ₈ H ₁₇	36,5
ІІІа	H	C ₆ H ₅	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	40,9
ІІІб	C ₅ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ OCH ₃ -2	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	48,7
ІІІв	C ₅ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ OCH ₃ -2	C ₆ H ₄ NO ₂ -2	44,7
ІІІг	C ₅ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ OCH ₃ -2	C ₆ H ₃ (NO ₂) ₂ -2,4	60,0
ІІІд	H	C ₆ H ₄ Br-4	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	41,2
ІІІє	H	CH ₃	C ₅ H ₄ N-2	16,5
ІІІж	H	CH ₃	1-метил-4-нітро-імідазоліл-5	51,5
ІІІз	H	CH ₃	2-етокси-6-нітроакридинил-9	20,9
ІІІі	H	C ₆ H ₅	1-метил-4-нітро-імідазоліл-5	28,2
ІІІк	C ₅ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ OCH ₃ -2	1-метил-4-нітро-імідазоліл-5	49,4
ІІІл	C ₅ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ Br-4	1-метил-4-нітро-імідазоліл-5	22,8

4-(2-метоксифеніл)-5-(4-піридил)-1,2,4-тріазол IIIг, що перевищує за своєю протизапальною дією активність еталонів порівняння і може бути основою для створення нового лікарського засобу.

Окиснення 5- R_1 -4- R_2 -1,2,4-тріазол-3-тіонів до відповідних 5-[(1,2,4-тріазол-3-іл)дисульфаніл]-1,2,4-тріазолів (IVа-д, табл. 2) не створює передумов для отримання протизапальних засобів.

Таблиця 2 – Результати протизапальної активності 5-[(1,2,4-тріазол-3-іл)дисульфаніл]-1,2,4-тріазолів (IV)

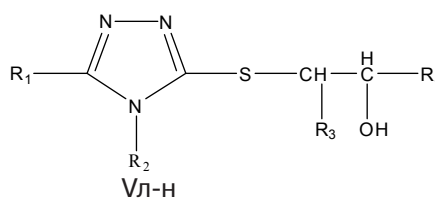
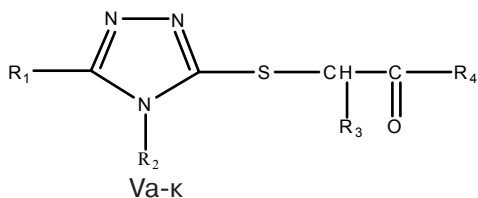


№ сполук	R_1	R_2	% активності
IVа	H	CH ₃	21,8
IVб	H	C ₆ H ₄ OCH ₃ -2	15,9
IVв	C ₅ H ₄ N-2	C ₆ H ₅	18,2
IVг	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	16,6
IVд	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₆ H ₄ OCH ₃ -2	11,5

Перехід до 3-ацилалкілтіо-1,2,4-тріазолів Va-к (табл. 3) призводить до появи сполук з досить високими показниками протизапальної активності. Так, 2-(4- R_1 -5- R_2 -1,2,4-тріазол-3-ілітіо)-1- R_3 -2- R_4 -етанони (Ve, ж, і) за своєю активністю перебувають на рівні чи перевищують дію індометацину, а етанони (Va, к) активніші за бутадіон. Закономірності “будова-дія” відносно наявності й характеру замісників по ядру 1,2,4-тріазолу в етанонів IIIа-к аналогічні тим, що виявлені у тіонів I.

Чітких закономірностей між протизапальною активністю і будовою при відновленні 2-(4- R_1 -5- R_2 -1,2,4-тріазол-3-ілітіо)-1- R_3 -2- R_4 -етанонів (Vб, г, ж) до 2-(4- R_1 -5- R_2 -1,2,4-тріазол-3-ілітіо)-етанолів (Vл-н, див. табл. 3) не виявлено.

Таблиця 3 – Результати протизапальної активності 2-(4- R_1 -5- R_2 -1,2,4-тріазол-3-ілітіо)-1- R_3 -2- R_4 -етанонів (Va-к), 2-(4- R_1 -5- R_2 -1,2,4-тріазол-3-ілітіо)-1- R_3 -2- R_4 -етанолів (Vл-н)



№ сполук	R_1	R_2	R_3	R_4	% активності
Vа	H	CH ₃	H	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	57,7
Vб	H	CH ₃	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	44,9
Vв	H	C ₆ H ₅	H	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	38,2
Vг	H	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	39,5
Vд	H	C ₆ H ₄ Br-4	H	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	42,0
Vе	H	C ₆ H ₄ Br-4	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	45,7
Vж	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	47,7
Vз	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₆ H ₅	H	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	42,9
Vi	C ₅ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ Br-4	H	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	49,4
Vк	C ₅ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ OCH ₃ -2	H	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	59,0
Vл	H	C ₆ H ₅	H	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	42,1
Vм	H	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	36,8
Vн	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	46,2

Взаємодія 4- R_2 -5- R_1 -1,2,4-тріазол-3-тіонів (Iа, б, г, д, і) з хлорацетатною кислотою – перехід до 2-(4- R_2 -5- R_1 -1,2,4-тріазол-3-ілітіо)-ацетатних кислот (VIа-є, табл. 4) у всіх випадках

супроводжується підвищенням протизапальної активності отриманих кислот.

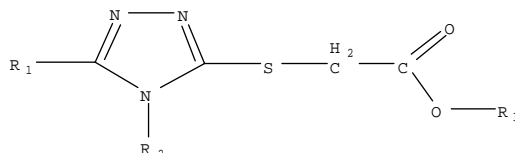
Етерифікація кислот (VIб, д, є) метиловим (естери VIIа, д, див. табл. 4) чи етиловим (спо-

лука VIIж, див. табл. 4) спиртами завжди призводить до підвищення протизапальної активності. Збільшення числа атомів вуглецю в залишку спирту одержаних естерів знижує протизапальну активність сполук (VIIб, г, д, з, див. табл. 4). Амідні кислот (VIII, див. табл. 4) мають помірну протизапальну активність.

Протизапальна активність солей 1,2,4-тріазол-3-ілтїоацетатних кислот перебуває в ме-

жах 21-55 %. При цьому солі з органічними основами (IXа, б, г-є, з, і, м-о) активніші, ніж натрієві (IXв, ж, к) чи кальцієва (IXл) солі. Найбільшу активність серед солей IX має трибутил-амоній 4-метил-1,2,4-тріазол-3-ілтїоацетат (IXб), що активніший за бутадіон. Перевагою даної сполуки над 3-(2,4-динітрофенілтїо)4-(2-метоксифеніл)-5-(4-піридил)-1,2,4-тріазолом IIIг є розчинність даної солі у воді.

Таблиця 4 – Результати протизапальної активності 2-(4-R₂-5-R₁-1,2,4-тріазол-3-ілтїо)-ацетатних кислот (VI), їх естерів (VII), амідів (VIII) і солей (IX)



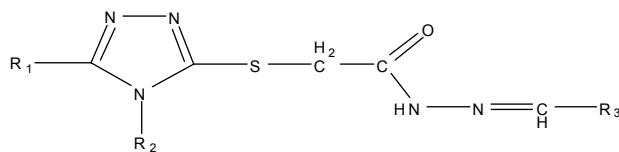
№ сполук	R ₁	R ₂	R ₃	% активності
VIa	H	CH ₃	H	44,2
VIб	H	C ₆ H ₅	H	34,9
VIв	H	C ₆ H ₄ OCH ₃ -2	H	34,4
VIг	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₆ H ₅	H	48,3
VIд	C ₅ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ CH ₃ -2	H	48,3
VIє	C ₅ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ OCH ₃ -2	H	34,8
VIIa	H	C ₆ H ₅	CH ₃	39,5
VIIб	H	C ₆ H ₅	C ₄ H ₉ -i	31,4
VIIв	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₆ H ₅	CH ₃	47,7
VIIг	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₆ H ₅	C ₄ H ₉	40,5
VIIд	C ₅ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ CH ₃ -2	CH ₃	50,5
VIIє	C ₅ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ CH ₃ -2	C ₅ H ₁₁	45,9
VIIж	C ₅ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ OCH ₃ -2	C ₂ H ₅	45,1
VIIз	C ₅ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ OCH ₃ -2	C ₄ H ₉	41,2
VIIIa	H	CH ₃	NH ₂	36,5
VIIIб	H	C ₆ H ₄ Br-4	NH ₂	29,3
VIIIв	H	C ₆ H ₄ OCH ₃ -2	NH ₂	37,0
VIIIг	C ₅ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ Br-4	NH ₂	27,1
IXа	H	CH ₃	морфоліній	50,2
IXб	H	CH ₃	трибутил-амоній	55,0
IXв	H	C ₆ H ₅	Na	41,5
IXг	H	C ₆ H ₅	піперидиній	33,7
IXд	H	C ₆ H ₅	трибутиламоній	44,3
IXє	H	C ₆ H ₅	морфоліній	35,9
IXж	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₆ H ₅	Na	31,5
IXз	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₆ H ₅	морфоліній	49,9
IXі	C ₅ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ CH ₃ -2	морфоліній	50,5
IXк	C ₅ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ OCH ₃ -2	Na	47,4
IXл	C ₅ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ OCH ₃ -2	Ca	21,1
IXм	C ₅ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ OCH ₃ -2	трибутиламоній	49,0
IXн	C ₅ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ OCH ₃ -2	морфоліній	51,2
IXо	C ₅ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ OCH ₃ -2	піперидиній	40,5

Реакція утворення гідразидів 2-(5-R₁-4-R₂-1,2,4-тріазол-3-ілтїо)-ацетатних кислот (Ха-г, табл. 5), на відміну від синтезу солей і естерів, супроводжується значним зниженням протизапальної активності. Подальша конденсація гідразидів з альдегідами (4-хлор-, 4-нітробензальдегіди, 2-метоксibenзальдегід і 4-диметиламінобензальдегід) призводить до

підвищення досліджуваної дії отриманих сполук (Хг-з, див. табл. 5).

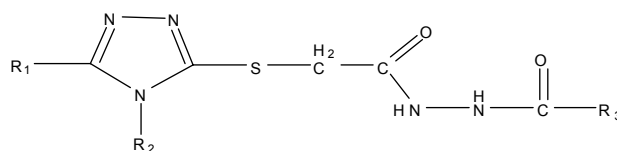
Перехід від гідразидів до діацилгідразидів 2-(4-R₁-5-R₂-1,2,4-тріазол-3-ілтїо)-ацетатних кислот (XIа-є, табл. 6) не приводить до появи сполук з невисокими показниками протизапальної активності. При цьому показники протизапальної активності всіх отрима-

Таблиця 5 – Результати протизапальної активності гідразидів (Ха-в) і бензиліденгідразидів (Хг-з) 2-(1,2,4-тріазол-3-ілтіо)-ацетатних кислот



№ сполук	R ₁	R ₂	R ₃	% активності
Ха	H	C ₆ H ₅	H	11,8
Хб	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₆ H ₅	H	9,2
Хв	C ₆ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ OCH ₃ -2	H	15,2
Хг	H	C ₆ H ₅	C ₆ H ₄ Cl-4	18,8
Хд	H	C ₆ H ₅	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	27,7
Хе	H	C ₆ H ₅	C ₆ H ₄ OCH ₃ -2	22,4
Хж	C ₆ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ CH ₃ -2	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	30,3
Хз	C ₆ H ₄ N-4	C ₆ H ₄ CH ₃ -2	C ₆ H ₄ N(CH ₃) ₂	29,2

Таблиця 6 – Результати протизапальної активності діацилгідразидів 2-(4-R₁-5-R₂-4Н-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)-ацетатних кислот (ХІ)



№ сполук	R ₁	R ₂	R ₃	% активності
ХІа	H	H	C ₆ H ₄ N-4	11,4
ХІб	CH ₃	H	C ₆ H ₄ N-4	7,3
ХІв	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	H	CH ₃	14,5
ХІг	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	H	C ₆ H ₅	11,8
ХІд	2-фуріл	H	CH ₃	17,5
ХІе	C ₆ H ₄ N-2	H	C ₆ H ₄ N-4	9,2

них діацилгідразидів формули ХІ перебувають практично на одному рівні.

Циклізація 2-(5-R₁-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)-етанонів V і 2-(5-R₁-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)-ацетатних кислот VI до, відповідно, 2-R₁-6-R₂-тіазоло(3,2-в)-1,2,4-тріазолів чи 5-іліден-2-R₁-тіазоло-(3,2-в)-1,2,4-тріазол-6-онів призводить до різкого зниження протизапальної активності.

ЛІТЕРАТУРА

1. Каплаушенко А.Г. Будова та протизапальна активність аміно- і тіопохідних 1,2,4-тріазолу // Запороз. мед. журн. – 2007. – № 6/2007(45). – С. 120-124.

2. Каплаушенко А.Г., Панасенко О.І., Книш Є.Г. та ін. Гостра токсичність 5-R-4-R₁-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх S-похідних // Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики. – 2007. – № 20. – С. 70-78.

ВИСНОВОК. Досліджено протизапальну активність 99 сполук – 1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх тіопохідних, серед яких виявлено сполуки, що перевищують активність індометацину і бутадіону при формаліновій моделі ексудативного запалення. Встановлено закономірності відносно будови речовин даного класу і досліджуваної активності.

3. Каплаушенко А.Г., Панасенко О.І., Книш Є.Г. та ін. Пошук біологічно активних сполук серед 4-моно та 4,5-дизаміщених 1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх S-похідних // Фармац. часопис. – 2007. – № 1. – С. 32-35.

4. Панасенко О.І. Синтез, перетворення, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних 1,2,4-тріазолу: Дис. ... д-ра фармац. наук. – К., 2005. – 396 с.

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ 5-R₁-4-R₂-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТИОНОВ И ИХ S-ПРОИЗВОДНЫХ

А.Г. Каплаушенко, А.И. Панасенко, Е.Г. Кныш, А.А. Свинтозельский, Б.А. Самура¹
ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ¹, ХАРЬКОВ

Резюме

Изучена противовоспалительная активность 5-R₁-4-R₂-1,2,4-триазол-3-тионов и их тиопроизводных. Установлены закономерности относительно строения исследованных соединений и показателей их противовоспалительной активности.

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

ANTIINFLAMMATORY ACTIVITY OF 5-R₁-4-R₂-1,2,4-TRIAZOL-3-THIONS AND THEIR S-DERIVATIVES

А.Н. Kaplaushenko, О.І. Panasenko, Ye.G. Knysh, О.О. Svintozelsky, В.А. Samura¹
ZAPORIZHYAN STATE MEDICAL UNIVERSITY
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY¹, KHARKIV

Summary

Antiinflammatory activity of 5-R₁-4-R₂-1,2,4-triazol-3-thions and their thio-derivatives has been studied. Regularities concerning the structure of investigated compounds and parameters of their anti-inflammatory activity have been established.

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

Отримано 31.03.2008 р.

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

ІМУНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ В ПАТОГЕНЕЗІ УРАЖЕННЯ ПОРОЖНЬОЇ КИШКИ ПРИ ОТРУЄННІ БЛІДОЮ ПОГАНКОЮ ЗАЛЕЖНО ВІД ВЕГЕТАТИВНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ ОРГАНІЗМУ

Л.Т. Котляренко, М.С. Гнатюк

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

За допомогою комплексу імуноморфологічних методів виявлено, що отруєння організму експериментальних тварин токсинами блідої поганки супроводжувалося деструктивними, інфільтративними процесами, порушенням локального імунного гомеостазу порожньої кишки. Встановлено істотне зниження SIg A, незбалансоване зменшення плазматичних клітин з Ig A та збільшення плазмоцитів з Ig M, Ig G, Ig E, що вказувало на порушення імунного захисного бар'єру слизової оболонки досліджуваного органа в даних патологічних умовах і залежало від тривалості дії токсинів блідої поганки та особливостей вегетативної регуляції організму.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: білі щури, порожня кишка, локальні імунні реакції, автономна нервова система, бліда поганка.

ВСТУП. Отруєння шапковими дикорослими грибами продовжують залишатися актуальною проблемою токсикології протягом багатьох років [6, 11]. Згідно з класифікацією катастрофальних отрут Інституту фармакології та токсикології АМН України, отрути вищих грибів належать до типу отрут біологічного походження і несуть ризик масових отруєнь з чітким сезонним характером [10]. Причиною отруєнь блідою поганкою є отрута, що містить фалотоксини та аматоксини [7], які швидко всмоктуються і призводять до складних морфологічних та імуноморфологічних змін у внутрішніх органах і системах [1, 3]. Водночас слід зауважити, що розвиток пристосувально-компенсаторних реакцій організму залежить від типу автономної нервової системи (АНС), якій належить важлива роль у підтримці гомеостазу [2], й при проведенні імуноморфологічних досліджень необхідно враховувати ці особливості, оскільки вони тією чи іншою мірою можуть впливати на формування клінічного синдрому й визначати лікувальну тактику.

Тому метою даної роботи було встановити взаємозалежні зв'язки між функціональним станом вегетативної регуляції організму й особливостями ураження порожньої кишки токсинами блідої поганки, що дасть можливість розширити і поглибити знання про патогенетичні механізми цих отруєнь з урахуванням вегетативного гомеостазу організму.

© Л.Т. Котляренко, М.С. Гнатюк, 2008.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Комплексом морфологічних, імуногістохімічних методів досліджено зміни в порожній кишці 156 білих ставевозрілих щурів-самців, які були поділені на дві групи. 1-ша група (контрольна) нараховувала 49 практично здорових експериментальних тварин, яких утримували у звичайних умовах віварію, 2-га – 107 щурів, отруєних блідою поганкою (53 з них виведені з дослідження через 24 год після інтоксикації; 54 – через 48 год від його початку). Всі втручання та забій проводили з дотриманням загальних етичних принципів експериментів на тваринах.

Щурів отруювали шляхом внутрішньоочеревинного введення екстрактів блідої поганки, отриманих за методом Wieland у нашій модифікації [8], яка полягала в тому, що ураження порожньої кишки токсинами блідої поганки моделювали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням екстракту цього гриба в дозі ЛД₅₀. За результатами аналізу пульсограм ми отримали можливість виділити в експериментальних тварин групи із симпатичним, парасимпатичним і врівноваженим типами вегетативної регуляції серцевої діяльності, що стало основою поділу цих тварин на підгрупи в усіх серіях експерименту й контролі [5, 9].

Для виявлення плазматичних клітин з Ig A, Ig M, Ig G, Ig E мікротомні зрізи досліджуваної частини тонкої кишки обробляли моноспецифічними антисироватками проти вказаних класів імуноглобулінів, кон'югованими з ізотіоціанатом флюоресцеїну, застосовуючи прямий

метод Кунса з відповідними контролями, які вивчали за допомогою люмінесцентного мікроскопа "Люмам Р-8". У люмінесцентному світлі підраховували плазматичні клітини, що давали специфічне світіння, на 1 мм² слизової оболонки досліджуваного органа [4]. Визначення секреторного Ig A у слизовій оболонці порожньої кишки проводили методом роздільної імунодифузії в агарі зі специфічною сироваткою проти SIg A [8, 9]. Отриманий при виконанні імуноморфологічних досліджень матеріал обробляли методом варіаційної статистики з визначенням середньої арифметичної величини, похибки середньої арифметичної величини, критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У ході аналізу представлених даних (табл. 1) виявлено, що у слизовій оболонці неураженої порожньої кишки локалізовані плазматичні клітини з Ig A, Ig M, Ig G, Ig E. При цьому найбільше зустрічалося плазмоцитів з Ig A, дещо менше – з Ig M та Ig G і найменше – з Ig E. У змодельованих умовах патології встановлено, що у слизовій оболонці ураженого досліджуваного органа кількість плазматичних клітин з Ig A, Ig M, Ig G, Ig E суттєво змінювалася ($p < 0,05-0,001$).

Так, число клітин з Ig A в уражених тварин з врівноваженим типом вегетативної регуляції після першої доби стало меншим на 8,53 %, а через 48 год після інтоксикації – ще на 16,10 %. Число клітин-продуцентів з Ig M зростало у 2,79 раза, Ig G – у 4,11 раза, Ig E – в 1,17 раза після 24 год отруєння порівняно з контрольною групою, а через 48 год Ig M зростало в 3,22 раза, Ig G – у 4,98 раза, Ig E – в 1,70 раза. Незбалансоване зменшення плазматичних клітин з Ig A та збільшення з Ig M, Ig G, Ig E вказують на те, що при отруєнні організму токсинами блідої поганки у порожній кишці виникають напруження та нестабільність місцевих імунних реакцій.

Локальні імунні реакції найбільш порушеними були у дослідних тварин-симпатикотоніків. Інтенсивне збільшення числа імуноцитів з Ig M, Ig G, Ig E свідчило про їх гіперпродукцію, тобто гіперфункцію названих клітин. За даних патологічних умов у білих щурів з домінуванням симпатичних впливів АНС у слизовій оболонці порожньої кишки число клітин-продуцентів з Ig M зростало в 2,85 раза, Ig G – у 4,21 раза, Ig E – в 1,18 раза після 24 год отруєння порівняно з контрольною групою, а через 48 год Ig M зростало в 3,34 раза, Ig G – у 5,10 раза, Ig E – в 1,74 раза.

Таблиця 1 – Імуноморфологічні показники порожньої кишки білих щурів ($M \pm m$, $n=156$)

Показник	Врівноважений тип вегетативної регуляції організму			Переважаючі парасимпатичні впливи АНС			Домінування симпатичних впливів АНС		
	контроль	виведені з експерименту після отруєння через		контроль	виведені з експерименту після отруєння через		контроль	виведені з експерименту після отруєння через	
		24 год	48 год		24 год	48 год		24 год	48 год
Плазматичні клітини з Ig A	229,80 ± 5,10	210,20 ± 4,80*	173,20 ± 4,70**	240,10 ± 4,90	226,90 ± 3,70*	192,10 ± 4,20**	218,30 ± 5,60	179,10 ± 4,20**	163,70 ± 4,10***
Плазматичні клітини з Ig M	115,10 ± 2,40	320,80 ± 7,20***	370,90 ± 7,50**	119,10 ± 2,60	303,70 ± 6,90***	369,21 ± 7,10**	111,80 ± 2,70	318,60 ± 6,70**	373,50 ± 6,40***
Плазматичні клітини з Ig G	58,30 ± 1,50	239,60 ± 6,60***	290,30 ± 7,20**	62,20 ± 1,80	245,70 ± 5,80***	279,90 ± 6,80**	54,30 ± 1,60	228,60 ± 5,60**	276,90 ± 6,10***
Плазматичні клітини з Ig E	17,50 ± 0,18	20,40 ± 0,24***	29,80 ± 0,21***	17,80 ± 0,15	19,55 ± 0,19***	29,37 ± 0,23**	17,24 ± 0,21	20,35 ± 0,18**	29,95 ± 0,21***

Примітка. * – величини, що статистично достовірно відрізняються від аналогічних у контрольній групі; * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Відомо, що посилена тривала гіперфункція може призводити до виснаження гіперфункціонуючих структурних елементів та істотного зниження адаптаційних резервів імунних локальних процесів слизової оболонки досліджуваного органа. Сказане підтверджувалося

зменшенням числа плазматичних клітин з Ig A та концентрацій SIg A (рис. 1) в слизовій оболонці досліджуваної частини тонкої кишки під дією токсинів блідої поганки, яким належить забезпечення першої лінії захисту слизових оболонок від агресивної дії різних антигенів.

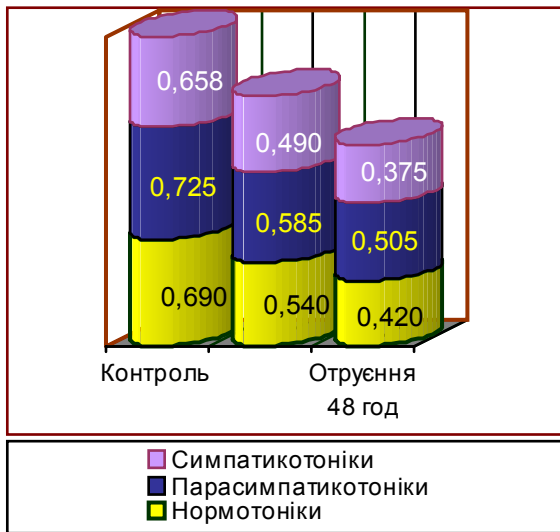


Рис. 1. Концентрація SIg A у слизовій оболонці порожньої кишки (г/л).

Так, концентрація SIg A в слизовій оболонці порожньої кишки білих щурів з переважанням парасимпатичних впливів АНС знижувалася з $(0,725 \pm 0,016)$ до $(0,585 \pm 0,020)$ г/л за першу добу спостереження й до $(0,505 \pm 0,022)$ г/л за другу добу отруєння. Відмінності між даними показниками виявилися статистично достовірними ($p < 0,001$) порівняно з аналогічним показником у контрольній групі й, відповідно, були меншими на 19,31 і 30,35 %. Аналогічні зміни спостерігалися при дослідженні слизової оболонки ураженої порожньої кишки білих щурів з домінуванням симпатичних впливів АНС, які були нижчими на 25,53 і 43,01 % ($p < 0,01-0,001$) порівняно з аналогічним показником у контрольній групі, а також у тварин-нормотоніків – були меншими на 21,74 і 39,13 % відповідно.

Результати проведеного дослідження свідчать про те, що в умовах змодельованої

патології локальні імунні процеси у порожній кишці були суттєво зміненими. При цьому відмічалися не тільки напруження та активація місцевих імунних механізмів, але й певні ознаки дисфункції місцевого імунного гомеостазу слизової оболонки досліджуваної частини тонкої кишки. Нами встановлено, що зміни локальних імунних реакцій у дослідних білих щурів статистично достовірно переважали при домінуванні симпатичних впливів автономної нервової системи, особливо через дві доби після отруєння, а найменшими ці зміни були у тварин-парасимпатикотоніків. Спостерігалася також кореляція ступеня порушень місцевих імунних реакцій з глибиною, поширеністю деструктивних, інфільтративних процесів і судинних розладів у стінці ураженої порожньої кишки, що свідчило про важливу роль місцевих імунних реакцій в розвитку змодельованого патологічного процесу.

ВИСНОВОК. При отруєнні організму блідою поганкою в слизовій оболонці порожньої кишки зменшувалася кількість імуноморфологічних структур, які не могли повноцінно підтримати порядок і стабільність місцевого імунного гомеостазу й захистити її від пошкоджувальних факторів. Виявлені зміни свідчили про те, що локальний імунний захист слизової оболонки у змодельованих умовах патології перебував у стані невизначеності, дезорганізації та нестабільності. Кореляція цих змін з локальними імунними реакціями вказує на важливу роль у захисті слизових оболонок та морфогенез адаптаційно-компенсаторних процесів досліджуваних органів при їх ураженні, що є перспективними при подальшому їх вивченні.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бойчук Б.Р. Отруєння грибами (етіологія, патогенез, клініка, диференціальна діагностика, лікування і профілактика). – Тернопіль: Укрмедкнига, 1997. – 200 с.
2. Гнатюк М.С., Виклюк Л.Т. Особливості локальних імунних реакцій у частинах тонкої кишки при отруєнні блідою поганкою експериментальних тварин // Науковий вісник Львівської державної академії ветеринарної медицини ім. С.З. Гжицького. – 2002. – 4 (№ 2), Ч. 5. – С. 130-136.
3. Діордійчук В.В. Токсикологічні чинники грибного походження в Буковинському регіоні // Все-

укр. наук.-практ. конф. "Проблеми діагностики, профілактики та лікування екзогенних та ендогенних інтоксикацій". – Чернівці, 2004. – С. 5-7.

4. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. – Одесса: Астропринт, 1999. – 604 с.

5. Кирячков Ю.Ю., Хмелевский Я.М., Воронцова Е.В. Компьютерный анализ variability сердечного ритма: методики, интерпретация, клиническое применение // Анестезиология и реаниматология. – 2000. – № 2. – С. 56-62.

6. Литко С.Б. Гігієнічні основи профілактики отруєнь дикорослими грибами: Автореф. дис. ... канд.

мед. наук: 14.02.01. Донецьк. держ. мед. ун-т. – Донецьк, 2001. – 23 с.

7. Молдаван М.Г., Гродзинская А.А. Общетокическое и нейротропное действие базидиальных грибов родов *Amanita* и *Psilocybe* // Современные проблемы токсикологии. – 2002. – № 2. – С. 15-21.

8. Пат. 55691 А Україна, МКИ 7 G09B23/28. Спосіб моделювання уражень тонкої кишки токсинами блідої поганки / Гнатюк М.С., Виклюк Л.Т.; заявник і патентовласник Тернопіл. держ. мед. університет імені І.Я. Горбачевського. – № 2002043509; Заявл. 26.04.02; Опубл. 15.04.03; Бюл. № 4.

9. Попов А.С., Иноземцев А.В., Журова А.А. Методические аспекты определения функционального состояния вегетативной нервной системы пациентов в медицине // Анестезиология и реаниматология. – 2004. – № 3. – С. 75-78.

10. Храпак В.В. Природно-географічна та соціальна обумовленість ризику уражень отрутами біологічного походження // Современные проблемы токсикологии. – 1999. – № 2. – С. 12-16.

11. Smith J.F. Mushroom poisoning / <http://www.chclibrary.org> 2005.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ ПОРАЖЕНИЯ ТОЩЕЙ КИШКИ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ БЛЕДНОЙ ПОГАНКОЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЕГЕТАТИВНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ОРГАНИЗМА

Л.Т. Котляренко, М.С. Гнатюк

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

С помощью комплекса иммуноморфологических методов выявлено, что отравление организма экспериментальных животных токсинами бледной поганки сопровождалось деструктивными, инфильтративными процессами, нарушением местного иммунного гомеостаза тощей кишки. Установлено существенное снижение *Slg A*, небалансированное уменьшение плазматических клеток с *Ig A* и увеличение плазматочитов с *Ig M*, *Ig G*, *Ig E*, что указывало на нарушения иммунного защитного барьера слизистой оболочки исследуемого органа в данных патологических условиях и зависело от времени действия токсинов бледной поганки и особенностей вегетативной регуляции организма.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: белые крысы, тощая кишка, локальные иммунные реакции, автономная нервная система, бледная поганка.

IMMUNOLOGICAL ASPECTS IN PATHOGENESIS OF JEJUNUM AFFECTIONS UNDER AMANITA PHALLOIDES POISONING DEPENDING ON VEGETATIVE REGULATION OF ORGANISM

L.T. Kotlyarenko, M.S. Hnatyuk

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

It was established by the complex of immunomorphological methods that poisoning of experimental animals with *Amanita phalloides* toxins is accompanied with destructive and infiltrative processes and abnormalities of jejunum local immune homeostasis. Experiments have shown substantial decrease of *Slg A*, an imbalance of plasmocytes with *Ig A*, *Ig M*, *Ig G*, *Ig E*, that indicates the impairment of immune protective barrier of mucous membrane of organ under investigation at given pathological conditions, which depended on time of action of *Amanita phalloides* toxins and features of vegetative regulation of organism.

KEY WORDS: white rats, jejunum, local immune reactions, autonomic nervous system, *Amanita phalloides*.

Отримано 21.11.2008 р.

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

ВПЛИВ РЕАКЦІЇ СЕРЕДОВИЩА ТА РЕЖИМУ СТЕРИЛІЗАЦІЇ НА ЗМІНУ рН І СВІТЛОПРОПУСКАННЯ У ПОЛІОННОМУ ІНФУЗІЙНОМУ РОЗЧИНІ

Р.С. Коритнюк, Т.А. Борисенко

НАЦІОНАЛЬНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ ІМЕНІ П.Л. ШУПИКА

У статті проаналізовано вплив реакції середовища та режиму стерилізації на ступінь деструкції глюкози. Зміщення вихідного рН розчинів від 4,92 до 6,48 призводить до посилення процесів термодеструкції глюкози та зниження коефіцієнта світлопропускання розчинів після стерилізації. Використання режиму стерилізації 120°C 15 хв погіршує показники якості досліджуваного розчину порівняно з менш жорстким режимом (110°C 30 хв) та посилює вплив на них вихідного значення рН.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: інфузійний розчин, глюкоза, малат-іони, реакція середовища, коефіцієнт світлопропускання.

ВСТУП. Інфузійно-трансфузійна терапія посідає одне з провідних місць в комплексному лікуванні хворих: у багатопрофільних стаціонарах її потребують близько 30-40 % пацієнтів та до 80 % потерпілих в аваріях та катастрофах [4]. Одним із важливих показників організму є кислотно-лужний стан. Постійність реакції середовища зовнішньоклітинної рідини підтримується, головним чином, за допомогою гідрокарбонатного буфера. Тому ідеальним методом відновлення кислотно-лужної рівноваги в організмі є введення гідрокарбонат-іонів [3, 6]. Однак виготовлення стабільних полііонних розчинів, які містять гідрокарбонат натрію, супроводжується значними технологічними труднощами [2]. Разом із тим, введення значних об'ємів розчину, який не містить фізіологічного буфера, може призводити до виникнення ацидозу розведення. Для попередження такого ускладнення інфузійної терапії, а також для лікування ацидозу, до складу комплексних інфузійних розчинів вводять аніони, які метаболізуються з утворенням гідрокарбонат-іонів. Це дозволяє вирішити і технологічні питання. З метою заміщення гідрокарбонат-іонів можуть використовуватися аніони таких органічних кислот: оцтової, молочної, глюконової, яблучної та лимонної [8].

Створення полііонних інфузійних розчинів потребує вирішення цілої низки технологічних

питань. До складу збалансованих інфузійних розчинів, окрім електролітів, входять енергетичні субстрати, зокрема глюкоза або інші вуглеводи, та органічні кислоти у ролі буферних агентів – попередників гідрокарбонат-іонів. У процесі термічної стерилізації таких розчинів глюкоза піддається різноманітним хімічним перетворенням, в результаті яких утворюються токсичні для організму людини сполуки [10]. Процеси деструкції глюкози досить добре описані в літературі [7, 9, 10]. Розклад глюкози є складним процесом, який супроводжується рядом послідовних і паралельних реакцій, які перебігають одночасно та конкурують між собою. За умов стерилізації в складі інфузійних розчинів основними продуктами термодеструкції глюкози є 5-оксиметилфурфурол (5-ОМФ) та його попередники – діоксигексазони [10]. В розчинах, що містять одночасно глюкозу та малат-іони, виявлено ацетальдегід [1]. Однак в доступній літературі ми не знайшли даних про особливості деструкції глюкози при одночасній присутності ацетат- і малат-іонів.

Метою нашого дослідження було створення полііонного інфузійного розчину з енергетичним субстратом та фізіологічним буфером (ацетат- і малат-іони). Одним із основних завдань при розробці технології інфузійних розчинів з енергетичними субстратами є створення оптимальних умов (рН, режим стерилізації, підбір стабілізаторів, газового захисту) для по-

передження деструкції глюкози під час стерилізації розчинів та їх подальшого зберігання.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для вивчення впливу рН та режиму стерилізації в полііонному інфузійному розчині, до складу якого входять катіони натрію, калію, кальцію, магнію, хлорид-ацетат-, малат-іони, а також глюкоза в концентрації 5,0 г/100 мл, нами було виготовлено чотири серії розчину, в яких додаванням 1 М розчину натрію гідроксиду встановлювали необхідне значення рН – 4,92; 5,46; 5,92; 6,48. Такий діапазон рН для дослідження обрали, враховуючи вимоги фізіологічності цього показника в інфузійних розчинах. Розчини розливали у пляшки по 200 мл, укупорювали пробками та алюмінієвими ковпачками під обкатку. Кожну серію ділили на дві частини, одну стерилізували при 110 °С 30 хв (режим I), іншу – при 120 °С 15 хв (режим II). Реакцію середовища розчинів до та після стерилізації визначали за допомогою рН-метра “рН-150” виробництва Республіки Білорусь. Коефіцієнт світлопропускання визначали на фотоколориметрі КФК-2 в кюветі з товщиною шару 1 см.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Показник зміни рН після стерилізації в ін'єкційних розчинах відображає процеси, які відбуваються в розчині під час теплової стерилізації, та взаємодію між лікарською формою і тарозакупорювальними засобами. Реакція середовища для інфузійних розчинів є важливим показником, оскільки нефізіологічне рН розчину може спричинити побічні явища при введенні препарату. Для розчинів, що містять глюкозу, характерне зміщення рН після стерилізації в кислий бік. Величина зміни рН відображає інтенсивність розкладу глюкози та утворення органічних кислот [5, 7, 9, 10].

В нашому випадку при використанні в ролі лужного агента малату натрію, після стерилізації реакція середовища у розчинах з рН 4,92-6,48 зміщувалася в лужний бік, тобто збільшувалася порівняно з вихідною. У серіях розчинів з рН 6,48, які стерилізували при 120 °С 15 хв (режим II), після стерилізації реакція середовища зменшувалася порівняно з вихідною (про що свідчить від'ємне значення величини зміни рН).

Отримані результати збігаються з даними літератури [5, 7, 9, 10], які вказують на зниження рН розчинів глюкози після стерилізації внаслідок утворення органічних кислот, кількість яких збільшується зі зміщенням ви-

хідного рН в лужний бік та підвищенням температури стерилізації. Причина зміщення рН досліджуваних розчинів у лужний бік в розчинах, що містять глюкозу, ацетат- і малат-іони, потребує подальшого вивчення.

Розглянемо вплив вихідного значення рН на інтенсивність та характер зміни рН після стерилізації. Як бачимо на рисунку 1, з підвищен-

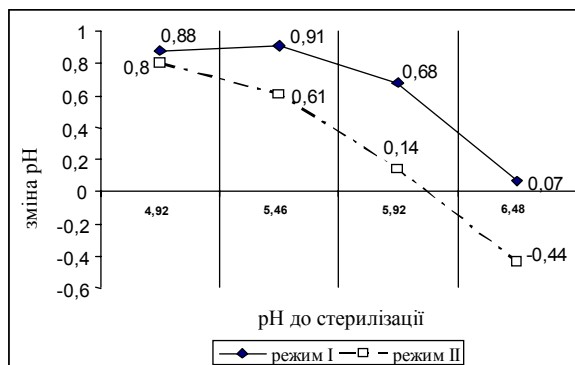


Рис. 1. Зміна рН залежно від режиму стерилізації.

ням вихідного значення рН розчину в лужний бік інтенсивність олушення розчину після стерилізації при обох режимах зменшується, що є наслідком утворення більшої кількості органічних кислот внаслідок деструкції глюкози.

Режим стерилізації суттєво впливає на зміну рН розчинів. Так, при використанні режиму стерилізації 110 °С 30 хв (режим I) інтенсивність олушення розчину досягає мінімуму в серії з вихідним значенням рН 6,48. У разі використання II режиму стерилізації (120 °С 15 хв) мінімальний зсув рН розчинів після стерилізації в лужний бік спостерігається вже при вихідному рН 5,92. Подальше підвищення рН до 6,48 спричиняє зсув рН після стерилізації в кислий бік. Можна припустити, що за цих умов утворюється значна кількість органічних кислот, яка нейтралізує олушення розчину.

Крім того, як видно на рисунку 1, збільшення вихідного рН сприяє посиленню впливу режиму стерилізації на зміну рН. Так, при вихідному значенні рН 4,92 різниця між значеннями зміни рН за I та II режиму стерилізації незначна і складає близько 0,08. Подальше підвищення вихідного рН призводить до збільшення відмінності між змінами рН за різних режимів стерилізації. Так, при вихідному рН 5,46 ця різниця вже становить 0,30, а при рН 5,92 і 6,48 досягає значення близько 0,55.

Таким чином, на основі викладеного вище можна зробити висновок, що на інтенсивність та характер зміни рН розчинів після стерилі-

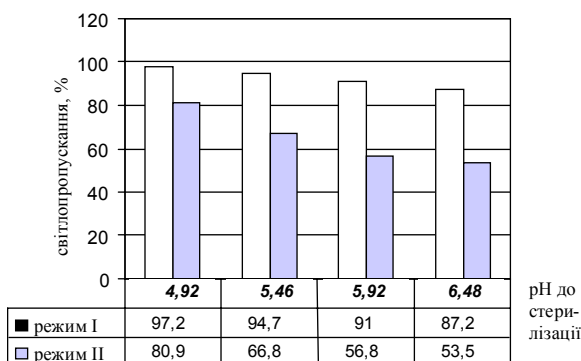


Рис. 2. Вплив рН та режиму стерилізації на світлопропускання розчинів.

Примітка. До стерилізації коефіцієнт світлопропускання розчинів усіх серій становив 100 %.

зації значний вплив має як вихідне значення рН розчину, так і режим стерилізації.

Одним із показників, за якими оцінюють якість інфузійних розчинів, є коефіцієнт світлопропускання. Як бачимо на рисунку 2, у всіх серіях розчинів зі збільшенням вихідного значення рН коефіцієнт світлопропускання розчинів після стерилізації зменшується.

Значний вплив на досліджуваний показник чинить режим стерилізації – розчини, які стерилізували при 110 °С 30 хв (режим I), мають значно кращі показники коефіцієнта світлопропускання. За умови використання I режиму стерилізації підвищення рН розчинів від 4,92 до 6,48 призводить до зниження коефіцієнта світлопропускання на 10 %, тоді як

при використанні II режиму цей показник зменшується майже на 30 %. Порівняння впливу режиму стерилізації на коефіцієнт світлопропускання при певній реакції середовища розчину вказує на його посилення з підвищенням вихідного значення рН. Різниця між значеннями світлопропускання для I та II режимів стерилізації збільшується зі зростанням вихідного значення рН.

Отже, на основі аналізу експериментальних даних залежності коефіцієнта світлопропускання від реакції середовища та режиму стерилізації можна зробити висновок, що використання жорсткого режиму стерилізації (120 °С 15 хв) призводить до його зниження порівняно з I режимом та посилює вплив вихідного рН розчину на зміну коефіцієнта світлопропускання розчинів після стерилізації. Найкращі показники коефіцієнта світлопропускання мають розчини з вихідним рН від 4,92 до 5,46, які були простерилізовані при 110 °С 30 хв.

ВИСНОВКИ. Зміщення вихідного рН розчинів у лужний бік призводить до зменшення зміни рН після стерилізації в лужний бік та зниження коефіцієнта світлопропускання розчинів після стерилізації. Використання режиму стерилізації 120 °С 15 хв погіршує показники якості досліджуваного розчину порівняно з менш жорстким режимом (110 °С 30 хв) та посилює вплив на них вихідного значення рН.

ЛІТЕРАТУРА

1. Горн М.М., Хейтц У.И., Сверинген П.Л. при участии Вебер К.С. Водно-электролитный и кислотно-основный баланс (краткое руководство): Пер. с англ. – С.Пб. – М.: Невский Диалект – Издательство БИНОМ, 2000. – 320 с.
2. Гудзь Н.І., Коритнюк Р.С., Мусянович В.М., Гульга В.С. Деякі технологічні аспекти полііонного препарату для перитонеального діалізу // Фармац. журн. – 2001. – № 3. – С. 79-82.
3. Застосування препарату “Сорбілакт” при невідкладних станах // Методичні рекомендації. – К., 2005. – 32 с.
4. Коритнюк Р.С., Борзунов Є.Є., Мохамед Гамаль Шафіф, Торхова Т.В. Процеси розкладу в полііонних розчинах з енергетичними субстратами // Фармац. журн. – 1990. – № 1. – С. 31-34.
5. Пат. US2005/0100615A1, МПК А61К 31/70; А61К 31/19; А61К 33/14. Process for controlling water and

- electrolyte balance and acid-base equilibrium in human body / Hidehiro Yamazaki, Shizuoka (JP). – Заявка № 10/665,373. – Заявл. 22.09.2003; Опубл. 12.05.2005.
6. Терешкина О.И., Исаева И.В. Исследование продуктов термодеструкции глюкозы в модельных растворах // Фармация. – 1991. – **40**, № 6. – С. 24-28.
7. Титова А.В., Терешкина О.И., Исаева И.В. Пути деструкции глюкозы // Фармация. – 1988. – **34**, № 4. – С. 84-88.
8. Торхова Т.В., Коритнюк Р.С., Борзунов Є.Є. Вивчення сумісності в деяких прописках інфузійних розчинів // Фармац. журн. – 1989. – № 3. – С. 35-37.
9. Zander R.. Fluid Management. – Medizinische Verlagsgesellschaft mbH, Melsungen 2006. – 71 p.
10. Zimmeck T., Tauer A., Fuenfrocken M., Pischetsrieder M. // Perit. Dial. Int. – 2002. – № 3. – P. 350-356.

ВЛИЯНИЕ РЕАКЦИИ СРЕДЫ И РЕЖИМА СТЕРИЛИЗАЦИИ НА ИЗМЕНЕНИЕ pH И СВЕТОПРОПУСКАНИЯ В ПОЛИИОННОМ ИНФУЗИОННОМ РАСТВОРЕ

Р.С. Корытнюк, Т.А. Борисенко
НАЦИОНАЛЬНАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
ИМЕНИ П.Л. ШУПИКА

Резюме

В статье проанализировано влияние реакции среды и режима стерилизации на степень деструкции глюкозы. Смещение исходного pH растворов от 4,92 до 6,48 приводит к усилению процессов термодеструкции глюкозы и снижению коэффициента светопропускания растворов после стерилизации. Использование режима стерилизации 120 °C 15 мин ухудшает показатели качества исследуемого раствора по сравнению с менее жестким режимом (110 °C 30 мин) и усиливает влияние на них исходного значения pH.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: инфузионный раствор, глюкоза, малат-ионы, реакция среды, коэффициент светопропускания.

INFLUENCE OF MEDIUM REACTION AND STERILIZATION CONDITIONS ON CHANGE OF pH AND TRANSPARENCY COEFFICIENT IN POLYIONIC INFUSION SOLUTION

R.S. Korytniuk, T.A. Borysenko
NATIONAL MEDICAL ACADEMY OF POST-GRADUATE EDUCATION BY P.L. SHUPYK

Summary

The influence of medium pH and sterilization conditions on the level of glucose destruction was analyzed in this article. The displacement of initial pH from 4,92 to 6,48 leads to increase of glucose thermodestruction and decrease of transparency coefficient in solutions after sterilization. Usage of sterilization regimen 120 °C for 15 minutes worsens quality indexes of investigated solution in comparison with less severe sterilization regimen (110 °C for 30 minutes and increases the influence of starting pH on them.

KEY WORDS: infusion solution, glucose, malate-ions, medium reaction, transparency coefficient.

Отримано 24.10.2008 р.

Адреса для листування: Р.С. Коритнюк, вул. Дорогожицька 9, Київ, 04112, Україна.

АМІНОКИСЛОТНИЙ ТА МІНЕРАЛЬНИЙ СКЛАД FRAGARIA VESCA L.

С.О. Мамедова, І.О. Журавель, О.І. Павлій
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Вивчено амінокислотний склад суниці лісової. У результаті дослідження ідентифіковано 17 зв'язаних та 17 вільних амінокислот і встановлено їх кількісний вміст. Також було вивчено елементний склад суниці. Ідентифіковано та встановлено кількісний вміст 15 елементів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: суниця лісова, амінокислоти, макро- та мікроелементи.

ВСТУП. Багатий хімічний склад *Fragaria vesca* L. робить її цінним лікувально-профілактичним засобом. Рослина містить у великій кількості вітамін С, органічні кислоти, дубильні речовини, гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, які обумовлюють її діуретичну та протизапальну активності; пектинові речовини, полісахариди, які проявляють імуностимулювальну дію та покращують процес травлення [3]. Амінокислоти та мінеральні речовини, що містяться в суниці, також відіграють важливу роль в життєдіяльності людини, беручи участь в обмінних процесах, регулюючи водно-сольовий баланс, підтримуючи ріст кісткової та сполучної тканин [4]. Наприклад: кислота глутамінова бере участь в енергетичному, пластичному, ліпідному обмінах, є колектором небілкового азоту, задіяна в синтезі замінних амінокислот та інших біологічно активних сполук [6]. Разом з аргініном вона має антиоксидантні та гепатопротекторні властивості, а також проявляє мембраностабілізуючий ефект. Аланін та гліцин регулюють рівень цукру в крові, беруть участь в регенерації тканин. Серин забезпечує запаси глікогену в печінці та м'язах; він також важливий для процесів обміну жирів [5]. Аспарагінова кислота проявляє імуномодулюючий ефект, стимулює фізичну витривалість, нормалізує баланс збудження та гальмування в центральній нервовій системі. Препарати на основі аспарагінової кислоти мають антиаритмічну дію та застосовуються при серцево-судинних захворюваннях [1].

Недостатність в організмі деяких мінеральних речовин може призвести до серйозних порушень здоров'я людини. Наприклад: калій бере участь у внутрішньоклітинному обміні, ре-

гулюванні водно-електролітного балансу; кальцій є складовою кісткової тканини, бере участь у процесах передачі нервово-м'язового збудження та обміні речовин; магній є незамінною складовою кісток та зубів, регулює роботу нервової системи; кремній бере участь у формуванні епітеліальної та сполучної тканин, стимулює ріст нігтів та волосся [2].

Тому метою нашої роботи було дослідити мінеральний та амінокислотний склад суниці лісової для вивчення можливості використання цієї рослини в розробці вітчизняних фітозасобів та харчових продуктів спеціального призначення.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Сировиною для нашого дослідження були трава та кореневище суниці лісової, які заготовляли на території Харківської області в 2007 році.

Амінокислотний аналіз. Якісний та кількісний аналіз вільних і зв'язаних амінокислот у досліджуваній сировині здійснювали за допомогою амінокислотного аналізатора T339M Mikrotechna-Praha [2]. Для цього наважки (100 мг) розчиняли у спирті та вміщували у реакційну посудину об'ємом 50 мл, додавали рівну кількість концентрованої хлористоводневої кислоти, продуваючи азотом для видалення повітря, закривали герметично притертою пробкою і ставили у термостат з температурою нагріву 120 °С на 24 год.

Потім пробу фільтрували, переносили до фарфорової чашки, в якій розчин упарювали у струмі азоту до видалення хлористоводневої кислоти та встановлення рН розчину в межах 1,6-2,0.

Після цього пробу ще раз фільтрували крізь паперовий фільтр і доводили розчином їдконого натру до рН 2,2. До амінокислотного аналізатора вносили 50 мкл проби.

Якісний аналіз проводили шляхом порівнювання часу виходу відомих стандартних амінокислот з амінокислотами у пробі. Кількісне визначення амінокислот (C, мкг) у пробах здійснювали за формулою: $C = \frac{C_1 \cdot S}{S_1}$,

де C_1 – концентрація амінокислот у стандарті; S – площа піку амінокислоти в пробі; S_1 – площа піку амінокислоти в стандарті.

Результати вивчення амінокислотного складу наведено в таблицях 1 та 2.

Таблиця 1 – Вміст вільних та зв'язаних амінокислот у траві суниці лісової

№ з/п	Амінокислоти	Вільні амінокислоти		Зв'язані амінокислоти	
		мкм/100 мг	мг/100 мг	мкм/100 мг	мг/100 мг
1	Аспарагін	3,5	0,46	4,5	0,6
2	Треонін	0,5	0,06	2,5	0,3
3	Серин	1,8	0,2	2,5	0,262
4	Глутамінова кислота	1	0,147	1	0,147
5	Пролін	0,2	0,023	1,8	0,2
6	Цистин	сліди	сліди	сліди	сліди
7	Гліцин	0,4	0,03	4,2	0,315
8	Аланін	0,2	0,018	3,8	0,338
9	Валін	0,5	0,06	2,5	0,3
10	Метіонін	0,8	0,12	1,7	0,25
11	Ізолейцин	0,6	0,08	2	0,26
12	Лейцин	0,1	0,013	3,5	0,46
13	Тирозин	0,2	0,038	2,3	0,4
14	Фенілаланін	0,2	0,033	3	0,5
15	Гістидин	0,5	0,077	1,1	0,17
16	Лізін	0,8	0,12	2	0,3
17	Аргінін	1,5	0,26	2,5	0,435

Таблиця 2 – Вміст вільних та зв'язаних амінокислот у кореневищі суниці лісової

№ з/п	Амінокислоти	Вільні амінокислоти		Зв'язані амінокислоти	
		мкм/100 мг	мг/100 мг	мкм/100 мг	мг/100 мг
1	Аспарагін	2,25	0,3	2,4	0,32
2	Треонін	–	–	1,3	0,155
3	Серин	0,4	0,042	2,2	0,23
4	Глутамінова кислота	0,1	0,015	2,4	0,35
5	Пролін	0,3	0,035	3,2	0,37
6	Цистин	–	–	сліди	сліди
7	Гліцин	0,6	0,045	2,8	0,21
8	Аланін	0,55	0,03	2,1	0,187
9	Валін	–	–	0,96	0,112
10	Метіонін	0,17	0,025	0,15	0,23
11	Ізолейцин	0,1	0,013	0,45	0,06
12	Лейцин	0,07	0,01	0,53	0,07
13	Тирозин	0,13	0,023	0,27	0,05
14	Фенілаланін	0,12	0,02	0,24	0,04
15	Гістидин	0,23	0,035	0,45	0,07
16	Лізін	1	0,14	1,8	0,26
17	Аргінін	1,2	0,2	2,4	0,42

Мінеральний склад. Для вивчення елементного складу суниці лісової був використаний атомно-емісійний спектрографічний метод з фотографічною реєстрацією [2].

Підготовка проби до аналізу полягала в обережному обвуглюванні сировини при нагріванні в муфельній печі (температура не більша 500 °С) з попередньою обробкою проб

розведеною сірчаною кислотою. Випаровування проб проводили з кратерів графітових електродів у розряді дуги перемінного струму (джерело збудження спектрів типу ИВС-28) при силі струму 16 А й експозиції 60°с. Для одержання спектрів та їх реєстрації на фотопластинках використовували спектрограф ДФС-8 з дифракційною решіткою 600 штр/мм і трилінзовою системою висвітлення щілини. Інтенсивність ліній у спектрах аналізованих проб і градувальних зразків (ГЗ) вимірювали за допомогою мікрофотометра МФ-1.

Дотримувалися таких умов фотографування спектрів: сила струму дуги перемінного струму – 16 А, фаза підпалу – 60°, частота підпалювальних імпульсів – 100 розрядів за секунду; аналітичний проміжок – 2 мм; ширина щілини спектрографа – 0,015 мм; експозиція – 60 с. Спектри фотографували в межах 230-330 нм.

Фотопластинки проявляли, сушили, потім фотометрували наступні лінії (нм) у спектрах проб і ГЗ, а також фон біля них.

Що стосується кожного елемента, то за результатами фотометрування розраховува-

ли різниці почорніння лінії і фону ($S = S_{л+ф} - S_{ф}$) для спектрів проб ($S_{пр}$) і ГЗ ($S_{ГЗ}$). Потім будували градувальний графік у координатах: середнє значення різниці почорніння лінії і фону ($S_{ГЗ}$) – логарифм вмісту елемента в ГЗ ($lg C$), де C виражено у відсотках до основи.

За цим графіком визначали вміст елемента в золі (a , %). Вміст елемента в рослинному матеріалі (x , %) знаходили за формулою:

$$x = \frac{a \cdot m}{M}$$

де m – маса золи (г); M – маса си-

ровини (г); a – вміст елемента в золі (%). При аналізі враховували нижні межі вмісту домішок, які складають: для Cu – $1 \cdot 10^{-4}$; Co , Cr , Mo , Mn , V – $2 \cdot 10^{-4}$; Ag , Ga , Ge , Ni , Pb , Sn , Ti – $5 \cdot 10^{-4}$; Sr , Zn – $1 \cdot 10^{-2}$ %. Результати аналізу мінерального складу наведено в таблиці 3.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У результаті дослідження амінокислотного складу в траві та кореневищі суниці лісової встановлено наявність 17 вільних та 17 зв'язаних амінокислот (табл. 1 та 2), з яких 9 є незамінними (треонін,

Таблиця 3 – Результати аналізу мінерального складу трави та кореневищ суниці лісової

№ з/п	Вміст елемента, мг/100 г	Зразок	
		Трава суниці	Кореневище суниці
1	Fe	70	190
2	Si	460	1000
3	Al	50	130
4	Mn	5	15
5	Mg	270	380
6	Pb	<0,03	0,2
7	Mo	0,05	0,1
8	P	130	210
9	K	2310	1880
10	Ni	0,15	0,2
11	Ca	660	1880
12	Cu	0,4	1
13	Zn	5	10
14	Na	120	190
15	Sr	8	10

Примітка. $Co < 0,03$; $Cd < 0,001$; $As < 0,001$; $Hg < 0,001$.

лізин, лейцин, валін, ізолейцин, гістидин, метіонін, фенілаланін, аргінін). Визначено, що в амінокислотному складі домінує аспарагін.

У результаті вивчення мінерального складу трави та кореневища *Fragaria vesca* L. встановлено наявність 15 елементів (табл. 3). В усіх досліджуваних органах суниці домінують кремній, кальцій, магній та калій.

ВИСНОВКИ. 1. Вперше вивчено амінокислотний та мінеральний склад суниці лісової, що росте на території України.

2. Ідентифіковано 17 вільних та 17 зв'язаних амінокислот і встановлено їх кількісний вміст.

3. Визначено наявність 15 елементів, встановлено їх кількісний вміст.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бегунова Н.В., Алмакаева Л.Г. Разработка состава и технологии инфузионного препарата кардиотонического действия на основе солей кислоты аспарагиновой // Фармаком. – 2004. – № 3. – С. 56-61.
2. Кошовий О.Н., Комісаренко А.М. Амінокислотний та мінеральний склад екстрактів з листя евкаліпту // Фармаком. – 2004. – № 4. – С. 57-61.
3. Кьосев П.А. Полный справочник лекарственных растений. – М.: ЭКСМО – Пресс, 2001. – 992 с.
4. Мартынюк С.Н. Медиаторные аминокислоты-нейрорегуляторы // Провизор. – 2007. – № 2. – С. 30-33.
5. Парфенов А.А., Фурса Н.С. Аминокислоты травы пустырника пятилопастного // Фармация. – 2007. – № 7. – С. 6-7.
6. Туманов В.А., Горчакова Н.О., Тимченко О.Г. та ін. Вплив кислоти глютамінової, глутаргіну, глутоксиму на працездатність та процеси перекисного окиснення ліпідів в експерименті // Ліки України. – 2004. – № 5,6. – С. 24.

АМИНОКИСЛОТНЫЙ И МИНЕРАЛЬНЫЙ СОСТАВ FRAGARIA VESCA L.

С.А. Мамедова, И.А. Журавель, А.И. Павлий
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Изучен аминокислотный состав земляники лесной. В результате исследования было идентифицировано 17 связанных и 17 свободных аминокислот и установлен их количественный состав. Также был изучен элементный состав земляники. Идентифицировано и установлено количественное содержание 15 элементов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: земляника лесная, аминокислоты, макро- и микроэлементы.

AMINO ACID AND MENIRAL COMPOSITION OF FRAGARIA VESCA L.

S.O. Mamedova, I.O. Zhuravel, O.I. Pavliy
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

Summary

Amino acid composition of Fragaria vesca L. has been studied. As a result of the experiment 17 free and 17 combined amino acids have been identified and their quantities have been revealed. Element composition of strawberry has been studied too. 15 elements have been identified and their quantities have been determined.

KEY WORDS: strawberry, amino acids, macro- and microelements.

Отримано 29.09.2008 р.

Адреса для листування: С.О. Мамедова, вул. Космічна, 47, кв. 80, Харків, 61145, Україна.

ВМІСТ ЦИТОЛІТИЧНИХ ФЕРМЕНТІВ У ПЛАЗМІ КРОВІ БІЛИХ ЩУРІВ ПРИ ПАРАЦЕТАМОЛОВОМУ ГЕПАТИТІ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

М.І. Коваль, О.С. Покотило, Т.Я. Ярошенко
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Встановлено зростання активності маркерів цитолізу гепатоцитів аланінамінотрансферази (АлАТ), аспаратамінотрансферази (АсАТ), а також лужної фосфатази (ЛФ) та показника тимолової проби у плазмі крові 12-місячних білих щурів-самців з гострим парацетамоловим гепатитом. Згодовування біологічно активної харчової добавки (БАД) "Альфа+омега" білим щурам перед моделюванням парацетамолового гепатиту і після нього знижує активність АлАТ, АсАТ, ЛФ у плазмі їх крові, що свідчить про цитопротекторну дію даної БАД.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: парацетамол, гепатит, поліненасичені жирні кислоти, щури, ферменти цитолізу.

ВСТУП. Враховуючи роль печінки в метаболізмі хімічних речовин, можна априорно стверджувати, що не існує ліків, які за певних умов не викликали б її ураження. Безперервно зростаюча кількість повідомлень про гепатотоксичну дію багатьох лікарських препаратів свідчить про те, що медикаментозні ураження печінки стають однією з найважливіших проблем гепатології [6]. Незважаючи на постійне декларування високої безпечності парацетамолу, який вже більше ніж 30 років широко використовується в різних країнах світу як, в першу чергу, ефективний гіпотермічний і анагетичний лікарський засіб, наприклад, тільки у Великобританії ця речовина стає причиною приблизно 70 тис. випадків самоотруєнь, досить часто навмисних, причому тенденції до зниження даного показника не спостерігається [11, 15]. За цим показником парацетамол лідирує серед інших лікарських препаратів.

Аналіз даних літератури свідчить про те, що не лише передозування парацетамолу, але й застосування його в терапевтичних дозах протягом тривалого часу, використання хворими на діабет, гепатити різної етіології, алкоголізм, а також за умов незбалансованості харчування, тривалого контакту з органічними розчинниками в промисловості та побуті призводять до гострого ураження печінки [8].

Токсичні ефекти парацетамолу тісно асоційовані з особливостями його біотрансформації – зокрема, з утворенням високореактивного інтермедіату N-ацетил-пара-бензохідро-

міну (NPAХI), супероксидного радикала [8] та здатністю парацетамолу і його метаболіту NPAХI стимулювати клітини Купфера – продуценти оксиду азоту, надмірна кількість якого є потужним пошкоджуючим фактором [12].

Як антидоти при отруєнні парацетамолом використовують попередники біосинтезу глутатіону – N-ацетилцистеїн і метіонін [9, 13]. Недоліками даних препаратів є обмеженість термінів їх використання (протягом 10-12 год після отруєння) та виконання детоксуючої дії лише в межах II фази метаболізму. Це вимагає пошуку засобів з поліфункціональними властивостями, тобто здатних запобігати утворенню реактивних метаболітів, сприяти глутатіонзалежній кон'югації та проявляти антиоксидантну та цитопротекторну активність.

Літературні дані свідчать про те, що ряд речовин (вітамін Е, селеніт натрію) [7], а також поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК) родини омега-3 [10, 16] здатні справляти комплексний коригуючий вплив на окремі ланки патогенезу токсичної дії парацетамолу.

На базі ННІ фармакології, гігієни та медичної біохімії імені М.П. Скакуна Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського розроблено і запатентовано біологічно активну добавку (БАД) "Альфа+омега" [5], до складу якої входять ПНЖК родини ω-3 риб'ячого жиру і лляної олії, вітаміни А та Е, мікроелементи Zn і Se.

Метою даної роботи було вивчення цитопротекторної дії БАД "Альфа+омега" при парацетамоловому гепатиті у білих щурів.

© М.І. Коваль, О.С. Покотило, Т.Я. Ярошенко, 2008.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на 30-ти безпородних білих 12-місячних щурах-самцях масою 350-380 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Методом рандомізації щурів поділили на 5 груп по 6 тварин у кожній: 1-ша група – інтактні тварини; 2-5 групи – тварини з гострим парацетамоловим гепатитом. Щурам 3-ї та 4-ї груп вводили БАД “Альфа+омега”, відповідно, 7 днів до та 7 днів після моделювання парацетамолового гепатиту. Тваринам 5-ї групи БАД “Альфа+омега” вводили 7 днів до та 7 днів після моделювання гострого гепатиту.

Парацетамол щурам вводили через зонд у шлунок у дозі 1250 мг/кг ($0,5 LD_{50}$) у вигляді суспензії в 2 % розчині крохмального гелю 1 раз на добу протягом 2 діб [1]. БАД “Альфа+омега” також вводили внутрішньошлунково з використанням зонда з розрахунку 0,5 мл/кг маси тіла.

Після завершення досліду тварин декапітували під тиопенталовим наркозом. Для досліджень використовували кров, у плазмі якої визначали активність маркерів пошкодження клітин – аланін- і аспартатамінотрансферази (АлАТ, АсАТ), а також лужної фосфатази (ЛФ), тимолову пробу [2].

Усі досліди на щурах проводили відповідно до Правил використання лабораторних експериментальних тварин [3]. Одержані цифрові дані опрацьовували статистично [4].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У результаті проведених досліджень встановлено, що введення щурам парацетамолу в дозі 1250 мг/кг викликало достовірне підвищення активності АлАТ і АсАТ у плазмі їх крові – у 5 та 2,6 рази відповідно ($p < 0,05$) порівняно з інтактними тваринами. Зростання активності АлАТ і АсАТ в плазмі крові тварин вказує на розвиток цитолітичного процесу в їх печінці: оскільки дані ферменти розташовані в клітинах печінкової паренхіми і при їх некротичному ушкодженні виходять у кров. У щурів контрольної групи з експериментальним гепатитом відмічено підвищення активності ЛФ у 1,8 рази ($p < 0,05$) порівняно з інтактними тваринами, що може бути ознакою розвитку внутрішньопечінкового холестазу. Також відмічено зростання тимолової проби в 3 рази ($p < 0,05$) у тварин з парацетамоловим гепатитом (контрольна група) порівняно з інтактними. Ці дані можна пояснити розвитком запального процесу, що супроводжує ураження паренхіми печінки (рис. 1, 2).

У групі тварин, яким з профілактичною метою протягом 7 днів до моделювання гос-

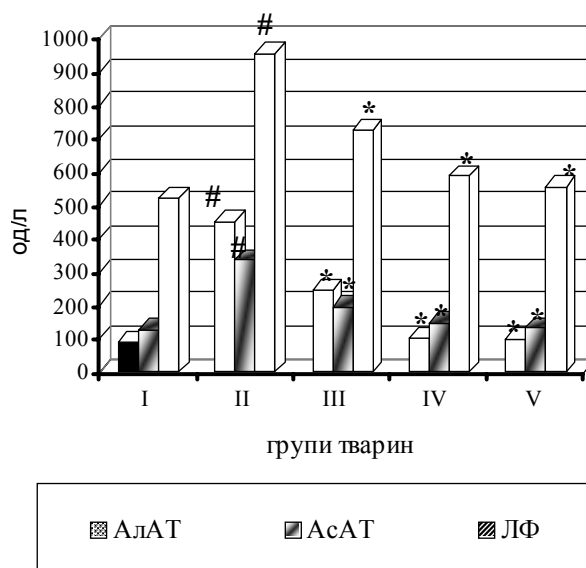


Рис. 1. Активність АлАТ, АсАТ і ЛФ (од./л) у плазмі крові білих щурів.

Примітка. У цьому та наступному рисунку: # – вірогідні відмінності у досліджуваних показниках у плазмі крові щурів 2-ї групи порівняно з їх вмістом у плазмі крові тварин 1-ї групи ($p < 0,05$); * – вірогідні відмінності у досліджуваних показниках у плазмі крові щурів 3-5 груп порівняно з їх вмістом у плазмі крові тварин 2-ї групи ($p < 0,05$).

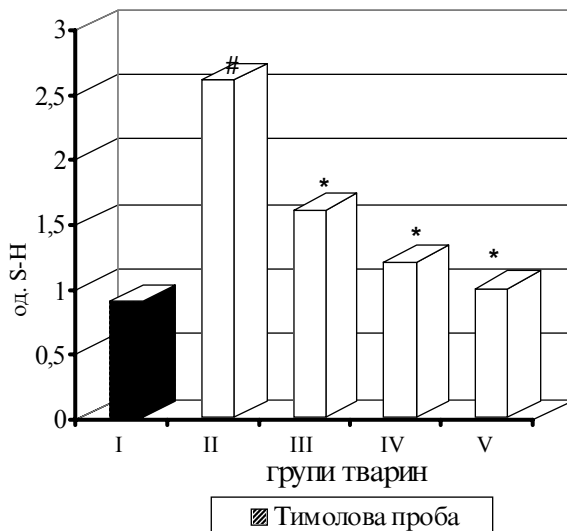


Рис. 2. Тимолова проба (од. S-N) у плазмі крові білих щурів.

трого парацетамолового гепатиту вводили БАД “Альфа+омега”, активність АлАТ, АсАТ, ЛФ та показник тимолової проби зменшились, відповідно, в 1,9, 1,7, 1,3 та 1,6 рази ($p < 0,05$).

При згодовуванні БАД “Альфа+омега” тваринам 4-ї та 5-ї дослідних груп спостерігалось зменшення активності АлАТ, АсАТ, ЛФ і показників тимолової проби практично до норми, що свідчить про відновлення білоксинтезу-

вальної, ферментативної функції печінки, а також про зниження запального процесу.

Таким чином, отримані результати свідчать про цитопротекторну дію наявних у БАД "Альфа+омега" ПНЖК родини ω -3 (ліноленової, ейкозапентаєнової, докозагексаєнової), яка найбільш виражена при введенні даної БАД з лікувальною та, одночасно, профілактичною і лікувальною метою тваринам з парацетамоловим гепатитом. Одержані нами дані узгоджуються з результатами інших дослідників щодо з'ясування ролі ПНЖК при хворобах печінки [16].

ВИСНОВКИ. 1. Парацетамол у дозі 1250 мг/кг викликав гостре токсичне ураження печінки, що супроводжувалося зростанням активності в плазмі крові щурів індикаторів цитолізу, холестази і паренхімального запалення за даними лабораторних досліджень.

2. У групі тварин, яким з профілактичною метою протягом 7 днів до моделювання гострого парацетамолового гепатиту вводили біологічно активну харчову добавку "Альфа+омега", активність АлАТ, АсАТ, ЛФ та показник тимолової проби достовірно зменшувались, відповідно, в 1,9, 1,7, 1,3 та 1,6 раза.

3. Найкращий коригуючий вплив біологічно активна харчова добавка "Альфа+омега" чинила на показники активності АлАТ, АсАТ, ЛФ та тимолової проби у групах тварин, яким її вводили з лікувальною та, одночасно, як з профілактичною, так і з лікувальною метою.

4. Встановлено високі цитопротекторні властивості біологічно активної харчової добавки "Альфа+омега" на моделі гострого парацетамолового гепатиту в білих щурів. Даний препарат може розглядатись як перспективний засіб для попередження гепатотоксичної дії парацетамолу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. О.В. Стефанова. – К.: МОЗ України, Державний фармакологічний центр, 2001. – 527 с.
2. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической и лабораторной диагностике. – М., 2004. – 834 с.
3. Кожем'якін Ю.М., Хромов О.С., Філоненко М.А., Сайфетдінова Г.А. Науково-методичні рекомендації з утримання лабораторних тварин. – К.: Авіцена, 2002. – 156 с.
4. Ланкин Т.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
5. Пат. України № 14794. Біологічно активна харчова добавка "Альфа + Омега" / О.С. Покотило. № 200611181; Заявл. 23.10.2006; Опубл. 10.06.2007, Офіційний бюлетень "Промислова власність", бюл. № 8.
6. Полунина Т.В., Маев И.В. Медикаментозные гепатиты // Фарматека. – 2006. – № 12 (127). – С. 63-71.
7. Шманько В.В. Функционально-биохимическая характеристика пораженной печени парацетамолом и изониазидом и их экспериментальная фармакотерапия: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – К., 1986. – 23 с.
8. Bessems J.G., Vermeulen N.P. Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches // Crit. Rev. Toxicol. – 2001. – № 31. – P. 55-138.
9. Carrasco R., Perez Mateo M., Gutierrez A. et al. Effect of different doses of S-adenosyl-L-methionine on paracetamol hepatotoxicity in a mouse model // Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol. – 2000. – 22 (10). – P. 737-740.
10. Christoph Schmocker, Karsten H. Weylandt, Lena Kahlke et al. Omega-3 fatty acids alleviate chemically induced acute hepatitis by suppression of cytokines // Hepatology. – 2007. – **45**, Issue 4. – P. 864-869.
11. Fagan E., Wannan G. Reducing paracetamol overdoses // BMJ. – 1996. – **313**. – P. 1417-1418.
12. Gardner C.R., Heck D.E. Role of nitric oxide in acetaminophen-induced hepatotoxicity in the rat // Hepatology. – 1998. – 27 (3). – P. 748-754.
13. Jones A.L. Mechanism of action and value of N-acetylcysteine in the treatment of early and late acetaminophen poisoning: a critical review // J. Toxicol. Clin. Toxicol. (United States). – 1998. – 36 (4). – P. 277-285.
14. Prescott L.F. Paracetamol: past, present and future // Am. J. Ther. – 2000. – **7**. – P. 143-147.
15. Robinson D., Smith A.M.J., Johnston G.D. Severity of overdose after restriction of paracetamol availability: retrospective study // BMJ. – 2000. – **321**. – P. 926-927.
16. Sang Lee, Kathleen M. Gura, Mark Puder. Omega-3 fatty acids and liver disease // Hepatology. – 2007. – **45**, Issue 4. – P. 841-845.

СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ПАРАЦЕТАМОЛОВОМ ГЕПАТИТЕ И ИХ КОРРЕКЦИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

М.И. Коваль, О.С. Покотило, Т.Я. Ярошенко

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Установлено возрастание активности маркеров цитолиза гепатоцитов аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспаратаминотрансферазы (АсАТ), а также лужной фосфатазы (ЛФ) и показателя тимоловой пробы в плазме крови 12-месячных белых крыс-самцов с острым парацетамоловым гепатитом. Скармливание биологически активной пищевой добавки (БАД) "Альфа+омега" белым крысам перед моделированием парацетамолового гепатита и после него снижает активность АлАТ, АсАТ, ЛФ в плазме их крови, что свидетельствует о цитопротекторном действии данной БАД.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: парацетамол, гепатит, полиненасыщенные жирные кислоты, крысы, ферменты цитолиза.

CONCENTRATION OF CYTOLYTIC ENZYMES IN BLOOD PLASMA OF WHITE RATS IN CASE OF EXPERIMENTAL PARACETAMOL HEPATITIS AND CORRECTION OF THEIR ACTIVITY

M.I. Koval, O.S. Pokotylo, T.Ya. Yaroshenko

TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

Increasing of activity of hepatocyte cytolysis markers of alaninaminotransferase (AlAT), aspartataminotransferase (AsAT) and alkaline phosphatase (AP) as well as thymol test index in blood plasma of 12-month old white rat males with acute paracemol hepatitis was determined. Introduction of biologically active supplement (BAS) "Alpha+omega" before and after paracemol hepatitis modelling decreased AlAT, AsAT, AP activity in blood plasma, that proved the cytoprotective effect of this BAS.

KEY WORDS: paracetamol, hepatitis, polyunsaturated fatty acids, rats, cytolysis enzymes.

Отримано 23.10.2008 р.

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

МАКРО-І МІКРОЕЛЕМЕНТНИЙ СКЛАД ЛИСТЯ КИЗИЛУ

О.В. Криворучко

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Наведено літературний огляд по хімічному складу й фармакологічним властивостям кизилу (дерену справжнього). Визначено кількісний вміст 19 макро- і мікроелементів у листі кизилу, а також полісахаридному і поліфенольному екстрактах, одержаних із цього виду сировини.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: кизил (дерен справжній), макро- і мікроелементи, полісахаридний та поліфенольний екстракти.

ВСТУП. У флорі України є багато корисних, але недостатньо вивчених рослин. До них належить кизил, або дерен справжній (*Cornus mas L.*), – кущ чи невелике дерево (до 9 м заввишки) родини деренових (*Cornaceae Dumort.*). У дикому стані він поширений в Центральній, Південній та Західній Європі, країнах Південно-Західного СНД, Середній та Східній Азії, на Кавказі. В Україні росте переважно у південно-західній частині Правобережжя, Карпатах, Закарпатті, Криму в підліску дубових і грабових лісів, чагарниках, на узліссях і схилах, берегах річок, часом утворює суцільні зарості. Широко культивується, живе до 250-300 років. Врожай плодів з однієї рослини – до 50-80 кг.

У плодах кизилу виявлені вуглеводи – 5,11-20,85 %: сахароза – 1,07-2,56 %, глюкоза, фруктоза, пектин – 0,63-1,44 %; органічні кислоти – 1,5-4,2 %: яблучна, винна, лимонна, янтарна, гліоксалева; вітаміни: аскорбінова кислота – 50-170 мг%, каротиноїди; ефірна олія; фенолкарбонові кислоти та їх похідні: саліцилова, галова, кофейна, хлорогенова, ферулова; флавоноїди – 1-5 %: катехіни, лейкоантоціани, антоціани: дельфінідин, ціанідин, пеонідин, сальвідин, 3-рамнозилгалактозид і 3-галактозид ціанідину, 3-галактозид дельфінідину, 3-галактозид і 3-робінобіозид пеларгонідину (3-рамнозилгалактозид пеларгонідину); дубильні речовини – 0,13-0,89 %; макро- і мікроелементи: К, Mg, P, Fe, Ca, Na, S, Si.

У насінні є жирна олія – до 34 %; вищі жирні кислоти: пальмітинова, олеїнова, лінолева; дубильні речовини – 8,9 %.

© О.В. Криворучко, 2008.

Листя кизилу містить вуглеводи; іридоїди: секологанін – 0,1 %, корнін (вербеналін); вітаміни: аскорбінову кислоту, токофероли; кофейну і гексагідроксидифенову кислоти, похідні галової та елагової кислот; флавоноїди: кверцетин, кемпферол, процанідин; дубильні речовини – 7-17,6 %.

У квітках виявлені іридоїд корнін; похідні галової та елагової кислот; флавоноїди: рутин, ізокверцитрин, кверцитурон (3-β-глюкуронід кверцетину), кверцетин; у корі – вуглеводи, органічні кислоти, іридоїд корнін, дубильні речовини – до 25 %.

У народній медицині використовують плоди, листя, кору, рідше – квітки і корені кизилу як в'язучий, протицинготний, тонізуючий, протимікробний, протизапальний, жарознижуючий, жовчо- та сечогінний, загальнозміцнюючий, протималярійний засіб. Свіжими або у вигляді відвару плоди кизилу вживають при шлункових крововиливах, цинзі, анеміях, захворюваннях верхніх дихальних шляхів і шлунково-кишкового тракту, порушеннях обміну речовин, для підвищення апетиту. Плоди знижують відчуття спраги при цукровому діабеті. Відвари кори і коренів використовують при малярії, ревматизмі, зовнішньо – при фурункульозі; настій листя – при захворюваннях шкіри, нирок, печінки, а також при діареї; настоянку квіток, сік і настій плодів – при лихоманці. Свіжу кору застосовують у гомеопатії. Плоди кизилу їдять сирими і використовують для приготування соку, компотів, варення, пастили, вина, лікерів, маринадів, приправ тощо [1, 3, 6, 8, 9].

Метою даної роботи було дослідження макро- і мікроелементного складу листя кизилу.

зилу та одержаних з цього виду сировини полісахаридного і поліфенольного екстрактів та подальше їх вивчення. Мінеральні речовини в рослинах представлені макро- і мікроелементами. Вміст макроелементів (K, Na, Ca, Mg, P, Cl) характеризується відносно близькими величинами, а різниця в концентраціях деяких мікроелементів (Fe, Si, Mn, Cu, Zn, Sr, J, Co, Mo, Al та інші) настільки велика, що надає риси хімічної неповторності кожному виду рослини. В етіології багатьох захворювань суттєву роль відіграють порушення в організмі людини мікроелементної рівноваги: встановлено кореляцію між їх дисбалансом і патологічними проявами. Так, наприклад, при анеміях, лейкемії, атеросклерозі, гіпертонічній хворобі, гіпертиреозі, перевтомі й стресі підвищується вміст у крові Zn, але він знижується при хронічних захворюваннях печінки і нирок, а також за наявності пухлин, опіків і при інфаркті міокарда. Недостатнє або надмірне надходження мікроелементів з продуктами харчування і водою може призводити до розвитку в людини тяжких захворювань обміну речовин, названих мікроелементозами. Так, при недостатньому надходженні Zn можливі розвиток карликовості, уповільнення статевого дозрівання, ураження шкіри і слизової оболонки (дерматити, облісіння і паракератози); при надлишку спостерігається розвиток анемії. Нестача J викликає зобну хворобу, а надлишок призводить до послаблення синтезу йодистих сполук у щитоподібній залозі. Різні порушення мікроелементної рівноваги як у результаті захворювання, так і при недостатньому або надмірному їх надходженні зовні потребують корекції, яка може бути здійснена за допомогою фітопрепаратів. Природний рослинний комплекс макро- і мікроелементів пройшов крізь своєрідний біологічний фільтр, тому відзначається найбільш сприятливим для організму співвідношенням основних компонентів. Суттєвою перевагою рослин є те, що мікроелементи в них знаходяться в органічно зв'язаній, тобто найбільш доступній і засвоюваній формі, а також в наборі, який властивий живій природі в цілому. Збагачуватись мікроелементами лікарська сировина може за умов культивування рослин. Наприклад, обробка J наперстянки пурпурової дозволяє підвищити біологічну активність сировини й одночасно знизити її токсичність. Мікроелементи, внесені зовні, активують синтез і накопичення в рослинах біологічно активних речовин. Наприклад, Co активує накопичення фенольних сполук і деяких алкалоїдів, Mn – терпеноїдів [7, 10, 11].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для вивчення макро- і мікроелементного складу сировину заготовляли у липні 2006 р. у Феодосії. Полісахаридний екстракт одержували загальновідомим методом екстракцією водою з подальшим осадженням 96 % етанолом у співвідношенні 1:4, поліфенольний – екстракцією 70 % етанолом шроту, який залишився після отримання водного екстракту. Для вивчення елементного складу використовували атомно-емісійний спектрографічний метод, оснований на випарюванні золи сировини у дуговому розряді, фотографічній реєстрації розкладеного в спектр випромінювання і вимірі інтенсивності спектральних ліній окремих елементів [2, 3, 5].

Підготовка аналізованої проби полягала в обережному обвуглюванні рослинного матеріалу при нагріванні в муфельній печі (t не більша $500\text{ }^{\circ}\text{C}$) з попередньою обробкою проб розведеною сульфатною кислотою. Випарювання проб проводили з кратерів графітових електродів у розряді дуги перемінного струму (джерело збудження спектрів типу ІВС-28) при силі струму 16 А та експозиції 60 с. Для одержання спектрів та їх реєстрації на фотопластинках використовували спектрограф ДФС-8 з дифракційними решітками 600 шт/мм і трилінзовою системою освітлення щілини. Вимір інтенсивностей ліній у спектрах аналізованих проб і градуйованих зразків проводили за допомогою мікрофотометра МФ-1. Фотометрували такі смуги у спектрах проб і градуйованого зразка (нм): Al – 308,2; Hg – 253,6; Ni – 305,0; Mn – 280,1; Pb – 283,3; As – 286,0; Cd – 326,1; Mo – 317,0; Co – 345,3; Sr – 346,4; Zn – 328,2; Cu – 324,7. Для кількісного аналізу використовували градуйовані (стандартні) зразки, специфічні для кожного мікроелемента. Інтервал (визначеного вмісту мас. % до золи) складає: Mn від $2 \cdot 10^{-4}$ до 1; Cu від $1 \cdot 10^{-4}$ до $5 \cdot 10^{-2}$; Ni, Pb, Ca від $5 \cdot 10^{-4}$ до $1 \cdot 10^{-2}$; Cd від $5 \cdot 10^{-3}$ до $1 \cdot 10^{-2}$; Mo, Co від $2 \cdot 10^{-4}$ до $1 \cdot 10^{-2}$; Sr від $1 \cdot 10^{-2}$ до 1; Zn від $1 \cdot 10^{-2}$ до 2. Виміри виконували при кімнатній температурі.

Основою для виготовлення стандартних зразків є суміш оксидів та солей металів, що відповідає складу різнотрав'я. З метою виготовлення 200 г основи використовували маси наважок таких речовин (г): SiO_2 – 36; CaCO_3 – 40; MgO – 10; KH_2PO_4 – 50; K_2SO_4 – 40; KCl – 14; Na_2SO_4 – 50. Ці речовини змішували та прокалювали у кварцових тиглях у муфельній печі при температурі $500\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом 5 год. Потім з них виготовляли за методикою стандартні зразки. Проби для аналізу готували за нижченаведеною методикою. У кварцовий тигель

вносили точну наважку сировини (3,0 г), змочували 10 мл 5 % розчину сульфатної кислоти, висушували в сушильній шафі при температурі 100 °С, а потім на електричній плитці – до видалення парів сульфатної кислоти. Тигли переносили у холодну муфельну піч. Температуру печі поступово доводили до 500 °С і прожарювали протягом 1 год. Потім зразки охолоджували та зважували. До отриманої золи додавали таку саму кількість (за масою) графітового порошку і ретельно перемішували у ступці з органічного скла.

Для кожного елемента за результатами фотометрування розраховували різниці затем-

нення лінії та фону. Потім за градувальним графіком визначали вміст елемента у відсотках до основи.

Вміст елемента в рослинному матеріалі

визначали за формулою: $X = \frac{a \times m}{M}$,

де X – вміст елемента, %;

a – вміст елемента, визначений за графіком, %;

m – маса золи, г;

M – наважка сировини, г.

Результати досліджень наведено в таблиці 1.

Таблиця 1 – Вміст макро- і мікроелементів у листі кизилу, а також у полісахаридному і поліфенольному екстрактах, одержаних із цього виду сировини

Елемент	Вміст елемента, мг/100 г			Елемент	Вміст елемента, мг/100 г		
	№ 1	№ 2	№ 3		№ 1	№ 2	№ 3
K	3360	4990	1240	Cu	0,1	0,2	0,08
Na	130	400	330	Sr	3	5	1
Ca	950	2660	440	Pb	0,05	<0,03	<0,03
Mg	370	1000	250	Mo	0,05	0,2	0,6
P	110	270	60	Ni	<0,03	<0,03	0,08
Fe	30	3	0,8	Co	<0,03	<0,03	<0,03
Si	630	1330	790	Cd	<0,01	<0,01	<0,01
Al	50	70	1	As	<0,01	<0,01	<0,01
Zn	0,8	3	<0,05	Hg	<0,01	<0,01	<0,01
Mn	2	3	0,8				

Примітка. № 1 – листя кизилу;

№ 2 – полісахаридний екстракт листя кизилу;

№ 3 – поліфенольний екстракт листя кизилу.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У сировині та полісахаридному і поліфенольному екстрактах листя кизилу було проведено кількісне визначення 19 елементів. В усіх зразках спостерігався високий вміст макроелементів K, Ca, Mg і Na та мікроелементів Si, Al, Fe, Mn, Zn, Cu і Sr. До життєво необхідних (есенціальних) елементів відносять усі макроелементи і деякі мікроелементи: Fe, Mn, Cu, Zn, Co, Mo, Se. До умовно-необхідних належать Si, Sr, Cd, Ni, As, роль інших елементів ще недостатньо вивчено. Відомо, що мінеральні речовини рослин частково або повністю здатні переходити у водні розчини. Ступінь екстракції деяких елементів досягає 90-95 % [5]. З таблиці 1 ми бачимо, що в полісахаридному екстракті зна-

ходиться значна кількість елементів, але й поліфенольний екстракт, який був одержаний зі шроту після отримання полісахаридного комплексу, теж містить достатню кількість елементів. Тому обидва екстракти є біологічно активними і будуть проводитись їх подальші дослідження.

ВИСНОВКИ. 1. Методом атомно-емісійної спектроскопії визначено кількісний вміст 19 макро- і мікроелементів у листі кизилу та полісахаридному і поліфенольному екстрактах, одержаних із цього виду сировини.

2. Отримані результати будуть використані при подальшому фармакогностичному дослідженні листя кизилу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Блейз А. Энциклопедия лечебных фруктов и ягод. – М.: ОЛМА-Пресс, 1999. – 320 с.

2. Бородіна Н.В., Ковальов С.В. Амінокислотний та мікроелементний склад *Populus tremula* L. // ФАРМАКОМ. – 2003. – № 4. – С. 32-36.

3. Бунити А., Криворучко Е.В. Фенольные соединения кизила обыкновенного // Міжвуз. студ. наук. конф. "Наукові основи створення лікарських засобів": Тези доп. – Х.: Вид-во НФаУ, 2005. – С. 61.

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

5. Ефремов А.А., Макарова Л.Г., Шаталина Н.В. и др. Минеральные вещества – основа снижения антропогенного воздействия окружающей среды на организм человека // Химия растительного сырья. – 2002. – № 3. – С. 65-68.

6. Криворучко О.В. Дерен справжній (кизил) // В кн.: Фармацевтична енциклопедія / Голова ред. ради та автор передмови В.П. Черних. – К.: МОРИОН, 2005. – С. 255.

7. Ловкова М.Я., Рабинович А.М., Пономарева С.М. и др. Почему растения лечат – М.: Наука, 1990. – 256 с.

8. Мурад Н., Криворучко Е.В. Фитохимическое изучение липидной фракции листьев кизила // Міжвуз. студ. наук. конф. "Актуальні питання створення нових лікарських засобів": Тези доп. – Х.: Вид-во НФаУ, 2006. – С. 82.

9. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства *Rutaceae* – *Elaeagnaceae*. – Л., 1988. – 357 с.

10. Скальный А.В. Химические элементы в физиологии и экологии человека. – М.: Издательский дом "ОНИКС 21 век": Мир, 2004. – 216 с.

11. Хухрянский В.Г., Цыганенко А.Я., Павленко Н.В. Химия биогенных элементов. – К.: Вища школа, 1990. – 207 с.

МАКРО- И МИКРОЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ ЛИСТЬЕВ КИЗИЛА

Е.В. Криворучко

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Приведен литературный обзор по химическому составу и фармакологическим свойствам кизила мужского. Определено количественное содержание 19 макро- и микроэлементов в листьях кизила, а также полисахаридном и полифенольном экстрактах, полученных из этого вида сырья.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кизил мужской (*Cornus mas*), макро- и микроэлементы, полисахаридный и полифенольный экстракты.

MACRO- AND MICROELEMENT COMPOSITION OF CORNELIAN CHERRY LEAVES

O.V. Kryvoruchko

NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

Summary

The article presents review of literature on chemical composition and pharmacological effects of Cornelian Cherry (*Cornus mas*) leaves. The quantitative contents of 19 macro- and microelements in leaves and in polysaccharide and polyphenolic extracts of Cornelian Cherry have been determined.

KEY WORDS: **Cornelian Cherry (*Cornus mas*), macroelements, microelements, polysaccharide extract, polyphenolic extract.**

Отримано 9.09.2008 р.

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

СИНТЕЗ ТА ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ АНІЛІДІВ (АРИЛАЛКІЛАМІДІВ) 4-R-2,3-ДІОКСО-1,4-ДИГІДРОПІРАЗИН-1-ІЛ-ОЦТОВИХ КИСЛОТ

В.А. Георгіянец, Н.В. Шиньова, Л.О. Перехода
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Алкилуванням 1-R-1,4-дигідропіразин-2,3-діонів відповідними амідами хлороцтової кислоти в присутності безводного карбонату калію одержано аніліди (арилалкіламіди) 4-арил-2,3-діоксо-1,4-дигідропіразин-1-іл-оцтової кислоти. Будова одержаних речовин була доведена з використанням елементного аналізу та спектральних даних. Перед проведенням фармакологічного скринінгу нами здійснено прогноз біологічної активності синтезованих речовин, який підтвердив високу вірогідність прояву ними протисудомної активності. Результати виконаних досліджень підтвердили, що введення заміщених арилалкіламідів оцтової кислоти в ролі радикалів значно посилює протисудомні властивості порівняно з вихідними монозаміщеними піразинами.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: аніліди (арилалкіламіди), елементний аналіз, спектральні дані, протисудомна активність, оцтова кислота, вихідні монозаміщені піразинони.

ВСТУП. Однією з фундаментальних проблем синтетичної органічної хімії є розробка нових методів синтезу сполук, що ефективні при лікуванні тяжких захворювань ЦНС – нейродегенеративних розладів, епілепсії та деяких інших захворювань, на основі сучасної стратегії створення препаратів. Ці препарати повинні мати, разом із протисудомною, ще й нейропротекторну дію.

Серед відомих протисудомних лікарських засобів можна виділити препарати різних хімічних груп, що дуже відрізняються за структурою. Механізми біологічної дії цих препаратів відмінні один від одного, і деякі аспекти такої дії ще не є зрозумілими.

Значна протисудомна активність характерна для препаратів таких груп, як барбітурати, сукциніміди, карбамазепін, бензодіазепіни, похідні вальпроєвої кислоти. На сьогодні почали широко застосовувати препарат "Ламотриджин", що є похідним 1,2,4-триазину [4].

В науковій літературі останнім часом з'являються дані про перспективність використання похідних піразину для лікування захворювань центральної нервової системи, в тому числі судом [2, 3, 6, 10, 12].

Цікаву групу нейролептиків формують сполуки, які містять одразу три нітрогенвмісних гетероцикли: піримідин, піразин та піперидин.

© В.А. Георгіянец, Н.В. Шиньова, Л.О. Перехода, 2008.

Базовим препаратом цього ряду є буспірон. На основі його структури отримано інші препарати [6, 7, 11]. Ці сполуки є активними лігандами до 5-HT_{1A} серотонінових рецепторів, які відповідають за емоційний стан людини. Дотепер вони є єдиними препаратами, що діють на цей тип рецепторів і допущені до медичного застосування.

Вивчали антиконвульсантні властивості водорозчинних похідних 8-метилуреїдо-10-аміно-10-метил-імідазол-[1,2-α]індено[1,2-e]піразин-4, які є високоселективними речовинами до глутамінових рецепторів [9].

Серед похідних піразину є також сполуки, які можна використовувати для лікування шизофренії та інших подібних розладів нервової системи [6].

Японські науковці [8] синтезували та проводять дослідження антипсихотичної активності нових сполук похідних 1,2,3,4,6,6a,7,11b, 12,12a-декагідропіразино [2',1':6,1]піридо[3,4-b]індолу.

Аналізуючи дані літератури, ми вирішили отримати на основі синтезованих раніше N-заміщених 1,4-дигідропіразин-2,3-діонів сполуки, що мають в якості замісника при іншому атомі азоту заміщені арил- (арилалкіл)ацетамідні радикали. Вихідні аніліди (арилалкіламіди) хлороцтових кислот (2) були попередньо отримані за допомогою загальноприйнятої реакції амідування галогенкарбонових кислот. Синтез відтворювали відповідно до схеми.

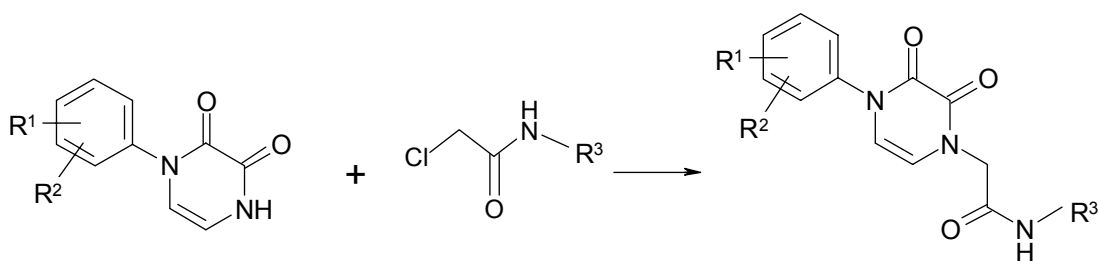


Схема.

1

2

3 - 42

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Температуру плавлення синтезованих речовин вивчали на приладі згідно з вимогами ДФУ [5]. Дані елементного аналізу відповідають розрахованим.

Спектри ПМР синтезованих речовин були зняті на приладі Bruker DRx500, розчинник – ДМСО- d_6 , внутрішній стандарт – тетраметилсилан (ТМС). Хімічні зсуви наведені у шкалі δ (м.ч.).

3-Метоксифеніламід 4-бензил-2,3-діоксо-1,4-дигідропіразин-1-іл-оцтової кислоти (3).

До розчину 2,02 г (1 ммоль) 1-бензил-1,4-дигідропіразин-2,3-діону в 5 мл диметилформаміду додають 0,4 г (3 ммоль) безводного карбонату калію та 1,2 ммоль *m*-метоксифеніламіду хлороцтової кислоти. Отриману суміш нагрівають при 90 °С впродовж 2 год. Після охолодження додають 10 мл води та відфільтровують осад, який утворився. Продукт перекристалізують з диметилформаміду. Вихід – 2,88 г (79 %). Т. пл. – 156-158 °С.

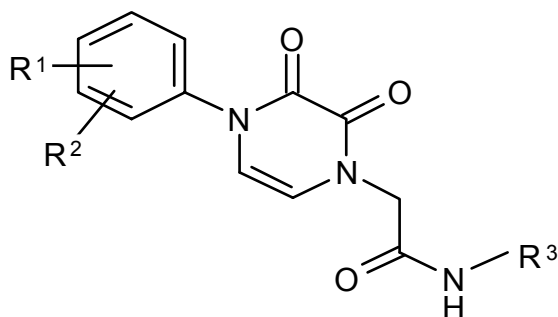
Сполуки 4-42 отримано аналогічно.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Для отримання цільових продуктів синтезу до розчину відповідного 1-*R*-1,4-дигідропіразин-2,3-діону в розчині диметилформаміду додавали безводний карбонат калію та відповідний амід хлороцтової кислоти. Високий вихід (близько 70-80 %) одержаних речовин підтверджує високу рухомість атома водню при гетероциклічному атомі азоту вихідних піразинів (1).

Отримані сполуки є білими або жовтуватими кристалічними речовинами з чіткими температурами плавлення. Вони не розчиняються у воді, легко розчиняються у спирті та більшості органічних розчинників.

Будова одержаних речовин була доведена з використанням елементного аналізу (табл. 1) та спектральних даних (табл. 2).

Таблиця 1 – Характеристики синтезованих речовин загальної формули



Сполуки	R ¹	R ²	R ³	Вихід, %	Т. пл., °С	Вирах. %N	Брутто-формула	Знайд. %N
1	2	3	4	5	6	7	8	9
3	C ₆ H ₄ -OCH ₃ (3)		Bn	79	156-158	11,50	C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₄	11,34
4	C ₆ H ₃ -(OCH ₃) ₂ (3,4)		Bn	75	168-170	11,50	C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₄	11,37
5	H	4-Cl	C ₆ H ₄ -OCH ₃ (3)	71	158-160	10,51	C ₂₀ H ₁₈ ClN ₃ O ₄	10,46
6	H	H	C ₆ H ₃ -(OCH ₃) ₂ (2,4)	78	182-184	11,02	C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₅	11,11
7	H	4-F	C ₆ H ₄ -OCH ₃ (4)	74	218-220	11,38	C ₁₉ H ₁₆ FN ₃ O ₄	11,45
8	3-CH ₃	4-CH ₃	C ₆ H ₅	80	204-206	12,03	C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₃	11,94
9	3-CH ₃	5-CH ₃	(CH ₂) ₂ -C ₆ H ₅	71	166-170	11,13	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₃	11,21
10	3-CH ₃	5-CH ₃	C ₆ H ₄ -C ₂ H ₅ (4)	71	178-180	11,13	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₃	11,17
11	3-CH ₃	5-CH ₃	C ₆ H ₄ -CH ₃ (4)	78	216-218	11,56	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₃	11,61
12	3-CH ₃	5-CH ₃	C ₆ H ₃ -(OCH ₃) ₂ (2,4)	80	96-98	10,26	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₅	10,18
13	3-CH ₃	5-CH ₃	C ₆ H ₃ -(CH ₃) ₂ (3,4)	74	228-230	11,13	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₃	11,05
14	3-CH ₃	5-CH ₃	C ₆ H ₄ -C ₂ H ₅ (2)	73	182-184	11,13	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₃	11,10
15	3-CH ₃	5-CH ₃	CH ₂ -C ₆ H ₄ -CH ₃ (4)	71	166-170	11,13	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₃	11,08

1	2	3	4	5	6	7	8	9
16	3-CH ₃	5-CH ₃	C ₆ H ₄ -OCH ₃ (4)	79	212-214	11,07	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₄	11,01
17	3-CH ₃	5-CH ₃	C ₆ H ₃ -OCH ₃ (4)-Cl(5)	78	226-228	10,15	C ₂₁ H ₂₀ ClN ₃ O ₄	10,22
18	3-CH ₃	5-CH ₃	C ₆ H ₄ -F(2)	79	174-176	11,44	C ₂₀ H ₁₈ FN ₃ O ₃	11,39
19	3-CH ₃	5-CH ₃	C ₆ H ₄ -Br(4)	74	234-236	9,81	C ₂₀ H ₁₈ BrN ₃ O ₃	9,88
20	3-CH ₃	5-CH ₃	C ₆ H ₅	74	208-210	12,03	C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₃	12,08
21	3-CH ₃	5-CH ₃	C ₆ H ₃ -(CH ₃) ₂ (3,5)	71	222-224	11,13	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₃	11,05
22	3-CH ₃	5-CH ₃	C ₆ H ₃ -(OCH ₃) ₂ (3,5)	75	221-223	10,26	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₅	10,31
23	3-CH ₃	5-CH ₃	C ₆ H ₃ -C ₂ H ₅ (6)-CH ₃ (2)	76	192-194	10,73	C ₂₃ H ₂₅ N ₃ O ₃	10,79
24	3-CH ₃	5-CH ₃	C ₆ H ₃ -(OCH ₃) ₂ (3,4)	78	198-200	10,26	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₅	10,19
25	3-OCH ₃	H	(CH ₂) ₂ -C ₆ H ₅	70	202-204	11,07	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₄	11,15
26	3-OCH ₃	H	C ₆ H ₄ -C ₂ H ₅ (4)	69	204-206	11,07	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₄	11,17
27	3-OCH ₃	H	C ₆ H ₄ -CH ₃ (4)	78	212-214	11,50	C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₄	11,61
28	3-OCH ₃	H	C ₆ H ₃ -(OCH ₃) ₂ (2,4)	71	176-178	10,21	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₆	10,28
29	3-OCH ₃	H	C ₆ H ₄ -OCH ₃ (2)	70	140-142	11,02	C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₅	10,97
30	3-OCH ₃	H	C ₆ H ₃ -(CH ₃) ₂ (3,5)	76	214-216	11,07	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₄	10,99
31	3-OCH ₃	H	C ₆ H ₃ -(OCH ₃) ₂ (3,5)	77	216-218	10,21	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₆	10,29
32	3-OCH ₃	H	C ₆ H ₃ -(OCH ₃) ₂ (3,4)	77	198-200	10,21	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₆	10,30
33	3-OCH ₃	4-OCH ₃	(CH ₂) ₂ -C ₆ H ₅	73	196-198	10,26	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₅	10,31
34	3-OCH ₃	4-OCH ₃	C ₆ H ₄ -C ₂ H ₅ (4)	73	228-230	10,26	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₅	10,34
35	3-OCH ₃	4-OCH ₃	C ₆ H ₄ -CH ₃ (4)	71	228-230	10,63	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₅	10,71
36	3-OCH ₃	4-OCH ₃	C ₆ H ₃ -(CH ₃) ₂ (3,4)	72	224-226	10,26	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₅	10,32
37	3-OCH ₃	4-OCH ₃	C ₆ H ₄ -OCH ₃ (4)	70	242-244	10,21	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₆	10,29
38	3-OCH ₃	4-OCH ₃	C ₆ H ₄ -F(4)	70	266-268	10,52	C ₂₀ H ₁₈ FN ₃ O ₅	10,62
39	3-OCH ₃	4-OCH ₃	C ₆ H ₃ -OCH ₃ (4)-Cl(5)	72	208-210	17,23	C ₂₁ H ₂₀ ClN ₃ O ₆	11,29
40	3-OCH ₃	4-OCH ₃	C ₆ H ₄ -Br(4)	77	272-274	9,13	C ₂₀ H ₁₈ BrN ₃ O ₅	9,21
41	3-OCH ₃	4-OCH ₃	C ₆ H ₃ -(OCH ₃) ₂ (3,5)	73	198-200	9,52	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₇	9,61
42	3-OCH ₃	4-OCH ₃	C ₆ H ₃ -(OCH ₃) ₂ (3,4)	75	182-184	9,52	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₇	9,62

Таблиця 2 – Спектри ПМР синтезованих речовин, δ, м.ч (ТМС)

Сполуки	NH, 1H, с	Ar-H, м	CH=CH, 2H	CH ₂ , 2H, с	Сигнали протонів інших функціональних груп
1	2	3	4	5	6
3	10,27	7,25,8H, м, 6,65, 3H, м		4,92	4,55, 2H, с(CH ₂ -NH), 3,72, 3H, д (O-CH ₃)
4	10,22	7,35-6,85,8H,м	6,65, м	4,92	4,55, 2H, с (CH ₂ -NH); 3,62, 6H, д (2xOCH ₃)
5	10,25	7,27, 7H, м + 6,67,3H, м		4,95	4,55, 2H, с (CH ₂ -N); 3,72, 3H, д (OCH ₃)
6	9,42	7,67-7,45, 6H, м; 6,67-6,42, 4 H, м		4,65	3,82, 3H, с (OCH ₃); 3,72, 3H, с (OCH ₃)
7	10,12	7,51-6,92, 8H, м	6,75, м	4,57	3,68, 3H, с (OCH ₃)
8	10,25	7,53-7,35, 8H, м	6,58, м	4,55	2,18, 6H, м (2*CH ₃)
9	8,45	7,25-7,05, 8H, м	6,57, с	4,37	3,32, 2H, м (CH ₂ -NH); 2,68, 2H, т (CH ₂ CH ₂ NH); 2,27, 6H, с (2*CH ₃)
10	10,18	7,49-7,12, 4H, м; 7, 03, 3H, д	6,65, м	4,54	2,45, 2H, м (CH ₂ CH ₃); 2,24, 6H, с (2*CH ₃); 1,11, 3H, т (CH ₃)
11	10,18	7,48-7,19,7 H, м	6,63, м	4,62	2,23, 9H, д (3*CH ₃)
12	9,48	7,32-6,51, 8H, м		4,58	2,28, 6H, м (2*CH ₃); 2,27, 6H, с (2*O-CH ₃)
13	10,12	7,32-7,05, 6H, м	6,62, м	4,58	2,28, 6H, с (2*CH ₃); 2,15, 6H, д (2*CH ₃)
14	9,58	7,25,4H, м 7,02, 3H, д	6,65, м	4,67	3,8, 6H, м (CH ₂ CH ₃); 2,29, 6H, с (2*CH ₃) 1,10, 3H, т (CH ₃)
15	8,62	7,42, 7H, м	6,58, м	4,45	4,25, 2H д (CH ₂ -NH); 2,28, 9H, д (3*CH ₃)
16	10,12	7,48-6,98, 7H, м	6,73, м	4,58	3,68, 3H, с (O-CH ₃); 2,28, 6H, с (2*CH ₃)

1	2	3	4	5	6
17	10,32	7,78-7,04, 6H, м	6,64, м	4,57	3,78, 3H, с (O-CH ₃); 2,29, 6H, с (2*CH ₃)
18	10,12	7,88-7,25, 4H, м; 7,04, 3H, д	6,65, м	4,67	2,28, 6H, с (2*CH ₃)
19	10,42	7,53, 4H, м; 7,03, 3H, д	6,64, м	4,61	2,25, 6H, с (2*CH ₃)
20	10,30	7,55-7,17, 8H, м	6,77, м	4,62	2,31, 6H, с (2*CH ₃)
21	10,12	7,05-6,62, 6H, м	7,21, с	4,59	2,11, 12H, д (4*CH ₃)
22	10,25	7,08, 3H, д, ; 6,84-6,23, 5H, м		4,55	3,72, 6H, с (2*CH ₃); 2,28, 6H, с (2*O-CH ₃)
23	9,48	7,08, 6H, м	6,64, м	4,58	3,25, 2H, т (CH ₂ CH ₃); 2,28, 6H, с (2*CH ₃); 2,15, 3H, с (CH ₃); 1,11, 3H, т (CH ₃)
24	10,15	7,33-6,84, 6H, м	6,68, м	4,58	3,68, 6H, д (2*CH ₃); 2,28, 6H, с (2*O-CH ₃)
25	8,28	7,48-6,98, 9H, м	6,58, т	4,38	3,72, 3H, с (CH ₃); 3,35, 2H, т (CH ₂ CH) 2,71, 2H, т (CH ₂ N)
26	10,15	7,48-6,95, 8H, м	6,73, т	4,62	3,75, 3H, с (CH ₃); 2,35, 3H, м (CH ₃); 1,12, 3H, т (CH ₃)
27	10,19	7,49-6,93, 8H, м	6,65, т	4,60	3,81, 3H, с (O-CH ₃); 2,13, 3H, м (CH ₃)
28	9,41	7,71-6,45, 9H, м		4,65	3,74, 9H, т (3*O-CH ₃)
29	9,62	7,91-6,62, 10H, м		4,72	3,79, 6H, д (2*O-CH ₃)
30	10,15	7,45-6,65, 9H, м		4,62	3,78, 3H, с (CH ₃); 2,12, 6H, д (2*CH ₃)
31	10,22	7,45-6,22, 9H, м		4,53	3,72, 3H, с (CH ₃); 3,62, 6H, д (2*O-CH ₃)
32	10,15	7,42-6,88, 7H, м	6,73, т	4,58	3,68, 9H, д (3*O-CH ₃)
33	8,25	7,28-6,95, 8H, м	6,55, т	4,35	3,72, 6H, д (2*O-CH ₃); 3,27, 2H, с (CH ₂ -Ar) 2,22, 2H, т (CH ₂ NH)
34	10,18	7,42-7,16, 4H, м; 7,03, 3H, м	6,68, м	4,62	3,78, 6H, д (2*O-CH ₃); 3,45, 2H, м (CH ₂ CH ₃) 1,12, 3H, т (CH ₂ CH ₃)
35	10,18	7,48-7,02, 7H, м	6,75, м	4,58	3,72, 6H, д (2*O-CH ₃); 2,20, 3H, с (CH ₃)
36	10,18	7,33-7,03, 6H, м	6,61, м	4,65	3,71, 6H, д (2*O-CH ₃); 2,15, 6H, д (2*CH ₃)
37	10,11	7,48-6,88, 7H, м	6,54, м	4,55	3,68, 9H, т (3*O-CH ₃)
38	10,28	7,58-7,02, 7H, м	6,62, м	4,61	3,78, 6H, (2*O-CH ₃)
39	10,28	7,72-7,02, 6H, м	6,62, м	4,58	3,78, 9H, т (3*O-CH ₃)
40	10,41	7,52-7,02, 7H, м	6,62, м	4,60	3,78, 6H, д (2*O-CH ₃)
41	10,28	7,05-6,22, 8H, м		4,61	3,78, 12H, т (4*O-CH ₃)
42	10,15	7,32-7,02, 6H, м	6,61, м	4,58	3,72, 12H, т (4*O-CH ₃)

Спектри ПМР [1] синтезованих речовин містять ряд загальних сигналів: сигнали водню метинових груп при подвійному зв'язку в піразиновому кільці проявляються у вигляді дублету або мультиплету на ділянці 7,21-6,48 м.ч.; окремо виділяються сигнали протонів амідної групи на ділянці 10,41-8,25 у вигляді синглету або триплету для арилалкіламідів. Присутність заміщеного фенільного радикала підтверджена наявністю мультиплетного сигналу на ділянці 7,88-6,62 з інтенсивністю та мультиплетністю залежно від природи, кількості та розташування замісників. Наявність метиленової групи залишку оцтової кислоти доводить присутність синглетного сигналу на відрізьку 4,92-4,35.

Перед проведенням фармакологічного скринінгу нами було здійснено прогноз біологічної активності синтезованих речовин, який підтвердив високу вірогідність прояву ними протисудомної активності. Дослідження фармакологічної активності виконували на тестах максимального електрошоку та коразолових судом у тварин. Результати проведених досліджень підтвердили, що введення заміщених ариламідів оцтової кислоти в ролі радикалів значно посилює протисудомні властивості порівняно з вихідними монозаміщеними піразинонами. Крім того, при заміні радикала на арилалкіламідний спостерігається незначне посилення активності. Проводяться

дослідження кількісного співвідношення активності синтезованих сполук від їх фізико-хімічних характеристик.

ВИСНОВКИ. 1. Алкілуванням 1-R-1,4-дигідропіразин-2,3-діонів відповідними амідами хлороцтової кислоти були отримані відповідні аніліди (арилалкіламіди) 4-R-2,3-діоксо-1,4-дигідропіразин-1-іл-оцтових кислот.

2. Структуру синтезованих речовин доведено даними елементного аналізу та спектроскопії ПМР.

3. Результати фармакологічного скринінгу показали, що введення в структуру молекули 1,4-дигідропіразин-2,3-діону заміщеного ариламиду оцтової кислоти значно посилює протисудомні властивості порівняно з вихідними монозаміщеними піразинонами.

ЛІТЕРАТУРА

1. Браун Д., Флорйд А., Сейнзбери М. Спектроскопия органических веществ: Пер. с англ. – М.: Мир, 1992. – С. 300.

2. Георгіянец В.А., Шиньова Н.В., Перехода Л.О., Коваленко С.М. Синтез, фізико-хімічні та фармакологічні властивості N-феніл-N'-бензилзаміщених 1,4-дигідропіразин-2,3-діонів // Вісник фармації. – 2006. – № 4 (48). – С. 3-7.

3. Георгіянец С.В., Плис С.В., Шиньова Н.В., Гриненко В.В. Пошук нових потенційних протисудомних засобів серед похідних 2-гідроксисмалонанілової кислоти, 1,2,3-триазолу та 2,3-дигідропіразину // У зб. "Ліки та життя. Аптека 2005": Мат. наук. конф., 15-18 лютого 2005, Київ. – С. 108-109.

4. Граник В.Г. Основы медицинской химии. – М.: Вузовская книга, 2001. – 384 с.

5. Державна фармакопея України // ДП "Науково-експертний фармакопейний центр". – 1-ше вид. – Х.: ООО "РИРЕГ", 2001. – 556 с.

6. Зефирова О.Н., Зефиоров Н.С. Физиологически активные соединения, взаимодействующие с серотониновыми (5-гидрокситриптаминавыми) рецепторами // Успехи химии. – 2001. – **70**, № 4. – С. 382-407.

7. Солдатенков А.Т., Колядина Н.М., Шенрик И.В. Основы органической химии лекарственных веществ. – Москва: Химия, 2001. – 188 с.

8. Chakrabarty R., Rao J., Anand A. et al. Rational design, synthesis and evaluation of (6aR',11bS')-1-(4-fluorophenyl)-4-{7-[4-(4-fluorophenyl)-4-oxobutyl]1,2,3,4,6,6a,7,11b,12,12a(RS)-decahydropyrazino[2',1':6,1]pyrido[3,4-b]indol-2-yl}butan-1-one as a potential neuroleptic agent // Bioorg. Med. Chem. – 2007. – **15**. – P. 7361-7367.

9. Jimonet P., Cheve M., Bohme G.A. et al. 8-Methylureido-10-amino-10-methylimidazo[1,2-a]indeno-[1,2-e]pyrazin-4-one: Highly in vivo Potent and Selective AMPA Receptors Antagonists // Bioorg. Med. Chem. – 2000. – № 8. – P. 2211-2217.

10. Leopoldo M., Lacivita E., Colabufo N.A. et al. Bivalent ligand approach on 4-[2-(3-methoxyphenyl)ethyl]-1-(2-methoxyphenyl)piperazine: Synthesis and binding affinities for 5-HT₇ and 5-HT_{1A} receptors // Bioorg. Med. Chem. – **15**, № 15. – P. 5166-5176.

11. Nash J.F., Meltzer H.Y. Effect of gepirone and ipsapirone on the stimulated and unstimulated secretion of prolactin in the rat // Journal of Pharmacology and experimental Therapeutics. – 1989. – **249**, Is. 1. – P. 236-241.

12. Stutzmann J.-M., Bohme G.A., Boireau A. et al. 4,10-dihydro-4-oxo-4H-imidazo[1,2-a]indeno-[1,2-e]pyrazin-2-carboxylic Acid Derivatives: Highly Potent and Selective AMPA Receptors Antagonists with in vivo activity // Bioorganic & Medical Chemistry Letters. – 2000. – № 10. – P. 1133-1137.

СИНТЕЗ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АНИЛИДОВ (АРИЛАЛКИЛАМИДОВ) 4-R-2,3-ДИОКСО-1,4-ДИГИДРОПИРАЗИН-1-ИЛ-УКСУСНЫХ КИСЛОТ

В.А. Георгіянец, Н.В. Шиньова, Л.О. Перехода
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Алкілюванням 1-R-1,4-дигідропіразин-2,3-діонів відповідними амідами хлоруксусної кислоти в присутстві безводного карбоната калія отримані аніліди (арилалкіламіди) 4-арил-2,3-діоксо-1,4-дигідропіразин-1-іл-уксусної кислоти. Становлення отриманих сполук було доведено з ис-

пользованием спектральных данных и элементного анализа. Перед проведением фармакологического скрининга нами осуществлён прогноз биологической активности синтезированных веществ, который подтвердил высокую вероятность проявления ими противосудорожной активности. Результаты исполненных исследований подтвердили, что введение замещенных арилалкиламидов уксусной кислоты в качестве радикалов значительно усиливает противосудорожные свойства в сравнении с исходными монозамещенными пиазинонами.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: анилиды (арилалкиламиды), элементный анализ, спектральные данные, противосудорожная активность, уксусная кислота, исходные монозамещенные пиазиноны.

SYNTHESIS AND PHYSICAL-CHEMICAL PROPERTIES OF ANILIDES (ARYLALKYLAMIDES) 4-R-2,3-DIOXO-1,4-DIHYDROPYRAZINE-1-YL-ACETIC ACIDS

V.A. Georgiyants, N.V. Shynyova, L.O. Perekhoda
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

Summary

Through alkylation of 1-R-1,4-dihydropyrazin-2,3-dions with corresponding amide chloroacetic acid in the presence of anhydrous potassium carbonate anilides (arylalkylamides) 4-aryl-2,3-dioxo-1,4-dihydropyrazine-1-yl acetic acid were derived. The structure of the obtained compounds was proved using the spectral data and element analysis. Before the pharmacological screening, was made a forecast of biological activity of synthesized compounds, which confirmed the high probability sign of their anticonvulsant activity. Studies have confirmed that the introduction of substituted arylalkylamides acetic acid as radicals greatly increases the anticonvulsant activity comparing to the initial monosubstituted pyrazinones.

KEY WORDS: anilides (arylalkylamides), element analysis, spectral data, anticonvulsant activity, acetic acid, initial monosubstituted pyrazinones.

Отримано 20.10.2008 р.

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

ХІМІЧНИЙ СКЛАД НАДЗЕМНОЇ ЧАСТИНИ ПИРІЮ ПОВЗУЧОГО AGROPYRON REPENS (L.)

О.Б. Калушка, С.М. Марчишин

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Вивчено хімічний склад надземної частини пирію повзучого. Встановлено наявність дубильних речовин, органічних кислот, полісахаридів, вільних цукрів, ефірних олій, в яких виявлено 39 компонентів. Вивчено мономерний склад полісахаридів. У надземній частині пирію повзучого встановлено кількісний вміст дубильних речовин (16,79 %), органічних кислот (1,67 %) та полісахаридів (4,55 %).

КЛЮЧОВІ СЛОВА: пирій повзучий, надземна частина, дубильні речовини, органічні кислоти, полісахариди, ефірні олії, вільні цукри.

ВСТУП. Серед дикорослих рослин родини Злакових маловивченим є рід Пирій, а саме пирій повзучий, який зустрічається як злісний бур'ян на всій території України [4]. Пирій повзучий завдає великої шкоди посівам, економічних збитків сільському господарству, виснажує ґрунт [7, 12, 18]. Проте це дуже цінна кормова і лікарська рослина. Траву пирію із задоволенням поїдають травоядні тварини, домашні собаки і коти тощо [13]. Пирій як кормову рослину використовують для заготівлі сіна [12].

Здавна пирій повзучий використовують у народній медицині як сечо- і жовчогінний, обволікаючий, відхаркувальний засіб [14, 17, 19]. Свіжим соком з листя пирію лікують простуду, бронхіт, запалення легень, нирково- та жовчнокам'яну хвороби, остеохондроз; відваром з трави – захворювання щитоподібної залози й очей [1, 9]. У науковій медицині рослину застосовують рідко.

Враховуючи те, що у хімічному і фармакологічному аспектах пирій повзучий досліджено недостатньо, ми вивчали вміст біологічно активних речовин у надземних органах рослини. Траву пирію повзучого збирали у травні–червні на полях Тернопільщини.

Дана стаття є продовженням серії досліджень щодо вивчення хімічного складу надземної частини пирію повзучого [8, 10, 11]. У цьому повідомленні представлені результати вивчення вмісту ефірних олій, органічних кислот, полісахаридів і дубильних речовин у надземних органах рослини.

© О.Б. Калушка, С.М. Марчишин, 2008.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для проведення якісних реакцій на різні групи біологічно активних сполук готували водні витяги з трави пирію повзучого. Для цього 30,0 г подрібненої сухої сировини (розміри частинок – 2-5 см) заливали 250 мл гарячої дистильованої води і настоювали протягом доби. Водні витяги фільтрували, а сировину заливали 100 мл гарячої дистильованої води. Операцію повторювали 3-5 разів. Отримані водні витяги об'єднували і випарювали до 15 мл. Одержаний екстракт використовували для виявлення біологічно активних речовин (дубильних речовин і полісахаридів).

Виявлення полісахаридів: до 10 мл водного витягу доливали 30 мл 96 % спирту. Поява плаваючих пластинчастих згустків, що при відстоюванні випадали в осад, свідчила про наявність у досліджуваній сировині полісахаридів. Осад відфільтровували і проводили реакцію на виявлення відновних (нейтральних) моносахаридів (з реактивом Фелінга) [15].

Якісне вивчення вільних цукрів, встановлення якісного мономерного складу полісахаридів після гідролізу проводили методом паперової хроматографії.

Для виділення полісахаридів брали 30,0 г трави пирію (розміри частинок – 2-2,5 см), поміщали у колбу зі шліфом місткістю 500 мл, додавали 350 мл гарячої води. Колбу приєднували до зворотного холодильника і кип'ятили на водяній бані протягом 30 хв, періодично помішуючи. Екстракцію проводили тричі. Екстракти охолоджували, проціджували і випарювали до об'єму, що дорівнює масі взятої сировини (V=30 мл). Полісахариди з кон-

центрованого екстракту осаджували 60 мл 96 % спирту. Осад відокремлювали, промивали невеликою кількістю 70 %, а потім 96 % етанолу, висушували у сушильній шафі при температурі 50-55 °С і визначали вихід. Кількісне визначення вмісту полісахаридів у досліджуваній сировині проводили гравіметричним методом [2].

Для визначення мономерного складу полісахаридів проводили кислотний гідроліз 10 % сульфатною кислотою [5, 20].

Для розділення та ідентифікації моноцукрів використовували низхідне 20-годинне хроматографування на папері Filtrak FN № 4 у системі розчинників ацетон-н-бутанол-вода (7:2:1) паралельно зі стандартними зразками цукрів (глюкоза, галактоза, фруктоза, ксиліоза, рамноза). Після хроматографування хроматограми висушували й обробляли анілін-фталатом. Температура проявлення – 100 °С, тривалість проявлення – 10 хв [6].

Для кількісного визначення дубильних речовин використовували перманганатометричний метод, для органічних кислот – метод кислотно-основного титрування, які включено до ДФ XI [2, 3]. Вміст вільних органічних кислот визначали у перерахунку на яблучну кислоту в абсолютно сухій сировині.

Компонентний склад ефірної олії досліджували на хроматографі Agilent Technology 6890N з мас-спектрометричним детектором 5973N. Умови аналізу: хроматографічна колонка кварцова, капілярна HP-5MS; довжина колонки – 30 м; внутрішній діаметр – 0,25 мм; температура випаровувача – 2500 °С; газ-носії – гелій; швидкість газу-носія – 1 мл/хв; об'єм проби – 0,1-0,5 мкл (для розчинів ефірних олій); введення проби з поділом потоку 1/50; температура термостата – 50 °С з програмуванням 3°/хв до 220 °С; температура детектора і випаровувача – 250 °С.

Компоненти ефірних олій ідентифікували за результатами порівняння отриманих у процесі хроматографування мас-спектрів хімічних речовин, що входять до складу досліджуваних сумішей, з даними бібліотеки мас-спектрів NIST02 (більше 174 000 речовин). Індокси утримування (IU) компонентів розраховували за результатами контрольних аналізів ефірних олій з додаванням суміші нормальних алканів (C10-C18) [16].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. За допомогою реакцій ідентифікації (з розчином залізоамонійного галуни, 1 % розчином желатину, 1 % розчином хініну гідрохлориду) у траві пирію повзучого виявлено дубильні речовини, які гідролізуються.

Вміст дубильних речовин у надземних органах пирію повзучого становив (16,79±0,16) % у перерахунку на суху сировину. Вважаємо, що завдяки високому вмісту дубильних речовин він буде чинити виражену протизапальну, антимікробну та ранозагоювальну дію.

Вміст органічних кислот у траві пирію повзучого становив (1,67±0,02) %.

У результаті проведених досліджень з надземної частини пирію повзучого було виділено полісахариди, вихід яких становив 4,55 %. Виділені полісахариди являють собою аморфний порошок світло-коричневого кольору, добре розчинний у воді й не розчинний в органічних розчинниках. Полісахаридний комплекс дає позитивний результат при реакції осадження 96 % спиртом та з реактивом Фелінга після проведення кислотного гідролізу.

У результаті хроматографічного аналізу у системі розчинників ацетон-н-бутанол-вода (7:2:1) у надземній частині пирію повзучого було виявлено ряд плям, які після обробки анілін-фталатом набували коричневого забарвлення (гексози), і ряд плям, які стали червоними (пентози). Схема хроматограми представлена на рисунку 1.

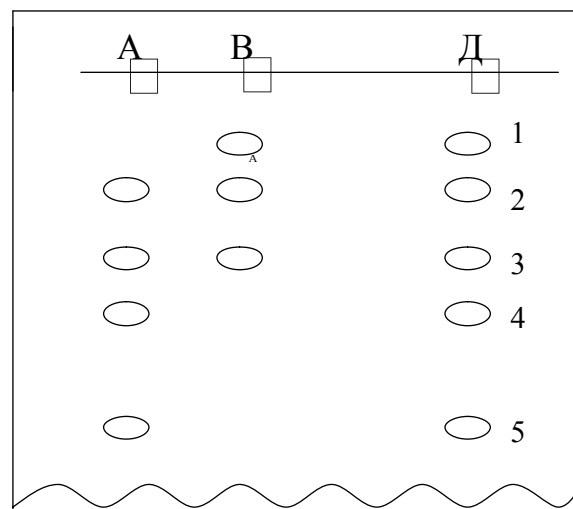


Рис. 1. Схема паперової хроматограми трави пирію повзучого: А – гідролізат полісахаридного комплексу трави пирію; В – водний екстракт трави пирію; 1 – галактоза; 2 – глюкоза; 3 – фруктоза; 4 – ксиліоза; 5 – рамноза.

Аналіз хроматограми показав, що у водному екстракті надземної частини пирію повзучого містяться вільні цукри: фруктоза, глюкоза і галактоза, а до полісахаридів входять такі цукри: глюкоза, фруктоза, ксиліоза і рамноза.

Досліджуючи якісний і кількісний вміст ефірних олій, виявили, що в ефірній олії трави пирію повзучого є 39 компонентів з вмістом більше 0,1 % (рис. 2).

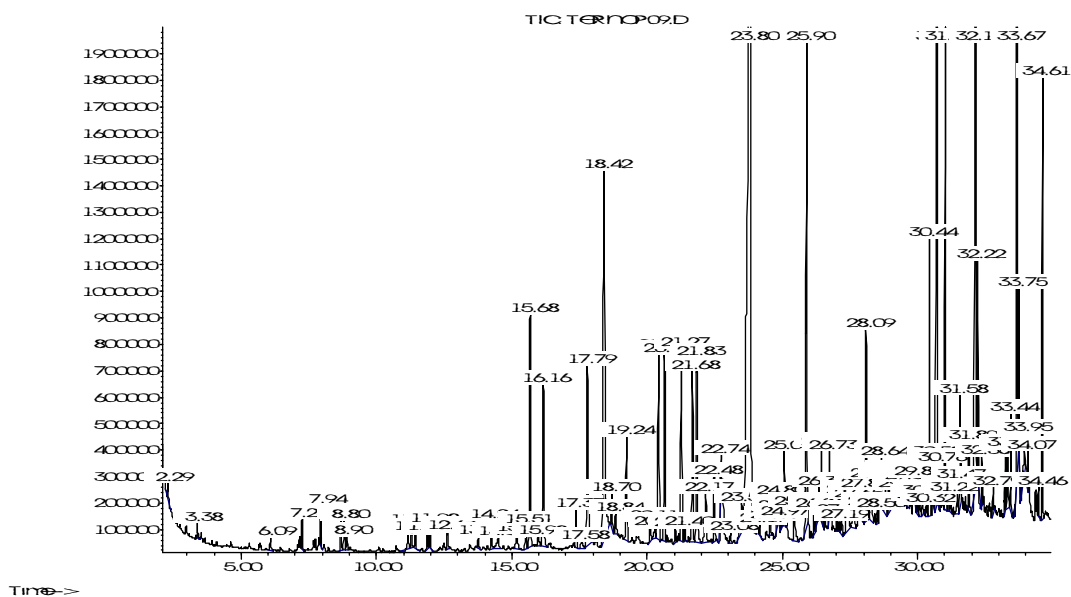


Рис. 2. Хроматограма ефірної олії трави пирію повзучого.

Основними компонентами ефірної олії трави пирію повзучого є фітол (9,42 %), гексагідрофарнезиллацетон (5,53 %), 4-вініл-2-метоксифенол (4,58 %), карвакрол (2,06 %), метилкарвакрол (1,83 %), 2,3,8,8-тетраметилтрицикло {[5.2.2.0(1,6)] ундец-2-ен (1,70 %), α -булнезен (1,61 %), каріофілен (1,51 %), 2,4,6-триметилацетофенол (1,51 %), α -гвайен (0,88 %) та сесквітерпенові спирти (20,01 %). Крім даних компонентів, у досліджуваній сировині наявні: 2-аліл-1,4-диметокси-3-метилбензол, α -бергамотен, децилацетат, гумулен, міртеніл-ацетат, ізоевгенол, β -пінен, α -терпінен, цимен, лимонен, нонаналь, α -терпінеол, β -циклоцитраль, метилтимол.

До складу ефірної олії входить ряд речовин, які мають терпеноїдну структуру. Моно-терпеноїди представлені: ациклічні – ліналолом; моноциклічні – лимоненом, 1,8-цинеолом, терпінен-4-олом, α -терпіненом, α -терпінеолом; біциклічні – α -піненом, β -піненом, борнілацетатом. Сесквітерпеноїди представлені біциклічними сполуками – каріофіленом і α -гвайеном.

ЛІТЕРАТУРА

1. Акопов И.Э. Кровоостанавливающие растения. – Ташкент, 1981. – 296 с.
2. Государственная фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1990. – 336 с.
3. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1990. – 400 с.

Серед компонентів ефірної олії 4,57 % складають ароматичні сполуки, що представлені цименом (0,22 %), ізоевгенолом (0,20 %), тимолом (0,09 %), метилтимолом (0,17 %), карвакролом (2,06 %) та метилкарвакролом (1,83 %).

Таким чином, проведені нами дослідження пирію повзучого свідчать про те, що дана рослина є перспективною для подальшого фармакогностичного і фармакологічного вивчення.

ВИСНОВКИ. 1. Вивчено якісний і кількісний вміст дубильних речовин, органічних кислот, полісахаридів, вільних цукрів, ефірних олій у надземній частині пирію повзучого.

2. Встановлено, що надземна частина пирію повзучого містить вільні цукри: галактозу, глюкозу та фруктозу, а до полісахаридного комплексу входять глюкоза, фруктоза, ксилоза і рамноза.

3. Досліджено ефіроолійний склад пирію повзучого і виявлено у надземній частині рослини 39 компонентів.

4. Гулько Р.М. Словник лікарських рослин світової медицини. Латино-українсько-російсько-англійський. – Львів: Ліга-Прес, 2005. – С. 17, 129.

5. Демешко О.В., Ковальов С.В., Комісаренко А.М. Дослідження вуглеводів листа акації білої // Мед. хімія. – 2005. – 7, № 4. – С. 37-40.

6. Дзюба Н.П., Чушенко В.Н., Хаїт Г.Я. Встановлення якісного та кількісного складу полісахаридів у рослинній сировині та препаратах фізико-хімічни-

ми методами. Повідомлення 1 // Фармац. журнал. – 1975. – № 6. – С. 54-58.

7. Дідик Н.П. Алелопатичні властивості *Elytrigia repens* (L.) Nevski // Інтродукція рослин. – 2001. – № 1-2. – С. 73-76.

8. Калущка О.Б., Марчишин С.М. Жирнокислотний склад ліпофільної фракції надземних і підземних органів пирію повзучого // Фармац. часопис. – 2007. – № 4 (4). – С. 23-24.

9. Кит С.М., Турчин И.С. Лекарственные растения в эндокринологии. – К., 1986. – 80 с.

10. Марчишин С.М., Дахим І.С. Дослідження хімічного складу надземної частини пирію повзучого *Agropyron repens* L. // Мед. хімія. – 2004. 6, № 4. – С. 50-54.

11. Марчишин С.М., Калущка О.Б. Вивчення амінокислотного та елементного складу пирію повзучого // Фармац. журнал. – 2006. – № 1. – С. 83-85.

12. Прокудин Ю.М., Вовк А.Г., Петрова О.А. Злаки Украины. – К.: Наукова думка, 1977. – 520 с.

13. Растительные ресурсы России и сопредельных государств: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства *Butomaceae* – *Typhaceae*. – С.Пб.: Наука, 1994. – С. 125-126.

14. Соколов С.Я. Фитотерапия и фитотерапевтика: Руководство для врачей. – М.: Мед. информ. агентство, 2000. – 976 с.

15. Солодовниченко Н.М., Журавльов М.С., Ковальов В.М. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати: Посіб. з фармакогнозії з основами біохімії лікар. рослин. – Харків: Вид-во НФАУ: "Золоті сторінки", 2001. – 408 с.

16. Черногород Л.Б., Виноградов Б.А. Эфирные масла некоторых видов рода *Achillea* L., содержащие фразанол // Растительные ресурсы. – 2006. – 42, вып. 2. – С. 61-68.

17. Энциклопедический словарь лекарственных растений и продуктов животного происхождения: Учебное пособие / Под ред. Г.П. Яковлева и К.Ф. Блиновой. – С.Пб: Специальная литература, 1999. – С. 236.

18. Couch Grass Rhizome. – *European Pharmacopoeia* 4, 2002. – Strasburg. – P. 983-984.

19. Hershoff A., Rotelli A. Herbal remedies. – New York: Avery, 2001. – P. 112, 206.

20. Schultz T.H. Chemical Analysis in Methods in Carbohydrate Chemistry / Ed. R.L. Whistler, Acad. Press, New York, 1965. – P. 25.

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ ПЫРЕЯ ПОЛЗУЧЕГО *AGROPYRON REPENS* (L.)

О.Б. Калущка, С.М. Марчишин

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

Изучен химический состав надземной части пырея ползучего. Установлено наличие дубильных веществ, органических кислот, полисахаридов, свободных сахаров, эфирных масел, в которых обнаружено 39 компонентов. Изучен мономерный состав полисахаридов. В надземной части пырея ползучего установлено количественное содержание дубильных веществ (16,79%), органических кислот (1,67%) и полисахаридов (4,55%).

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пырей ползучий, надземная часть, дубильные вещества, органические кислоты, полисахариды, эфирные масла, свободные сахара.

CHEMICAL COMPOSITION OF ABOVEGROUND PART OF COUCH-GRASS CREEPING *AGROPYRON REPENS* (L.)

O.B. Kalushka, S.M. Marchyshyn

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I. YA. HORBACHEVSKY

Summary

The chemical composition of aboveground part of *Agropyron repens* (L.) was studied. Presence of tannic substances, organic acids, polysaccharides, essential was established oils, 39 components were revealed in them. The monomer composition of polysaccharides was studied. In the aboveground surface part of couch-grass creeping (*Agropyron repens* (L.)) the quantitative content of tannic substances (16,79%), organic acids (1,67%) and polysaccharides (4,55%) was determined.

KEY WORDS: Couch-grass creeping (*Agropyron repens*), surface part, tannic substances, organic acids, polysaccharides, ether oils, free sugars.

Отримано 20.02.2008 р.

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

ПОКАЗНИКИ СПЕРМАТОГЕНЕЗУ ТА РЕПРОДУКТИВНОЇ ФУНКЦІЇ ЩУРІВ В УМОВАХ ВВЕДЕННЯ ХІНОБОЛІНУ

О.Ф. Тацький

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

Вивчено гонадотропну дію хіноболіну, який проявляє діуретичну дію. Показано, що він не проявляє гонадотоксичної дії та негативного впливу на репродуктивну функцію щурів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гонадотоксична дія, репродуктивна функція, хіноболін.

ВСТУП. Будь-яка субстанція або лікарська форма на стадії доклінічного вивчення проходить повне фармакологічне дослідження. Важливо все: і визначити гостру токсичність, і знайти ефективну дозу майбутнього препарату, і виявити його вплив на органи та системи в хронічному експерименті. Особливе місце серед всіх досліджень займає тестування ембріо- та гонадотоксичної дії лікарських засобів, оскільки це один із заходів профілактики ембріопатій та уроджених аномалій розвитку людини [5, 6, 8]. Крім того, аналіз світової і вітчизняної літератури показує, що гонадотоксична дія деяких чинників обумовлена їх мутагенною властивістю, яка, у свою чергу, поєднується з ембріотоксичною дією.

Мета даної роботи – вивчити можливі гонадо- та ембріотоксичну дії хіноболіну.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Вивчення гонадотропної дії хіноболіну проводили на статевозрілих нелінійних білих щурах-самцях масою 170-180 г згідно з методичними вказівками для вивчення гонадотоксичної дії нових лікарських препаратів [1].

Тварин поділили на дві групи по 10 щурів у кожній. Щурам-самцям протягом 48 діб – періоду сперматогенезу (періоду перед першим поділом сперматогоніїв і виштовхуванням сперматозоїдів із сім'яника) – 1 раз на добу в один і той же час всередину вводили хіноболін у максимальній дозі 200 мг/кг (дослідна група) [1]. Другій групі тварин (контрольній) протягом такого ж часу вводили всередину дистильовану воду.

© О.Ф. Тацький, 2008.

Евтаназію всіх щурів проводили шляхом декапітації під гексеналовим наркозом (60 мг/кг підшкірно) на 49 добу. Морфологічну обробку матеріалу здійснювали загальноприйнятим методом [1, 3]. Тварин утримували за стандартних умов віварію при сталій температурі й вологості повітря з вільним доступом до води та їжі. Для оцінки стану статевих залоз використовували функціональні й морфологічні показники та мікроскопічне дослідження сім'яників [1].

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).

Дані обробляли методами непараметричної статистики із застосуванням t-критерію Стьюдента [7].

В усіх випадках різницю вважали вірогідною при $p < 0,05$. При зовнішньому огляді сім'яників звертали увагу на наявність чи відсутність запальних змін, атрофії, стан кровонаповнення, вивчали розмір сім'яників відносно маси тіла. Для характеристики функціонального стану сперматозоїдів (на склі у вологій камері) визначали витривалість щодо рН середовища (кислотна резистентність), осмотичну стійкість, концентрацію сперматозоїдів у камері Горяєва та кількість дегенеративних і мертвих сперматозоїдів.

Про стан сім'яутворюючого епітелію тварин робили висновки за кількісною оцінкою структурно-функціональних елементів сім'яників, на підставі якої розраховували індекс сперматогенезу. Для цього підраховували в 100 каналцях відносно кількість каналців з 12-ю стадією

мейозу, відносну кількість каналъців із злуцценым сперматогенным епітеліем, у 20 каналъцяx – число нормальных сперматозоїдів у каналъці. Індекс сперматогенезу визначали за формулою: $I = \frac{A}{100}$, де А – кількість шарів спермато-

генного епітелію, виявлена в кожному каналъці; 100 – число підрахованих каналъців.

При підрахунку кількості шарів сперматогенного епітелію фіксували в каналъцях наявність сперматогоніїв, сперматозоїдів 1-го і 2-го порядку. Індекс сперматогенезу визначали за 4-бальною системою, де кожний шар – 1 бал (табл. 1).

Таблиця 1 – Функціональні та морфологічні показники сперматогенезу щурів, які одержували хіноболін

Показники	Контрольна група тварин	Щури, яким вводили хіноболін
Функціональні		
Рухливість сперматозоїдів	197,05±8,74	198,11±4,00
Концентрація сперматозоїдів	6,2±0,50	6,92±0,78
Осмотична резистентність, %	4,12±0,2	4,01±0,03
Кислотна резистентність	6,41±0,22	6,62±0,01
Патологічні форми сперматозоїдів, %	0,50±0,19	0,48±0,12
Мертві сперматозоїди, %	13,33±0,92	13,01±0,67
Морфологічні		
Індекс сперматогенезу (бали)	4,01±0,62	4,33±0,15
Нормальні сперматогонії, %	39,69±1,48	37,12±0,83
Каналъці зі злуцценым епітеліем, %	3,91±0,25	3,32±0,5
Каналъці з 12-ю стадією мейозу, %	3,1±0,34	3,12±0,2
Макроскопічні		
Довжина сім'яників, см	3,06±0,04	3,12±0,06
Маса сім'яників, г	3,09±0,05	2,12±0,06
лівий	2,76±0,09	2,72±0,08
правий	2,75±0,08	2,69±0,08
Коефіцієнт сім'яників за масою, %	0,44±0,03	0,46±0,03

Експерименти щодо вивчення впливу хіноболіну на репродуктивну функцію проводили на білих нелінійних щурах-самцях і самках масою 200-220 г. Тварин поділили на три групи по 10 щурів у кожній. Щурам-самцям 1-ї групи та щурам-самкам 2-ї групи вводили хіноболін у дозі 200 мг/кг – вищій дозі, при якій не відмічали загибелі самців і самок та при якій не розвивалися видимі ознаки інтоксикації. Самцям препарат вводили протягом 60 днів – терміну, необхідного для повного сперматогенезу з дозріванням сперматозоїдів у каналъцях придатка. Самкам свічки вводили впродовж 30 днів – терміну, необхідного для оогенезу – розвитку фолікулів до стадії граафового пухирця. Після завершення введення препарату самців спаровували з інтактними самками, які мали нормальний естральний цикл, а самок – зі здоровими самцями. Інтактним контролем слугували самці (спарені з інтактними самками – 3-тя група), яким протягом того ж терміну вводили хіноболін у тій же дозі. Самок підсаджували до самців у стадії проеструс у співвідношенні 2:1 на два ест-

ральні цикли. Запліднення реєстрували за допомогою вагінальних мазків. Початком вагітності вважали день визначення сперматозоїдів у піхвовому мазку.

Кількість самок у групі, які завагітніли, стала показником здатності самців до запліднення чи здатності самок до зачаття. Евтаназію самок проводили шляхом декапітації також під гексеналовим наркозом (60 мг/кг підшкірно) на 20-й день вагітності. При розтині підраховували кількість живих плодів і тих, що загинули, кількість жовтих тіл, місць імплантації у матці. На підставі цих даних визначали рівень перед- і постімплантованої смертності зародків, а для оцінки плодючості вираховували індекс плодючості та індекс вагітності [1] (табл. 2). В усіх випадках різницю вважали вірогідною при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати експериментів наведено в таблицях 1, 2. Дані, представлені в таблиці 1, свідчать про те, що хіноболін не проявляє гонадотропної дії, оскільки не має патологічного впливу на

Таблиця 2 – Вплив хіноболіну на репродуктивну функцію щурів

Показники (на 1 самку)	Групи тварин		
	1-ша	2-га	3-тя
Число жовтих тіл	9,82±0,61	9,35±0,32	9,61±0,11
Число місць імплантації	9,26±0,48	8,88±0,51	9,0±0,50
Число живих ембріонів	9,36±0,47	8,92±0,40	9,02±0,33
Число вагітних самок	1,81±0,11	1,80±0,14	1,62±0,2
Передімплантаційна загибель, %	2,92	1,99	3,14
Постімплантаційна загибель, %	3,26	4,13	3,65
Індекс вагітності	90	85	85
Індекс плодючості	100	100	100
Число мертвих ембріонів	0,29±0,1	0,35±0,1	0,33±0,1

функціональний стан сперматозоїдів і не змінює розмір, масу та коефіцієнт маси сім'яників.

Аналіз результатів, наведених у таблиці 2, дозволяє зробити висновок, що хіноболін не проявляє негативного впливу на репродуктивну функцію щурів. Про це свідчить відсутність вірогідної різниці у тварин дослідної та контрольної груп у кількості жовтих тіл у яєчниках, місць імплантації у матці, кількості живих і мертвих плодів.

Отримані нами результати збігаються з даними літератури про те, що препарат в дозі 200 мг/кг не має патологічного впливу на функціональний стан сперматозоїдів і не змінює розмір, масу та коефіцієнт маси сім'яників, тобто не проявляє гонадотоксичної дії і не впливає на репродуктивну функцію щурів [2, 4].

ВИСНОВОК. Хіноболін у дозі 200 мг/кг не проявляє гонадотоксичної дії і не має негативного впливу на репродуктивну функцію щурів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бариляк І.Р., Неумержицька Л.В. Вивчення гонадотропної дії нових лікарських засобів та їх впливу на репродуктивну функцію тварин // Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. О.В. Стефанова. – К., 2001. – С. 139-152.
2. Березнякова М.Є., Глазкова Т.Ю., Рибак В.А., Тюпка Т.І. Вивчення можливої гонадотропної дії нової похідної етан-(етилен)-дикарбонової кислоти та її вплив на репродуктивну функцію // Одес. мед. журн. – 2002. – № 4 (72). – С. 29-30.
3. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж.П. Методи и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. – М.: Высшая школа, 1991. – 228 с.
4. Гнатюк В.В. Можлива гонадотропна і ембріотоксична дія супозиторіїв "Пантезін" // Медицина сьогодні і завтра. – 2006. – № 1. – С. 19-22.
5. Принципы оценки риска для потомства в связи с воздействием химических веществ в период беременности: Современное издание программы ООН по окружающей Международной организации труда и Всемирная организация здравоохранения. – М.: Медицина, 1988. – 155 с.
6. Проблемы нормы в токсикологии (Современные представления и методические подходы, основные параметры и константы) / Под ред. И.М. Трахтенберга. – 2-е изд. – М.: Медицина, 1991. – 203 с.
7. Сернов Л.Н., Гацура В.В. Статистические методы оценки достоверности результатов фармакологических исследований // Элементы экспериментальной фармакологии. – М., 2000. – С. 308-315.
8. International registry of chemical currently being tested for toxic effect (CCVE), June 1992 (Geneva); UNEPIGLO/WHO, 1992. – 326 p.

ПОКАЗАТЕЛИ СПЕРМАТОГЕНЕЗА И РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ ХИНОБОЛИНА

А.Ф. Тацкий

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

Изучено гонадотропное действие хиноболина, который проявляет диуретическое действие. Показано, что он не оказывает гонадотоксического действия и отрицательного влияния на репродуктивную функцию крыс.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **гонадотоксическое действие, репродуктивная функция, хиноболин.**

INFLUENCE OF CHINOBOLINE ON INDEXES OF SPERMATOGENESIS AND REPRODUCTIVE FUNCTION OF RATS

O.F. Tatsky

NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

Summary

The gonadotropic action of chinoboline, manifesting the diuretic action, has been investigated. It is shown that chinoboline do not manifest gonadotoxic action and negative influence on reproductive function of rats.

KEY WORDS: **gonadotoxic action, reproductive function, chinoboline.**

Отримано 17.04.2008 р.

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

ВИВЧЕННЯ АМІНОКИСЛОТНОГО ТА ЕЛЕМЕНТНОГО СКЛАДУ ДЕЯКИХ ВИДІВ РОДУ *MEDICAGO L.***С.В. Ковальов**

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

У статті наведено результати вивчення амінокислотного та елементного складу 10 видів і 5 сортів люцерни. Досліджено якісний склад та кількісний вміст амінокислот. Ідентифіковано 16 амінокислот, 9 з яких належать до незамінних. Встановлено наявність 19 макро- та мікроелементів у сировині.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: люцерна, амінокислоти, макро- та мікроелементи.

ВСТУП. Люцерна (лат. *Medicago L.*) – рід однорічних та багаторічних трав або чагарників родини бобових (*Fabaceae*). У природі нараховується близько 100 однорічних та багаторічних видів люцерни, з яких приблизно 60 видів зустрічаються на території СНД. У межах роду *Medicago L.* виділяють 12 секцій, 8 підсекцій, 100 видів, 5 підвидів та 9 різновидностей. У флорі України налічується 19 видів роду *Medicago L.*, з них 12 видів зустрічаються тільки в Криму [4, 6, 9].

Актуальним є вивчення біологічно активних речовин (БАР) люцерни з метою подальшого застосування її як лікарської рослинної сировини.

Люцерна посівна містить велику кількість хлорофілу, білка, β -каротин, вітаміни груп D, B (B_1 , B_2 , B_{12}), E, а також ряд протеолітичних ферментів, які розщеплюють білки, та ізофлавоноїдів [6, 8].

З літературних джерел відомо, що трава люцерни посівної містить такі амінокислоти: лізин, фенілаланін, ізолейцин, метіонін, валін, лейцин, треонін, триптофан, серин, гліцин, гістидин, аспарагінову та глютамінову кислоти, тирозин, аргінін, аланін [7, 8].

Люцерна – одна з найбільш багатих мінеральними сполуками рослина. Макро- та мікроелементи в люцерні перебувають в добре збалансованому стані, що полегшує їх засвоєння. Рослина містить кальцій, магній, калій, фосфор, залізо, селен, кремній, натрій, фтор, сірку, цинк, кобальт, мідь, марганець [7].

Мікроелементи в рослинах є коферментами. Вони впливають на багато життєвих функцій

як у рослинах, так і в людському організмі. Так, магній є складовою частиною хлорофілів, які забезпечують процес фотосинтезу. Вплив мікроелементів на синтез інших БАР, зокрема амінокислот, відомий. Так, кобальт і цинк беруть участь, поряд із фенілаланіном, тирозином і триптофаном, в синтезі ароматичних сполук. Марганець, мідь, хром і залізо є активаторами окиснювально-відновлювальних реакцій на різних стадіях біогенезу рослини. Бор, молібден, мідь та марганець позитивно впливають на біосинтез флавонолідів [2, 5].

З метою подальшого вивчення дослідних зразків трави деяких видів люцерни нами було проведено аналіз якісного і кількісного вмісту амінокислот та макро- і мікроелементів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Вивчення якісного складу та кількісного вмісту амінокислот досліджуваних зразків трави люцерни

Для визначення амінокислотного складу використовували види люцерни, заготовлені на базі Полтавської дослідної станції та в Харківській області у 2007 році.

Попереднє хроматографічне вивчення якісного складу амінокислот у досліджуваних видах трави люцерни проводили таким чином.

Аналітичну пробу сировини подрібнювали до розміру частинок, які проходять крізь сито з отворами розміром 2 мм. 20,0 г подрібненої сировини поміщали у колбу, заливали 70 % спиртом (1:10) і настоювали. Спиртовий витяг випарювали до близько 10 мл і наносили на хроматограму. Попереднє вивчення якісного складу амінокислот у досліджуваних зразках трави люцерни проводили методом висхідної хроматографії на папері "Filtrak FN-4" у системі

розчинників н-бутанол – кислота оцтова – вода (4:1:2). Для порівняння використовували стандартний набір амінокислот (ТУ 6-09-3147-83) у концентрації 0,1 %. Хроматограми обробляли 0,2 % спиртовим розчином нінгідрину в ацетоні та висушували у сушильній шафі при температурі 60-80 °С. Амінокислоти ідентифікували з достовірними зразками за забарвленням плям і значенням R_f при паралельному хроматографуванні [1, 3, 10]. Виявлено 16 амінокислот. Одержані дані наведено в таблиці 1.

Кількісний вміст амінокислот у досліджуваних зразках трави люцерни визначали за допомогою автоматичного амінокислотного аналізатора LKB 4151 "Альфа Плюс" (Швеція) на колонці, заповненій іонообмінною смолою марки DCGA. Для проведення дослідження сировину попередньо витримували у сушильній шафі при температурі 100 °С протягом 2-3 год. Потім близько 0,1 г (точна наважка) одержаної сировини вносили в ампулу (скло Пірекс), заливали 200-кратним надлишком 6M розчину кислоти хлористоводневої, відкачували повітря, запаювали, поміщали у термостат на 20 год при температурі 80 °С і гідролізували. Після цього ампулу розкривали, надлишок кислоти хлористоводневої відганяли при температурі 100 °С і подальшу нейтралізацію проб проводили в ексикаторі над натрію гідроксидом протягом 2 діб. Потім пробу розбавляли 10 мл цитратного буферного розчину (рН 2,2), перемішували і фільтрували. Одержаний фільтрат вносили у колонку, заповнену іонообмінною смолою, і крізь колонку за допомогою насоса пропускали цитратні буферні розчини з різними значеннями рН і різною іонною силою, що сприяло розділенню амінокислот.

Елюат, який виходив із колонки, змішувався з нінгідриним реагентом у реакторі при температурі 135 °С. У реакторі проходила реакція між нінгідрином і амінокислотами з утворенням забарвлених сполук. Кількість утворених забарвлених сполук прямо пропорційна кількості амінокислоти в елюаті. Потім суміш надходила до фотометра, де вимірювали інтенсивність поглинання забарвленої сполуки. Вихідний сигнал фотометра надходив на двоканальний самописець, який реєстрував концентрації амінокислот на хроматограмі у вигляді серії піків. Час утримування піку, який визначали за хроматограмою, характеризує кожну індивідуальну амінокислоту. Площа піку відповідає кількості присутньої амінокислоти. Електричний сигнал самописця також надхо-

див на інтегратор, який автоматично обчислював площу кожного піку. Для калібрування амінокислотного аналізатора крізь катіоніт пропускали стандартну суміш амінокислот [1, 3].

Вивчення елементного складу досліджуваних зразків трави люцерни

Проби подрібненої сировини обробляли кислотою сульфатною і спалювали у муфельній печі при температурі 500 °С протягом 1 год.

Для вивчення якісного та кількісного елементного складу досліджуваних зразків трави люцерни був застосований метод атомно-абсорбційної спектроскопії, який полягає у випарюванні проб в дуговому розряді, фотографічній реєстрації розкладеного спектра випромінювання і вимірюванні спектральних ліній окремих елементів. Проби випарювали з кратерів графітових електродів у розряді дуги змінного струму силою 16 А при експозиції 60 с; як джерело збудження спектрів використовували ІВС-28. Реєстрували спектри на фотопластинках за допомогою спектрографа ДФС-8 із трилінзовою системою освітлення щілини та дифракційним штахетом 600 штр/мм. Вимірювання інтенсивності ліній у спектрах досліджуваних проб проводили із застосуванням мікрофотометра МФ-4 за довжини хвилі від 240 до 347 нм порівняно зі стандартними зразками елементів. У результаті досліджень визначено вміст 19 макро- та мікроелементів. Результати досліджень наведено в таблиці 2.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Вперше досліджено 10 видів та 5 сортів трави люцерни на наявність в них амінокислот. В досліджуваних зразках трави люцерни ідентифіковано 16 амінокислот, у тому числі 9 незамінних: валін, треонін, метіонін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін, гістидин, лізин, аргінін. Як видно з таблиці 1, найбільше амінокислот міститься у люцерні строкатогібридній (№ 13), декілька видів люцерни, зокрема люцерна хмелеподібна (№ 12), люцерна Бланхіана (№ 6) та люцерна витончена (№ 3), незначно поступаються за кількісним вмістом амінокислот. У досліджуваних видах люцерни домінують аспарагінова кислота, лізин, аргінін, ізолейцин.

Результати досліджень елементного складу зразків трави люцерни наведено в таблиці 2. Застосована методика дозволила визначити кількісний вміст у досліджуваних зразках 19 макро- та мікроелементів: домінують Са, К, Mg, P та Na.

В люцерні строкатогібридній, люцерні округлій та люцерні Бланхіана кількісний вміст

Таблиця 1 – Результати визначення якісного складу та кількісного вмісту амінокислот досліджуваних зразків трави люцерни

№ з/п.	Речовина	Загальна формула	Rf БОВ (4:1:2)*	Вміст амінокислоти, % на суху масу											
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	Аспарагінова кислота	$C_4H_6O_4N$	0,16	2,30	1,93	0,70	2,30	2,50	3,00	2,00	2,10	3,70	1,55	2,00	4,00
2	Треонін	$C_4H_9O_2N$	0,18	0,65	0,75	0,40	0,95	0,65	0,90	0,70	0,90	0,85	0,50	1,67	1,70
3	Серин	$C_3H_7O_3N$	0,15	0,70	0,80	0,52	0,90	0,90	1,00	0,85	0,80	0,90	0,70	0,95	1,80
4	Глутамінова кислота	$C_5H_8O_4N$	0,17	1,30	1,60	0,80	1,65	1,20	2,00	1,45	1,75	1,80	0,90	1,90	3,80
5	Пролін	$C_5H_9O_2N$	0,24	0,55	0,64	1,10	1,65	0,65	0,55	0,80	0,84	0,77	0,20	1,40	0,70
6	Гліцин	$C_2H_5O_2N$	0,21	0,60	0,80	0,65	0,72	0,52	1,00	0,77	0,73	0,86	0,50	0,70	1,70
7	Аланін	$C_3H_7O_2N$	0,20	0,65	0,85	1,10	1,00	0,40	1,00	0,80	0,88	1,00	0,50	0,85	1,75
8	Валін	$C_5H_{11}O_2N$	0,43	0,56	0,753	1,00	1,70	0,65	1,00	0,67	1,62	0,85	0,47	0,65	1,65
9	Метіонін	$C_5H_{10}O_2NS$	0,39	0,95	1,30	0,95	12,00	1,10	1,70	0,90	1,00	0,40	1,00	0,93	1,00
10	Ізолейцин	$C_6H_{13}O_2N$	0,73	0,65	0,73	1,00	1,50	0,20	1,00	1,00	0,92	0,85	0,70	0,75	1,90
11	Лейцин	$C_6H_{13}O_2N$	0,68	1,10	1,15	1,10	1,70	0,80	1,65	1,10	1,53	1,50	0,86	0,90	2,75
12	Тирозин	$C_9H_{13}O_3N$	0,58	0,83	1,15	3,20	1,30	0,55	1,35	0,83	2,30	0,70	0,43	0,45	1,50
13	Фенілаланін	$C_9H_{12}O_2N$	0,36	0,35	0,70	4,30	1,30	0,65	0,90	0,35	0,70	0,40	0,26	0,42	0,93
14	Гістидин	$C_6H_{11}O_2N_3$	0,10	0,50	0,46	3,20	0,95	0,35	0,70	0,50	0,95	1,30	0,65	0,60	0,77
15	Лізин	$C_6H_{13}O_2N_2$	0,05	1,10	1,00	9,50	2,10	0,70	2,00	1,10	1,20	1,20	0,77	0,80	2,35
16	Аргінін	$C_6H_{15}O_2N_4$	0,06	1,60	1,00	4,50	1,65	0,85	2,00	1,60	2,00	3,00	3,00	2,00	3,20

Примітки:

1. Л. хмелеподібна.
2. Сорт Регіна.
3. Л. витончена.
4. Сорт Вінничанка.
5. Сорт Синюха.
6. Л. округла.
7. Сорт Vela Vertis.
8. Л. Бланхіана.
9. Л. шиткоподібна.
10. Л. серлоподібна.

11. Л. мітлива.
12. Л. хмелеподібна (однорічна).
13. Сорт строкатогибридна.
14. Л. румунська.
15. Л. посівна.

* – БОВ (4:1:2) – н-Буганол-кислота оцтова – вода.

Таблиця 2 – Результати визначення елементного складу досліджуваних зразків трави люцерни

Елементи	Вміст елемента, мг/100 г										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Ca	860	950	680	750	860	810	880	1000	1220	1040	1190
Mg	400	370	270	300	350	480	520	590	500	460	400
P	170	190	130	160	170	160	190	210	270	220	230
Na	590	310	140	250	410	190	420	530	430	140	500
K	1520	1580	1420	1250	1820	2850	2080	3540	4290	2320	2500
Mn	20	30	20	10	20	90	80	110	40	60	30
Cu	0,7	0,4	0,35	0,3	0,4	0,7	0,6	0,8	0,4	0,35	0,25
Pb	0,05	0,05	0,03	0,04	0,05	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03
Ni	0,5	0,2	0,2	0,2	0,09	0,8	0,4	1,0	0,3	0,35	0,4
Co	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03
Mo	0,06	0,05	0,03	0,04	0,05	0,05	0,05	0,06	0,07	0,06	0,06
Zn	30	8	6	7	6	10	20	20	10	7	8
Si	810	560	280	440	490	760	830	940	1440	900	990
Fe	150	30	60	40	30	50	70	90	260	220	100
Al	100	100	40	60	90	95	130	150	290	120	100
Cd	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
As	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Hg	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Sr	5	6	4	6	5	7	8	10	4	6	10

Примітки:

1. Л. хмелеподібна.
2. Сорт Регіна.
3. Л. витончена.
4. Сорт Вінничанка.
5. Сорт Синюха.
6. Л. округла.
7. Сорт Vela Vertis.
8. Л. Бланхіана.
9. Л. щиткоподібна.
10. Л. серлоподібна.
11. Л. мінлива.
12. Л. хмелеподібна (однорічна).
13. Сорт строкатогібридна.
14. Л. румунська.
15. Л. посівна.

* – відсутні V, Ti, Ga, Ag, Sb, Cr, Bi, Ge.

заліза, марганцю та міді помітно корелює із вмістом тирозину і фенілаланіну. В люцерні втонченій кореляція відмічається між вмістом тирозину і фенілаланіну із залізом.

ВИСНОВКИ. 1. Вперше досліджено якісний склад та кількісний вміст амінокислот 10

видів та 5 сортів люцерни. Встановлено наявність 16 амінокислот, у тому числі 9 незамінних. Домінують аспарагінова кислота, лізин, аргінін, ізолейцин.

2. Вперше визначено 19 макро- та мікроелементів і наведено їх порівняльну характеристику.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бородіна Н.В., Ковальов С.В. Амінокислотний склад *Populus tremula* L. // Фармаком. – 2003. – № 4. – С.32-36.

2. Витамины и минеральные вещества: Полная энциклопедия / Сост. Т.П. Емельянова. – С.Пб.: ИД "Весь", 2001. – 368 с.

3. Демешко О.В., Ковальов С.В., Комісаренко С.М. Вивчення амінокислотного складу листа *Robinia pseudoacacia* L. // Фармаком. – 2004. – № 4. – С. 61-64.

4. Доброчаева Д.Н., Котов М.И., Прокудин Ю.Н. и др. Определитель высших растений Украины. – К.: Наукова думка, 1987. – 548 с.

5. Емельянова І.В., Ковальов С.В., Журавель І.О. Вивчення мінерального складу грінделії розчепіреної // Фармац. журн. – 2005. – № 6. – С. 74-75.

6. Ковальов С.В., Ковальова А.М., Єременко Р.Ф. та ін. Дослідження фенольного комплексу із трави люцерни посівної // Фармац. часопис. – 2008. – № 2 (6). – С. 27-30.

7. Лукманова К.А., Рябчук В.А., Салихова І.Х. Амінокислотний і мінеральний склад фітопрепарата люцерон // Фармація. – 2000. – 49, № 2. – С. 25-27.

8. Люцерна посевная – *Medicago sativa* L. // Лекарственные свойства сельскохозяйственных растений. – Мн.: Ураджай, 1985. – С. 101-102.

9. Синская Е.Н. Люцерна. Культурная флора СССР. – М. – Л., 1950. – Т. 13, вып. 1. – 344 с.

10. Хроматография на бумаге / Под ред. И.М. Хайса и К. Мацека. – М.: Изд-во иностран. лит-ры, 1962. – 851 с.

ИЗУЧЕНИЕ АМИНОКИСЛОТНОГО И ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РОДА *MEDICAGO* L.

С.В. Ковалев

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

Резюме

В статье приведены результаты изучения аминокислотного и элементного состава 10 видов и 5 сортов люцерны. Исследованы качественный состав и количественное содержание аминокислот. Идентифицировано 16 аминокислот, 9 из которых принадлежат к незаменимым. Установлено наличие 19 макро- и микроэлементов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: люцерна, аминокислоты, макро- и микроэлементы.

STUDY OF AMINO ACID AND ELEMENT COMPOSITION OF SOME SPECIES OF *MEDICAGO* L FAMILY

S.V. Kovalyov

NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

Summary

The amino acid and element composition was studied in 10 species and 5 sorts of alfalfa. Qualitative composition and quantitative contents of amino acids was studied. 16 amino acids were identified, 9 of them are essential. 19 macro- and microelements were found out in herbal drug.

KEY WORDS: alfalfa, amino acids, macro- and microelements.

Отримано 6.11.2008 р.

Адреса для листування: С.В. Ковальов, просп. Тракторобудівників, 162, кв. 121, Харків, 61129, Україна.

ЗМІНИ КОНЦЕНТРАЦІЙ ДЕЯКИХ ГОСТРОФАЗНИХ БІЛКІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЖІНОК ПРИ ГОСТРОМУ АПЕНДИЦИТІ

Н.О. Танадайчук

ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ

У роботі представлено результати визначення концентрацій α -1-антитрипсину, С-реактивного білка, гаптоглобіну, церулоплазміну в сироватці крові здорових жінок та при гострому апендициті.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: α -1-антитрипсин, С-реактивний білок, гаптоглобін, церулоплазмін, сироватка, здорові жінки, гострий апендицит.

ВСТУП. Зміни гострофазнобілкових (α -1-антитрипсину, С-реактивного білка, гаптоглобіну, церулоплазміну тощо) показників сироватки крові широко використовують при діагностиці гострих бактеріальних та вірусних інфекцій, колагенозів, холециститу, гепатиту, панкреатиту, пневмонії та інших хвороб [3, 8]. Однак у доступних нам джерелах інформації ми не знайшли відомостей про застосування гострофазнобілкових показників при діагностиці гострого апендициту. Гостре запалення червоподібного відростка – відносно поширена хвороба [5, 7], при якій діагностичні помилки можуть сягати 15-25 % і більше [2], особливо у дітей і людей похилого віку [6]. Враховуючи те, що збудниками гострого апендициту доволі часто є грамнегативні бактерії (*E. Coli* й ін.), анаероби, ентерококи тощо [1], ми вирішили вивчити зв'язок між змінами вмісту гострофазних білків у крові та наявністю цієї хвороби.

Метою роботи було вивчення концентрацій і їх співвідношення у сироватці крові α -1-антитрипсину, С-реактивного білка, гаптоглобіну і церулоплазміну у хворих жінок з різними формами перебігу гострого апендициту.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. При вивченні закономірностей змін концентрацій гострофазних білків у сироватці крові нами проведено лабораторне обстеження 70 хворих жінок (віком від 12 до 81 року) з катаральним (28),

флегмонозним (25) та гангренозним (17) гострим апендицитом в першу годину після звернення їх до хірургічного відділення за допомогою. Одержані результати порівнювали з даними групи здорових жінок (33) без ознак запалення органів. У сироватці крові хворих і здорових визначали концентрації α -1-антитрипсину, С-реактивного білка, гаптоглобіну і церулоплазміну із застосуванням імунологічних методів та комплектів реактивів за інструкціями 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 гострофазних білків у сироватці крові більшості хворих жінок з гострим апендицитом виявлено його помірне підвищення (табл. 1). Порівняно з результатами здорових жінок при катаральному апендициті концентрація α -1-антитрипсину зростала в середньому на 36,1 % (недостовірно), при флегмонозному – на 50,8 % (достовірно), а при гангренозному – на 67,6 % (достовірно). Порівняно з даними при катаральному апендициті у жінок вміст α -1-антитрипсину незначно збільшувався при флегмонозному та гангренозному, а при гангренозному запаленні відносно флегмонозного цей показник достовірно зростав всього на 11,2 %.

© Н.О. Танадайчук, 2008.

Таким чином, отримані дані свідчать про те, що при катаральному запаленні червоподібного відростка реєструється помірне підвищення концентрації α -1-антитрипсину в сироватці крові, а більш значне воно при тяжчих формах (флегмонозній та гангренозній). Це не випадковість, бо відповідає доведеним фактам про велику роль в захисті організму гострофазнобілкової системи при запаленнях різних органів [3, 8], і наше завдання полягає у належному використанні для діагностики вказаних закономірностей патогенезу хвороби.

Відносно більш значно достовірно збільшувалась концентрація С-реактивного білка порівняно з даними групи здорових жінок: у хворих з катаральним апендицитом – у середньому в 3,64 раза, з флегмонозним – в 12,18 раза, а з гангренозним – аж в 20,45 раза (див. табл. 1). Порівняно з результатами при катаральному апендициті у жінок вміст С-реактивного білка суттєво зростає: при флегмонозному – в 3,33 раза, при гангренозному – в 5,6 раза, а при гангренозному апендициті відносно флегмонозного цей показник збільшувався всього в 1,68 раза.

Таблиця 1 – Рівень гострофазних білків ($M \pm m$) у сироватці крові жінок при різних формах перебігу гострого апендициту

Гострофазні білки	p	Здорові (n=33)	Гострий апендицит		
			катаральний (n=28)	флегмонозний (n=25)	гангренозний (n=17)
α -1-антитрипсин, мг/л	p ₁ p ₂ p ₃	1,335±0,059	1,817±0,471 <0,5	2,013±0,07 <0,001 >0,5	2,238±0,086 <0,001 <0,5 <0,05
С-реактивний білок, мг/л	p ₁ p ₂ p ₃	2,935±0,204	10,705±1,684 <0,001	35,754±4,268 <0,001 <0,001	60,038±3,854 <0,001 <0,001 <0,001
Гаптоглобін, мг/л	p ₁ p ₂ p ₃	0,971±0,069	1,233±0,107 <0,05	1,608±0,219 <0,01 <0,25	2,175±0,242 <0,001 <0,001 <0,1
Церулоплазмін, мг/дл	p ₁ p ₂ p ₃	31,35±1,373	31,38±1,535 >0,5	32,4±1,801 <0,5 <0,5	28,86±1,664 <0,5 <0,5 <0,5

Примітка. p₁ – відображає різницю між показниками у групі здорових і групі хворих з гострим апендицитом; p₂ – між показниками у групі хворих з катаральним апендицитом та флегмонозним чи гангренозним; p₃ – між показниками у групі хворих з флегмонозним апендицитом та гангренозним.

Таким чином, отримані результати переконливо свідчать про те, що концентрація С-реактивного білка у сироватці крові достовірно зростала відповідно до ступеня тяжкості запалення червоподібного відростка: всього в декілька разів у жінок з катаральним апендицитом і в десятки разів при флегмонозному та гангренозному. Кожній формі перебігу гострого апендициту відповідає певна середньостатична величина вмісту С-реактивного білка, яка достовірно більша, ніж при менш легкій формі запалення, що обґрунтовує використання цього показника не тільки для діагностики, але і для диференціювання ступенів тяжкості перебігу хвороби.

При катаральному запаленні червоподібного відростка концентрація гаптоглобіну в сироватці крові достовірно підвищувалась на

26,9 % порівняно з результатами групи здорових жінок, при флегмонозному – на 65,6 %, а при гангренозному – на 123,9 % (див. табл. 1). Порівняно з даними при катаральному апендициті у жінок вміст гаптоглобіну збільшувався: при флегмонозному – на 30,4 % (недостовірно), при гангренозному – на 76,4 % (достовірно), а зростання цього показника при гангренозному запаленні відносно флегмонозного було несуттєвим.

Отримані дані свідчать про те, що достовірно помірне підвищення концентрації гаптоглобіну в сироватці реєстрували як при найлегшому (катаральному), так і при більш виразних запаленнях (флегмонозному та гангренозному) червоподібного відростка і без суттєвої різниці між гангренозною та флегмонозною формами перебігу. Одночасно ви-

являли достовірну різницю між зростанням вмісту гаптоглобіну при гангренозному апендициті порівняно з катаральним, що можна використати для диференційної діагностики.

Під час вивчення концентрації церулоплазміну в сироватці крові були відсутні достовірні зміни при катаральному, флегмонозному і гангренозному апендициті відносно показника у здорових жінок.

Діагностичне значення змін середньостатистичних концентрацій гострофазних білків при різних формах перебігу гострого апендициту аргументується цифровими величинами діагностичних критеріїв (чутливості, специфічності, значимості, ефективності) (табл. 2).

При гострому катаральному апендициті у жінок реальне діагностичне значення має тільки збільшення концентрації у сироватці

Таблиця 2 – Діагностичні критерії (%) збільшення середньостатистичних концентрацій гострофазних білків у сироватці крові жінок при різних формах перебігу гострого апендициту

Діагностичні критерії	Гострий апендицит		
	катаральний n=28	флегмонозний n=25	гангренозний n=17
α-1-антитрипсин			
Діагностична чутливість	17,8	40,0	64,7
Діагностична специфічність	100	100	100
Діагностична значимість +	100	100	100
Діагностична значимість –	58,9	68,7	84,6
Діагностична ефективність	62,2	74,1	88,0
С-реактивний білок			
Діагностична чутливість	71,4	64,0	100
Діагностична специфічність	100	100	100
Діагностична значимість +	100	100	100
Діагностична значимість –	80,5	78,6	100
Діагностична ефективність	86,9	84,5	100
Гаптоглобін			
Діагностична чутливість	17,8	16,0	58,8
Діагностична специфічність	96,9	96,9	96,9
Діагностична значимість +	83,3	80,0	90,9
Діагностична значимість –	58,2	60,4	82,1
Діагностична ефективність	60,6	62,1	84,0
Церулоплазмін			
Діагностична чутливість	3,6	12,0	5,6
Діагностична специфічність	96,9	96,9	96,9
Діагностична значимість +	50,0	75,0	50,0
Діагностична значимість –	54,2	59,2	66,6
Діагностична ефективність	54,1	60,3	66,0

крові С-реактивного білка, бо цифрове значення “діагностичної чутливості” було лише на 29,6 % меншим від максимуму. “Діагностична специфічність” і “діагностична значимість +” підвищення вмісту С-реактивного білка при катаральному апендициті мали максимальні величини, що обумовлено відсутністю випадків перевищення верхньої межі довірчого інтервалу показника (M+2S) у здорових жінок, а “діагностична значимість” була на 19,5 % меншою та “діагностична ефективність” на 13,1 % меншою від максимальних величин, що обґрунтовує використання цього показника для діагностики.

Одночасно при катаральному апендициті збільшення концентрацій α-1-антитрипсину, гаптоглобіну та церулоплазміну мали дуже низькі значення “діагностичної чутливості”, тому вели-

чини “діагностичної ефективності” коливались від 54 до 62 %, що свідчить про неефективне використання їх в діагностичному процесі.

При флегмонозному апендициті у жінок підвищення концентрації С-реактивного білка у сироватці крові обґрунтовується відносно великими значеннями всіх діагностичних критеріїв, які були лише несуттєво меншими, ніж при катаральному апендициті, що підтверджує діагностичну ефективність цього показника.

Одночасно зареєстроване зростання вмісту α-1-антитрипсину в сироватці крові хворих жінок відбувалось тільки у 40 %, а збільшення концентрації гаптоглобіну та церулоплазміну спостерігалось ще у меншій кількості пацієнток, у зв'язку з чим цифрові значення “діагностичної ефективності” були низькими, що свідчить про неефективність використан-

ня цих показників для діагностики флегмонозного апендициту.

При гангренозному апендициті зростання вмісту С-реактивного білка у сироватці крові жінок підтверджувалось максимальними значеннями всіх діагностичних критеріїв, що обумовило і найвагомішу “діагностичну ефективність” даного показника. Одночасно збільшення концентрацій α -1-антитрипсину і гаптоглобіну реєстрували у більшості пацієнток, що спричинило “діагностичну ефективність” від 84 до 88 %, і це дає основу для надійного використання цих показників при діагностиці гангренозного апендициту.

Вміст церулоплазміну в сироватці крові підвищується лише у поодиноких пацієнток, тому використання цього показника для діагностики навіть найтяжчої форми запалення червоподібного відростка є неефективним.

Таким чином, концентрації трьох досліджуваних гострофазних білків у сироватці крові збільшувались відносно показників у здорових жінок при всіх формах гострого перебігу апендициту, але з різним ступенем вираження, що обумовлено місцем і ланкою їх у захисній системі організму. Безумовно, переважала інтенсивність підвищення вмісту С-реактивного білка при катаральному апендициті з більшим його зростанням 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 будь-якого органа його концентрація може зростати в багато разів [3, 8]. Збільшення вмісту α -1-антитрип-

сину і гаптоглобіну в сироватці хворих відбувалось менш виразно, тому при діагностиці ці показники можна використовувати тільки як допоміжні. Наші результати співзвучні тим закономірностям, що концентрації даних протеїнів зростають тільки у 2 рази і більше лише в перші дві доби від початку запалення [3, 8]. Ми реєстрували підвищення вмісту церулоплазміну в сироватці тільки поодиноких пацієнток, оскільки зростання цього показника всього на 20-60 % можливе лише через 2 доби і більше від виникнення запалення [3, 8]. Тому визначення вмісту церулоплазміну можна використовувати тільки при пізній діагностиці гострого апендициту в поодиноких випадках.

ВИСНОВКИ. 1. У жінок 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 середньостатичними величинами при катаральному, флегмонозному та гангренозному апендициті.

3. Допоміжне діагностичне значення має збільшення концентрацій у сироватці крові α -1-антитрипсину і гаптоглобіну, особливо при діагностиці більш тяжких форм перебігу запалення червоподібного відростка (флегмонозної і гангренозної).

4. При гострому катаральному, флегмонозному та гангренозному апендициті у жінок відсутнє збільшення середнього вмісту церулоплазміну в сироватці крові, а зростання відмічають 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. Саенка, 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 культи 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 КОНЦЕНТРАЦИЙ НЕКОТОРЫХ ОСТРОФАЗНЫХ БЕЛКОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЖЕНЩИН ПРИ ОСТРОМ АППЕНДИЦИТЕ

Н.О. Танадайчук

ХАРЬКОВСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ

Резюме

В работе представлено результаты определения концентраций α -1-антитрипсина, С-реактивного белка, гаптоглобина, церулоплазмينا в сыворотке крови здоровых женщин и при остром аппендиците.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: α -1-антитрипсин, С-реактивный белок, гаптоглобин, церулоплазмин, сыворотка, здоровые женщины, острый аппендицит.

CHANGES OF CONCENTRATIONS OF SOME ACUTE-PHASE PROTEINS IN BLOOD SERUM OF WOMEN AT ACUTE APPENDICITIS

N.O. Tanadaychuk

KHARKIV MEDICAL ACADEMY OF POST-GRADUATE EDUCATION

Summary

The results of determination of α -1-antitrypsin, C-reactive protein, haptoglobin, ceruloplasmine concentrations in blood serum of healthy women and at acute appendicitis are adduced in the work.

KEY WORDS: α -1- antitrypsin, C-reactive protein, haptoglobin, ceruloplasmine, serum, healthy women, acute appendicitis.

Отримано 2.09.2008 р.

Адреса для листування: Н.О. Танадайчук, Харківська медична академія післядипломної освіти, вул. Корчагінців, 58, Харків, 61176, Україна.

СИНТЕЗ, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА ПРОТИРАКОВА АКТИВНІСТЬ АМІДІВ (3-ОКСО-3,4-ДИГІДРО-2H-[1,2,4]ТРИАЗИНО[4,3-С]ХІНАЗОЛІН-4-ІЛ)-ОЦТОВОЇ КИСЛОТИ

О.В. Кривошей, С.І. Коваленко
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Розроблено методи синтезу ряду амідів (3-оксо-3,4-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтової кислоти, встановлено їх будову, вивчено фізико-хімічні властивості. Показано, що синтезовані сполуки проявляють помірну протиракову активність відносно найбільш поширених клітинних ліній людських пухлин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: (3-оксо-3,4-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтова кислота, амід, протиракова активність.

ВСТУП. Пошук протипухлинних засобів інтенсивно проводять серед різноманітних гетероциклічних сполук для дослідження взаємозв'язку "структура-активність" з подальшою можливістю модифікації фармакологічного профілю "структури-лідера". Серед похідних хіназоліну та його конденсованих аналогів також виявлені "структури-лідери" з протипухлинною активністю. Так, на сьогодні встановлено, що зазначені сполуки є інгібіторами тирозинкінази епідермального фактора росту, JAK3 та EDFR тирозинкінази, судинного ендотеліального фактора росту, цикліна залежної кінази CDK2 та p38, AP-1 і NF-κB медіаторів транскрипціональної активації, ДНК топоізомерази, EDFR автофосфорилування в клітині тощо [7-16, 18, 19, 21, 22, 24, 25]. Проведені детальні дослідження надали змогу виявити ряд протипухлинних препаратів на основі хіназоліну, серед яких вже застосовують "Iressa", а деякі проходять клінічні випробування: CP 358774, CI 1033, OSI-774, PR-166, GW-2016, EKB-569 [4, 14, 19, 23]. З огляду на зазначене, пошук протипухлинних засобів серед похідних хіназоліну є актуальною проблемою, і безперечно цікавими об'єктами в даному відношенні є нові, маловідомі похідні [1,2,4]триазино[4,3-с]хіназоліну, зокрема похідні (3-оксо-3,4-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтової кислоти [20].

Метою даної роботи було вивчення реакційної здатності (3-оксо-3,4-дигідро-2H-

[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтової кислоти відносно нуклеофільних реагентів (амоніаку та амінів), дослідження фізико-хімічних властивостей та протиракової активності синтезованих сполук.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Температуру плавлення визначали капілярним способом на приладі ПТП (М). ІЧ-спектри знімали на спектрофотометрі Bruker Alpha в межах 7500-400 см⁻¹ з використанням приставки ATR (пряме введення речовини). ¹H ЯМР-спектри – на спектрофотометрі ядерного магнітного резонансу Mercury 400, розчинник DMSO-D₆, внутрішній стандарт – тетраметилсилан. Хроматомас-спектри – на високоефективному рідинному хроматографі Agilent 1100 Series, оснащеному діодно-матричним та мас-селективним детектором Agilent LC/MSD SL. Параметри аналізу: колонка Zorbax SB-C18, 1,8 мкм, 4,6 мм × 15 мм. Сольвенти: А – ацетонітрил - вода (95:5), 0,05 % мурашиної кислоти, В – вода (0,05 % мурашиної кислоти); потік елюенту – 3 мл/хв. Градієнт: 0 хв – 0 % А, 0,01 хв – 0 % А, 0,5 хв – 100 % А, 0,95 хв – 100 % А, 0,96 хв – 0 % А. Об'єм проби, який вводять, – 1 мкл. Спосіб іонізації – хімічна іонізація при атмосферному тиску (APCI). Режим іонізації – одночасне сканування позитивних та негативних іонів у діапазоні мас 80-1000 m/z.

Мас-спектри зареєстровано на приладі Varian 1200L, іонізація здійснюється електронним ударом (70 eV) при прямому введенні зразка. Температура іонного джерела – 200 °С,

нагрівання відбувається від 25 до 390 °С зі швидкістю 300 °С/хв.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ХІМІЧНА ЧАСТИНА

Синтез (3-оксо-3,4-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтової кислоти (**1.1**) та її метилового естеру (**2.1**) здійснено за відомими методами з константами, які відповідають літературним даним [20].

(3-Оксо-3,4-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтова кислота (1.1, табл. 1). ІЧ-спектри (g, см⁻¹): 3140, 3130, 3022, 2847, 2723, 2579, 2503, 1728, 1711, 1644, 1629, 1503, 1480, 1463, 1448, 1414, 1368, 1329, 1291, 1271, 1214, 1189, 1152, 1089, 1041, 984, 957, 917, 887, 869, 827, 802, 790, 761, 705, 694, 663, 649; ¹H ЯМР-спектри (м. ч., J): 10,96 (с, 1H, NH), 7,90 (д, 1H, J=7,6, H-11), 7,81 (с, 1H, H-6), 7,56 (т, 1H, H-9, J=7,6), 7,40 (м, 2H, H-8, H-10), 5,06 (т, 1H, H-4, J=4,8), 2,93 (д, 2H, CH₂, J=4,8); Хромато-мас – (APCI, m/z): 259 (MH⁺), 213 (M – COOH); MS (EУ, m/z): 259 (12.5), 258 (100), 200 (6.5), 199 (58.5), 171 (18.1), 130 (19.0), 129 (56.7), 103 (21.2), 102 (32.2), 76 (11.1), 75 (6.7).

Метилловий естер (3-оксо-3,4-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтової кислоти (2.1, табл. 1). ІЧ-спектри (g, см⁻¹): 3192, 3061, 2948, 2855, 2797, 1738, 1674, 1635, 1613, 1515, 1480, 1462, 1437, 1426, 1411, 1374, 1360, 1324, 1295, 1257, 1220, 1196, 1173, 1152, 1132, 1096, 1088, 1048, 1035, 1014, 983, 961, 946, 918, 877, 851, 802, 760, 700, 653; ¹H ЯМР-спектри (м. ч., J): 11,00 (с, 1H, NH), 7,91 (д, 1H, J=7,6, H-11), 7,81 (с, 1H, H-6), 7,57 (т, 1H, H-9, J=7,6), 7,40 (м, 2H, H-8, H-10), 5,11 (т, 1H, H-4, J=4,8), 3,52 (с, 1H, CH₃), 3,03 (д, 2H, J=4,8, CH₂); Хромато-мас – (APCI, m/z): 273 (MH⁺), 213 (M – COOCH₃); MS (EУ, m/z): 273 (7.0), 272 (34.1), 254 (12.5), 241 (8.3), 240 (21.2), 239 (5.7), 238 (5.6), 214 (6.0), 213 (51.4), 212 (100), 210 (34.7), 200 (10.8), 199 (53.0), 171 (17.2), 130 (22.0), 129 (50.1), 117 (12.0), 116 (6.0), 115 (8.4), 103 (26.3), 102 (40.9), 90 (19.6), 89 (8.8), 88 (6.7), 76 (17.6), 75 (13.2), 63 (6.5), 55 (23.6).

Амід (3-оксо-3,4-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтової кислоти (3.1, табл. 1). Суспензію 2,72 г (0,01 M) метилового естеру (3-оксо-3,4-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтової кислоти (**2.1**) в 10,0 мл 25 % водного розчину амоніаку залишають при кімнатній температурі на 7 діб. З реакційної маси відганяють під вакуумом розчин амоніаку, додають 10 мл охолодженої води. Осад відфільтровують та висушують.

Сполука (**3.1**). ІЧ-спектри (g, см⁻¹): 3387, 3183, 3030, 2858, 2784, 1698, 1675, 1659, 1631,

1613, 1503, 1480, 1463, 1443, 1410, 1362, 1328, 1308, 1282, 1264, 1217, 1180, 1154, 1090, 1044, 1012, 958, 948, 915, 882, 867, 803, 762, 703, 691, 659, 641; ¹H ЯМР-спектри (м. ч., J): 10,92 (с, 1H, 2-NH), 8,19, 7,25 (с, 2H, -C(O)NH₂), 7,93 (д, 1H, H-11, J=7,6), 7,79 (с, 1H, H-6), 7,57 (т, 1H, H-9, J=7,6), 7,43 (м, 2H, H-8, 10), 5,11 (т, 1H, H-4, J=5,0), 3,03 (д, 1H, -CH₂, J = 5,0), 2,62 (д, 1H, -CH₂, J=5,0); Хромато-мас – (APCI, m/z): 258 (MH⁺), 213 (M – CONH₂).

Метиламід (3-оксо-3,4-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтової кислоти (3.2, табл. 1). Суспензію 2,72 г (0,01 M) метилового естеру (3-оксо-3,4-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтової кислоти (**2.1**) в 10,0 мл 70 % спиртового розчину метиламіну поміщають в ампулу, запаюють і нагрівають при температурі 100 °С протягом 1 год. З реакційної маси відганяють під вакуумом надлишок метиламіну, додають 10 мл охолодженої води. Осад відфільтровують та висушують.

Сполука (**3.2**). ІЧ-спектри (g, см⁻¹): 3292, 3189, 3073, 2982, 2928, 2898, 1662, 1638, 1550, 1433, 1403, 1357, 1279, 1260, 1167, 1137, 1075, 1023, 1013, 979, 912, 885, 861, 815, 763, 720, 684, 660; ¹H ЯМР-спектри (м. ч., J): 11,00 (с, 1H, 2-NH), 7,85 (д, 1H, H-11, J=7,6), 7,80 (с, 1H, H-6), 7,54 (т, 1H, H-9, J=7,6), 7,39 (м, 2H, H-8, 10), 5,11 (т, 1H, H-4, J=4,8), 3,52 (с, CH₃), 3,0 (д, 2H, -CH₂, J=4,8); Хромато-мас – (APCI, m/z): 273 (MH⁺), 213 (M – CONHCH₃).

Загальна методика синтезу амідів (3-оксо-3,4-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтової кислоти (3.3-3.16, табл. 1).

До суспензії 0,68 г (0,02 M) (3-оксо-3,4-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтової кислоти (**1.1**) в 10 мл безводного діоксану або ДМФА додають 0,41 г (0,025 мМ) карбонілдіімідазолу (CDI) і нагрівають при температурі 80 °С до припинення виділення карбон діоксиду. До реакційної маси додають 0,025 M відповідного аміну і кип'ячать протягом 3-6 год. Розчинник відганяють під вакуумом, додають 10 мл охолодженої води і підкислюють кислотою хлоридною до рН 4-5. Утворений осад відфільтровують та сушать.

Діетиламід (3-оксо-3,4-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтової кислоти (3.3, табл. 1). ІЧ-спектри (g, см⁻¹): 3149, 3022, 2851, 2770, 2728, 2584, 2505, 1644, 1631, 1503, 1480, 1464, 1451, 1416, 1369, 1331, 1292, 1272, 1217, 1191, 1153, 1091, 1043, 991, 963, 918, 889, 870, 829, 804, 790, 763, 706, 695, 663, 651; Хромато-мас – (APCI, m/z): 314 (MH⁺).

Таблиця 1 – Фізико-хімічні властивості синтезованих сполук

№ сполук	R	R ₁	Т.пл., °С	Вихід, %	Знайдено: N (%)	Емпірична формула	Виразування: N (%)
1.1	–	–	266-268	77,2	21,64	C ₁₂ H ₁₀ N ₄ O ₃	21,70
2.1	–	–	218-224	82,6	20,54	C ₁₃ H ₁₂ N ₄ O ₃	20,58
3.1	H	–	288-290	31,6	27,25	C ₁₂ H ₁₁ N ₅ O ₂	27,22
3.2	CH ₃	–	224-226	50,2	25,84	C ₁₃ H ₁₃ N ₅ O ₂	25,82
3.3	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	203-206	30,6	22,37	C ₁₆ H ₁₉ N ₅ O ₂	22,35
3.4	CH(CH ₃) ₂	H	240-244	31,2	23,37	C ₁₅ H ₁₇ N ₅ O ₂	23,40
3.5	-(CH ₂) ₂ CH ₃	H	234-236	73,4	22,33	C ₁₆ H ₁₉ N ₅ O ₂	22,35
3.6	(CH ₂) ₂ -OH	H	231-233	50,06	23,28	C ₁₄ H ₁₅ N ₅ O ₃	23,24
3.7	(CH ₂) ₃ -OH	H	262-266	44,03	22,25	C ₁₅ H ₁₇ N ₅ O ₃	22,21
3.8	піперидил-1-	–	223-225	88,4	21,56	C ₁₇ H ₁₉ N ₅ O ₃	21,52
3.9	морфоліл-1-	–	220-224	61,9	21,38	C ₁₆ H ₁₇ N ₅ O ₃	21,40
3.10	CH ₂ -C ₆ H ₅	H	238-239	51,4	20,19	C ₁₉ H ₁₇ N ₅ O ₂	20,16
3.11	C ₆ H ₅	H	272-276	32,2	21,07	C ₁₈ H ₁₅ N ₅ O ₂	21,01
3.12	o-CH ₃ OC ₆ H ₄	H	234-238	60,1	19,30	C ₁₉ H ₁₇ N ₅ O ₃	19,27
3.13	o-FC ₆ H ₄	H	246-248	16,9	19,91	C ₁₈ H ₁₄ FN ₅ O ₂	19,93
3.14	n-ClC ₆ H ₄	H	250-252	37,3	19,08	C ₁₈ H ₁₄ ClN ₅ O ₂	19,04
3.15	m-F ₃ CC ₆ H ₄	H	230-232	59,4	17,49	C ₁₉ H ₁₄ F ₃ N ₅ O ₂	17,45
3.16	n-F ₃ CC ₆ H ₄	H	202-206	18,3	17,49	C ₁₉ H ₁₄ F ₃ N ₅ O ₂	17,45

і-Пропіламід (3-оксо-3,4-дигідро-2Н-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтової кислоти (3.4, табл. 1). ІЧ-спектри (g, см⁻¹): 3296, 3199, 3082, 2972, 2935, 2909, 1664, 1641, 1553, 1463, 1403, 1367, 1289, 1268, 1177, 1131, 1085, 1043, 1023, 979, 922, 895, 861, 805, 773, 720, 686, 660; Хромато-мас – (APCl, m/z): 300 (MH⁺); 302 (M²⁺).

п-Бутиламід (3-оксо-3,4-дигідро-2Н-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтової кислоти (3.5, табл. 1). ІЧ-спектри (g, см⁻¹): 3295, 3191, 3067, 2953, 2914, 2872, 2859, 1673, 1629, 1605, 1564, 1479, 1462, 1407, 1361, 1282, 1264, 1226, 1181, 1082, 1038, 1018, 1009, 987, 971, 958, 888, 814, 804, 782, 767, 757, 701, 678, 657, 622; ¹H ЯМР-спектри (м. ч., J): 10,94 с (1H, 2-NH), 7,97 т (1H, -C(O)NH, J=5,3), 7,89 д (1H, H-11, J=7,8), 7,60 с (1H, H-6), 7,64 т (1H, H-9, J=7,4), 7,38 м (2H, H-8, H-10), 5,01 т (1H, H-4, J=5,1), 2,91 квін (2H, CH₃CH₂CH₂CH₂-, J=6,1), 2,65 м (2H, -CH₂), 1,16 квін (2H, CH₃CH₂CH₂CH₂-, J=6,8), 1,03 кв (2H, CH₃CH₂CH₂CH₂-, J=7,2), 0,69 т (3H, CH₃CH₂CH₂CH₂-, J=7,2); Хромато-мас – (APCl, m/z): 314 (MH⁺).

2-Гідроксіетиламід (3-оксо-3,4-дигідро-2Н-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтової кислоти (3.6, табл. 1). ІЧ-спектри (g, см⁻¹): 3383, 3291, 3176, 3035, 2932, 2873, 1747, 1650, 1624, 1602, 1549, 1487, 1460, 1427, 1401, 1369, 1353, 1338, 1297, 1284, 1246, 1224, 1200, 1171, 1083, 1049, 1037, 1014, 974, 941, 921, 871, 817, 800, 768, 727, 705, 681, 664, 612; ¹H ЯМР-спектри (м. ч., J): 10,92 с (1H, 2-NH), 8,01 д (1H, -C(O)NH, J=5,4), 7,87 д (1H, H-11, J=7,6), 7,78 с (1H, H-6), 7,57 т (1H, H-9, J=7,6), 7,36 м (2H, H-8, 10), 5,02 т (1H, H-4, J=4,9), 4,32 уш. с

(1H, -OH), 3,76 т (2H, -CH₂CH₂), 3,32 т (2H, -CH₂CH₂), 2,89 д (2H, -CH₂ J=4,9); Хромато-мас – (APCl, m/z): 302 (MH⁺).

3-Гідроксипропіламід (3-оксо-3,4-дигідро-2Н-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтової кислоти (3.7, табл. 1). ¹H ЯМР-спектри (м. ч., J): 10,94 с (1H, 2-NH), 8,01 д (1H, -C(O)NH, J=5,9), 7,89 д (1H, H-11, J=7,6), 7,79 с (1H, H-6), 7,59 т (1H, H-9, J^β=7,6, J^α=1,4), 7,38 м (2H, H-8, 10), 5,04 т (1H, H-4, J=4,9), 3,32 уш. с (1H, -OH), 2,91 д (2H, -CH₂, J=4,9), 2,49 с (6H, -(CH₂)₃OH); Хромато-мас – (APCl, m/z): 316 (MH⁺).

Піперидиламід (3-оксо-3,4-дигідро-2Н-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтової кислоти (3.8, табл. 1). ІЧ-спектри (g, см⁻¹): 3218, 3024, 2861, 2770, 1643, 1631, 1503, 1447, 1415, 1368, 1332, 1292, 1272, 1220, 1188, 1153, 1140, 1124, 1090, 1044, 1015, 963, 919, 904, 870, 851, 828, 804, 790, 763, 706, 695, 657; Хромато-мас – (APCl, m/z): 326 (MH⁺); 327 (M²⁺).

Морфолід (3-оксо-3,4-дигідро-2Н-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтової кислоти (3.9, табл. 1). ¹H ЯМР-спектри (м. ч., J): 10,80 с (1H, 2-NH), 7,94 д (1H, H-11, J=7,4), 7,72 с (1H, H-6), 7,45 т (1H, H-9, J=7,6), 7,34 д (1H, H-8, J=7,8), 7,28 т (1H, H-10, J=7,5), 5,01 т (1H, H-4, J=5,1), 3,44 м (2H, -CH₂), 2,99 с (8H, Morpholil-1); Хромато-мас – (APCl, m/z): 328 (MH⁺); MS (EУ, m/z): 328 (3.7), 327 (22.0), 240 (39.9), 213 (38.9), 212 (100.0), 199 (5.9), 144 (7.4), 130 (13.7), 129 (24.2), 103 (7.1), 102 (9.1), 88 (11.0), 70 (9.6), 56 (7.3), 43 (5.7).

Бензиламід (3-оксо-3,4-дигідро-2Н-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтової кислоти (3.10, табл. 1). ¹H ЯМР-спектри (м. ч., J): 10,97 с (1H, 2-NH), 8,51 т (1H, -CONH,

$J=5,3$), 7,91 д (1H, H-11, $J^{\beta}=7,2$, $J^{\delta}=1,4$), 7,69 с (1H, H-6), 7,59 т (1H, H-9, $J^{\beta}=7,4$, $J^{\delta}=1,4$), 7,44 д (1H, H-8, $J=7,6$), 7,40 т (1H, H-10, $J^{\beta}=7,6$), 7,12 м (3H, H-3, 4, 5 Bz), 7,03 д (2H, H-2, 6 Bz, $J=7,6$), 5,07 т (1H, H-4, $J=4,7$), 4,18 д (2H, C_6H_4 -Ph, $J=2,9$), 2,80 д (1H, $-\text{C}_6\text{H}_4$, $J=4,9$), 2,78 д (1H, $-\text{C}_6\text{H}_4$, $J=4,9$); Хромато-мас – (APCI, m/z): 348 (M); МС (EУ, m/z): 348 (3.8), 347 (25.2), 241 (6.2), 240 (68.3), 239 (23.5), 214 (6.7), 213 (61.3), 212 (100.0), 171 (6.7), 144 (10.3), 130 (12.6), 129 (37.0), 117 (8.1), 105 (6.2), 104 (8.6), 103 (11.7), 102 (14.2), 92 (9.3), 91 (36.3), 89 (5.9), 77 (8.0), 65 (6.9), 55 (6.5), 51 (5.6).

Анілід (3-оксо-3,4-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтової кислоти (3.11, табл. 1). ^1H ЯМР-спектри (м. ч., J): 10,97 с (1H, 2-NH), 10,1 с (1H, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}$), 7,91 д (1H, H-11, $J=7,4$), 7,72 с (1H, H-6), 7,52 т (1H, H-9, $J=7,6$), 7,42 д (3H, H-2, 5, Ph), 7,38 м (2H, H-8, 10), 7,26 т (2H, H-3, 5, Ph), 7,0 т (1H, H-4, Ph, $J=7,4$), 5,18 т (1H, H-4, $J=4,7$), 3,09 д (1H, $-\text{C}_6\text{H}_4$, $J=4,9$), 2,98 д (1H, $-\text{C}_6\text{H}_4$, $J=4,9$); Хромато-мас – (APCI, m/z): 334 (MH^+), 336 (M^{+2}); МС (EУ, m/z): 334 (3.0), 333 (12.9), 240 (37.5), 213 (20.3), 212 (100.0), 171 (7.6), 130 (15.0), 129 (25.4), 117 (7.5), 103 (6.6), 102 (7.7), 93 (10.3), 77 (6.5).

2-Метоксіанілід (3-оксо-3,4-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтової кислоти (3.12, табл. 1). ІЧ-спектри (g , cm^{-1}): 3270, 3186, 3058, 2936, 2893, 2837, 1712, 1659, 1628, 1603, 1535, 1492, 1462, 1434, 1415, 1388, 1363, 1328, 1284, 1269, 1253, 1217, 1186, 1165, 1115, 1084, 1040, 1025, 1014, 975, 948, 919, 872, 803, 790, 770, 751, 722, 702, 677, 668, 660; ^1H ЯМР-спектри (м. ч., J): 10,93 с (1H, 2-NH), 9,28 с (1H, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}$), 7,91 д (1H, H-11, $J=8,1$), 7,75 д (1H, H-2 Ph, $J=7,1$), 7,68 с (1H, H-6), 7,52 т (1H, H-9, $J=7,6$), 7,36 м (2H, H-8, 10), 7,04 т (1H, H-5 Ph, $J=7,1$), 6,96 д (1H, H-3 Ph, $J=8,1$), 6,84 т (1H, H-4 Ph, $J=7,8$), 5,18 т (1H, H-4, $J=4,7$), 3,68 с (3H, $-\text{OCH}_3$), 3,09 дд (1H, $-\text{C}_6\text{H}_4$, $J=4,9$), 2,97 дд (1H, $-\text{C}_6\text{H}_4$, $J=4,9$); Хромато-мас – (APCI, m/z): 364 (MH^+).

2-Фторанілід (3-оксо-3,4-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтової кислоти (3.13, табл. 1). ІЧ-спектри (g , cm^{-1}): 3250, 3211, 3125, 3031, 2853, 2806, 1731, 1695, 1653, 1639, 1621, 1602, 1545, 1507, 1491, 1459, 1438, 1406, 1363, 1313, 1288, 1273, 1260, 1222, 1192, 1172, 1090, 1042, 1026, 1010, 967, 927, 919, 889, 872, 860, 849, 832, 803, 789, 773, 764, 750, 703, 678, 659, 607; ^1H ЯМР-спектри (м. ч., J): 10,98 с (1H, 2-NH), 9,89 с (1H, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}$), 7,91 д (1H, H-11, $J=7,4$), 7,71 м (2H, H-6 Ph, H-6 Хін), 7,53 т (1H, H-9, $J=7,6$), 7,36 м (2H, H-8, 10), 7,18 т (1H, H-5 Ph, $J=7,6$), 7,11 м (2H, H-4, 3 Ph), 5,13 т (1H, H-4, $J=4,7$), 3,68 с (3H, $-\text{OCH}_3$), 3,09

дд (1H, $-\text{C}_6\text{H}_4$, $J=4,9$), 2,97 дд (1H, $-\text{C}_6\text{H}_4$, $J=4,9$); Хромато-мас – (APCI, m/z): 352 (MH^+).

4-Хлоранілід (3-оксо-3,4-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтової кислоти (3.14, табл. 1). ІЧ-спектри (g , cm^{-1}): 3307, 3249, 3184, 3110, 3052, 1681, 1635, 1604, 1550, 1489, 1463, 1401, 1384, 1364, 1305, 1286, 1260, 1219, 1175, 1117, 1103, 1090, 1079, 1033, 1011, 969, 949, 936, 917, 844, 817, 803, 766, 687, 667, 657; ^1H ЯМР-спектри (м. ч., J): 10,99 с (1H, 2-NH), 10,19 с (1H, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}$), 7,91 д (1H, H-11, $J^{\beta}=7,2$, $J^{\delta}=1,4$), 7,72 с (1H, H-6), 7,53 т (1H, H-9, $J^{\beta}=7,6$, $J^{\delta}=1,5$), 7,46 м (2H, H-8, 10), 7,36 м (1H, H-6, 2 Ph), 7,30 м (2H, H-4, 3 Ph), 5,13 т (1H, H-4, $J=5,1$), 2,94 д (2H, $-\text{C}_6\text{H}_4$, $J=5,1$); Хромато-мас – (APCI, m/z): 366 (M^{-1}), 367 (M).

3-Трифторметиланілід (3-оксо-3,4-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтової кислоти (3.15, табл. 1). ІЧ-спектри (g , cm^{-1}): 3175, 3057, 2880, 2807, 1697, 1665, 1613, 1567, 1554, 1530, 1494, 1463, 1451, 1426, 1378, 1327, 1269, 1246, 1217, 1163, 1119, 1069, 1046, 1000, 964, 902, 888, 801, 771, 696, 656; ^1H ЯМР-спектри (м. ч., J): 10,99с (1H, 2-NH), 10,37 с (1H, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}$), 7,87 м (2H, H-11 Хін, H-2 Ph), 7,75 с (1H, H-6), 7,61 д (1H, H-6 Ph, $J=8,1$), 7,52 т (1H, H-9, $J=7,6$), 7,48 т (1H, H-5 Ph, $J=8,1$), 7,35 м (3H, H-8, 10 Хін, H-4 Ph), 5,15 т (1H, H-4, $J=5,1$), 2,97 д (2H, $-\text{C}_6\text{H}_4$, $J=5,4$); Хромато-мас – (APCI, m/z): 400 (M^{-1}).

3-Трифторметиланілід (3-оксо-3,4-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтової кислоти (3.16, табл. 1). ^1H ЯМР-спектри (м. ч., J): 11,00 с (1H, 2-NH), 10,44 с (1H, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}$), 7,90 д (1H, H-11, $J=7,4$), 7,75 с (1H, H-6), 7,65 д (2H, H-6, 2 Ph, $J=8,8$), 7,61 д (2H, H-5, 3 Ph, $J=8,8$), 7,52 т (1H, H-9, $J^{\beta}=7,6$, $J^{\delta}=1,5$), 7,36 м (2H, H-8, 10), 5,15 т (1H, H-4, $J=5,4$), 3,00 д (2H, $-\text{C}_6\text{H}_4$, $J=5,4$); Хромато-мас – (APCI, m/z): 400 (M^{-1}), 402 (MH^+); МС (EУ, m/z): 401 (4.8), 241 (8.5), 240 (39.5), 213 (28.0), 212 (100.0), 199 (9.6), 171 (5.4), 170 (10.8), 161 (5.4), 145 (11.7), 130 (5.5), 129 (16.0), 103 (8.4), 102 (6.2), 76 (5.9), 68 (52.7), 55 (8.3), 54 (6.4).

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА БІОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

Протиракову активність синтезованих сполук вивчали у Національному інституті раку США (NCI). На першому етапі всі синтезовані сполуки тестували за допомогою комп'ютерної програми NCI. Відібрані сполуки після першого етапу в подальшому були протестовані на 60 найбільш поширених клітинних лініях людських пухлин в концентрації $1,004 \times 10^{-5}$ М. Згідно з методикою NCI, протираковий ефект оцінювали за цитостатичним впливом тестованої речовини на клітинні культури пухлин [5, 6, 17].

Метод полягає у порівнюванні оптичної густини клітинних культур з тестовим барвником (сульфородаміном Б) перед експозицією з розчином тестованої сполуки в ДМСО та після неї. Показником в даному експерименті є значення відсотка росту клітинної культури, яке розраховують за даними вимірів оптичної густини:

OG_o – оптична густина середовища перед експозицією клітин;

$$BP = 100 \times \frac{(OG_{тест} - OG_o)}{(OG_{контр} - OG_o)}, \text{ якщо } (OG_{тест} - OG_o) \geq 0 \quad (1)$$

$$BP = 100 \times \frac{(OG_{тест} - OG_o)}{OG_o}, \text{ якщо } (OG_{тест} - OG_o) < 0 \quad (2)$$

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати проведених досліджень показали, що взаємодія естеру (**2.1**) з 25 % розчином амоніаку при кімнатній температурі протягом 7 діб приводила до утворення відповідного амідів (**3.1**), одержати метиламід (**3.2**) вдалося з відповідного естеру (**2.1**) та 70 % спиртового розчину метиламіну лише в запаяній ампулі при температурі 100 °С протягом 60 хв (схема 1). Необхідно відмітити, що отримати амідів (**3.3-3.13**) через естер **2.1** ми не змогли, що можна пояснити незначною електрофільністю метоксикарбонільної групи. Враховуючи зазначене, нами розроблені методи синтезу відповідних амідів (**3.3-3.14**) шляхом активації

$OG_{тест}$ – оптична густина середовища після 48-годинної експозиції клітин зі сполукою, яку тестують;

$OG_{контр}$ – оптична густина середовища після 48-годинної експозиції клітин без додавання сполуки, яку тестують.

Залежно від результатів тесту розрахунки відсотка росту (BP) проводять за формулами 1, 2:

карбоксільної групи кислоти (**1.1**) карбонілдіімідазолом (CDI) у безводному діоксані або ДМФА. В подальшому до утвореного імідазоліду кислоти додавали відповідний амін (схема 1). Цікаво відмітити, що взаємодія кислоти **1.1** з 2-аміноетанолом та 3-амінопропанолом у безводному діоксані за карбонілдіімідазольним методом приводить до утворення суміші продуктів, яка являє собою, згідно з даними хроматомас-спектрів, суміш амідів (**A**) та естеру (**B**). Даний факт можна пояснити подібною реакційною здатністю відповідних функціональних груп в зазначених умовах. Важливо відмітити, що із суміші продуктів шляхом кристалізації вдалося виділити відповідні амідів **3.6, 3.7**.

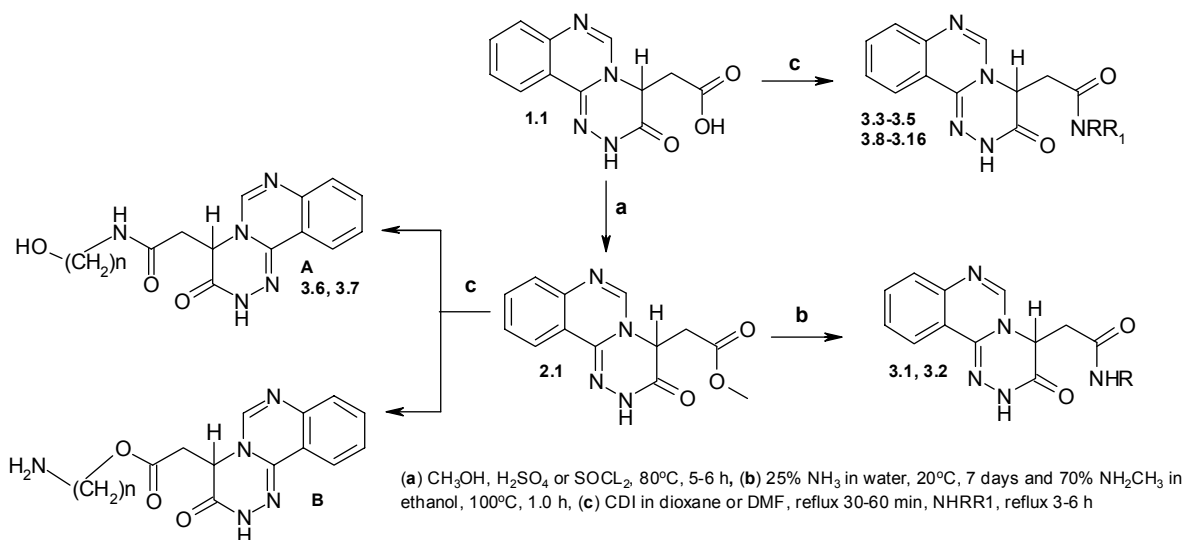


Схема 1

Синтезовані сполуки (див. табл. 1) – білі (**3.1, 3.6, 3.7**), жовті (**3.2, 3.3**), коричневі (**3.4, 3.5, 3.8-3.16**) кристалічні речовини, розчинні у ДМФА, діоксані, малорозчинні у спиртах, не розчинні у воді (виняток – сполука **3.2**). Для аналізу сполуки очищено шляхом кристалізації з води (**3.2**),

сумішею пропанол-2-вода (**3.1, 3.4-3.13, 3.15**), діоксан-вода (**3.14, 3.16**) та ДМФА-вода (**3.3**).

Індивідуальність та чистоту синтезованих сполук підтверджено хроматомас-спектрами, будову – елементним аналізом, ІЧ-, 1H ЯМР- та мас-спектрами.

ІЧ-спектри кислоти **1.1** мають характеристичні поглинання, які викликані коливаннями ν_{NH} - та ν_{OH} -груп при 3140 та 3130-3022 cm^{-1} відповідно, а також ν_{CO} -групи триазино[4,3-с]хіназолінової системи при 1728-1711 cm^{-1} та ν_{COO} -групи – 1644-1629 cm^{-1} . Стосовно відповідного естеру **2.1**, в спектрах спостерігається незначний зсув коливань вищезазначених функціональних груп в короткохвильову частину спектра (гіпсохромний зсув). В ІЧ-спектрах амідів **3.1-3.16**, на відміну від кислоти **1.1** та естеру **2.1**, з'являються інтенсивні смуги поглинань при 3199-3024 та 3387-3149 cm^{-1} , які характеризують амідний зв'язок, а також валентні коливання при 1659-1628 cm^{-1} (амід I) та деформаційні коливання при 1613-1550 cm^{-1} (амід II), валентні коливання ν_{CO} хіназолонового циклу при 1698-1660 cm^{-1} . Крім того, синтезовані сполуки характеризуються середньоінтенсивними валентними коливаннями СН-зв'язків у межах 2982-2503 cm^{-1} , які проявляються як плечі на основній аліфатичній смузі (ν_{CH}), та інтенсивним поглинанням при 773-763 cm^{-1} , що відповідають деформаційним коливанням СН-зв'язків ароматичного кільця [2, 3].

ПМР-спектр сполуки **1.1** характеризується триплетом протона Н(4) при 5,06 м. ч., дублетом CH_2 -протонів при 2,93 м. ч., уширеним синглетом протона 2-NH-групи при 10,96 м. ч., а для естеру **2.1** триплет протона Н(4) та дублет CH_2 -протонів незначно зміщені у слабкочастинну частину спектра і спостерігаються при 5,11 та 3,03 м. ч. відповідно. Стосовно амідів **3.1-3.16**, то зазначені протони, залежно від електронного ефекту замісників, зміщені у сильне (**3.5-3.10**) або слабке (**3.11-3.16**) поле, а для сполук **3.1, 3.11-3.13** протони CH_2 -групи проявляються як нееквівалентні дублети. Крім того, однозначно будову амідів **3.1-3.16** підтверджують характеристичний синглет протона 2-NH-групи при 11,00-10,80 м. ч., додаткове специфічне розщеплення та зміщення протона (10,44-7,97 м. ч.) амідної групи. Зміщення (10,44-9,28 м. ч.) зазначеного протона у слабке магнітне поле для ряду сполук (**3.11-3.16**) можна пояснити вираженими електрооакцепторними властивостями замісника біля амідної групи. Електронодонорні замісники (**3.1-3.10**) зміщують синглет амідного протона у більш сильні магнітні поля (8,51-7,97 м. ч.). Необхідно відмітити, що мультиплетність амідного протона (розщеплення у вигляді триплету, дублету або синглету) залежить від його протонного оточення. Так, у сполук **3.5, 3.10** він проявляється у вигляді триплету, **3.6, 3.7, 3.9** – дублету, а в інших

випадках (**3.2, 3.11-3.16**) – як синглет. У спектрі амідів **3.1** протони амідної групи спостерігаються як магнітно-нееквівалентні однопротонні синглети при 8,19, 7,25 м. ч. Крім того, синтезовані сполуки (**1.1, 2.1, 3.1-3.16**) характеризуються класичним розщепленням сигналів протонів триазино[4,3-с]хіназолінової системи [20] з відповідною мультиплетністю у вигляді послідовно розташованих дублету (Н-11), синглету (Н-6), триплетів (Н-9), триплету (Н-10) і дублету (Н-8), останні (Н-10, Н-8) у більшості випадків резонують як мультиплет.

Аналіз хроматомас-спектрів показав, що синтезовані сполуки **1.1, 2.1, 3.1-3.16** характеризуються високоінтенсивним піком квазімолекулярного іона $[\text{M-H}]^+$, а для сполук **1.1, 2.1, 3.1, 3.2**, крім того, характерна фрагментація з утворенням іона з m/z 213, що пояснює α -елімінацію кислоти та її похідних.

Мас-спектр (ЕУ) кислоти **1.1** має фрагментацію, характерну для карбонових кислот [1], і обумовлений викидом з молекулярного іона (M^+ , m/z 259) часток COOH , HCOOH та $\text{CH}_2\text{CO-OH}$. Подальшими напрямками фрагментації є розрив зв'язків $\text{C}(11\text{b})-\text{N}(1)$ та $\text{N}(5)-\text{C}(4)$ з утворенням іона (m/z 129), маса якого відповідає розрахунковій масі хіназоліну [20], та альтернативний розрив зв'язків $\text{N}(1)-\text{N}(2)$ та $\text{C}(4)-\text{C}(3)$ з викидом молекули HNCO . Мас-спектри (ЕУ) естеру **2.1** та амідів **3.9-3.11, 3.16** мають подібну фрагментацію молекулярного іона – розрив ефірного або амідного зв'язку з утворенням іона з m/z 241 та фрагментацію по α -зв'язку карбонової кислоти з утворенням іона з m/z 212 з найбільшою інтенсивністю. Подальша фрагментація зазначених сполук подібна до кислоти **1.1**.

Результати біологічних досліджень *in vitro* на 60 найбільш поширених клітинних лініях людських пухлин в концентрації $1,004 \times 10^{-5}$ М показали, що синтезовані сполуки проявляють помірну протиракову активність. Пригнічують ріст клітин раку нирок RXF 393 та UO-31, меланоми MALME-3M та UACC-62 – всі синтезовані сполуки (табл. 2). Необхідно відмітити, що найвища активність відносно зазначених ліній ракових клітин характерна для сполук **1.1, 2.1, 3.2, 3.9, 3.10, 3.13, 3.14**. Що стосується інших сполук, то в більшості випадків вони ініціюють ріст ракових клітин, тобто проявляють протилежний ефект.

Таким чином, проведені дослідження показали, що синтезовані сполуки проявляють протиракову активність відносно деяких клітин раку людини і не є перспективними щодо створення протиракових лікарських засобів.

Меланома (Melanoma)											
LOX IMVI	91,09	91,30	97,10	97,00	97,55	94,75	102,49	98,90	91,88	88,47	100,68
M14	104,47	102,58	110,87	100,48	104,84	113,41	110,32	99,74	89,90	88,08	93,65
MALME-3M	82,64	53,57	89,44	148,12	98,92	81,85	89,28	124,06	82,28	77,72	101,33
SK-MEL-2	100,54	102,05	30,54	121,72	103,83	100,21	101,63	107,40	87,02	99,43	91,20
SK-MEL-28	108,73	120,62	105,49	115,69	120,94	115,28	107,56	129,92	106,08	109,81	104,62
SK-MEL-5	96,62	135,21	106,52	104,94	109,18	122,39	99,99	105,74	100,77	97,61	96,14
UACC-257	92,07	102,99	26,73	115,63	116,20	103,77	19,83	112,34	103,84	3,51	88,71
UACC-62	83,67	95,54	94,07	95,03	90,18	85,78	92,66	93,77	92,10	82,67	95,49
Рак простати (Prostate Cancer)											
DU-145	116,14	115,44	122,61	139,90	114,54	126,80	128,55	114,99	113,71	115,87	110,38
PC-3	–	–	106,17	–	–	–	105,50	94,38	84,35	80,96	85,92
Рак ЦНС (CNS Cancer)											
SF-268	116,04	136,26	116,34	115,66	117,25	110,67	117,42	110,62	103,69	97,28	85,42
SF-295	71,14	246,08	104,16	233,65	111,85	84,88	103,08	98,33	111,47	108,49	105,87
SF-539	101,38	103,61	102,01	96,06	100,99	100,15	99,34	118,54	101,07	96,50	93,09
SNB-19	100,51	103,92	96,29	96,00	97,59	97,84	97,19	107,06	94,40	83,37	78,06
SNB-75	91,63	96,33	90,93	86,67	110,06	83,43	84,44	95,29	–	–	–
U251	96,66	97,72	101,64	104,69	96,60	98,79	101,39	107,40	104,56	100,30	106,84

ВИСНОВКИ. 1. Розроблено методи синтезу ряду амідів (3-оксо-3,4-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]хіназолін-4-іл)-оцтової кислоти, встановлено їх будову, вивчено фізико-хімічні властивості.

2. Показано, що синтезовані сполуки проявляють помірну протиракову активність відносно найбільш поширених клітинних ліній людських пухлин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Заикин В.Г., Варламов А.В., Микая А.И., Простваков Н.С. Основы масс-спектрометрии органических соединений. – М.: Наука/Интерпериодика, 2001. – 286 с.
2. Казицына Н.А., Куплетская Л.Б. Применение УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии в органической химии. – М.: Высшая школа, 1971. – 264 с.
3. Наканиси К. Инфракрасные спектры и строение органических соединений. – М.: Мир, 1965. – 216 с.
4. Aparna Vema, Sunil K. Panigrahi, G. Rambabu et al. Design of EGFR kinase inhibitors: a ligand-based approach and its confirmation with structure-based studies // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. – 2003. – **11**. – P. 4643-4653.
5. Boyd M.R. In *Cancer Drug Discovery and Development*; Teicher, B. A. Ed.; Humana Press. – 1997. – **2**. – P. 23-43.
6. Boyd M.R. Status of the NCI preclinic antitumor drug discovery screen // *Principles & Practices of Oncology*. – 1989. – **3**, № 10. – P. 1-12.
7. Christelle Lamazzi, Stephane Leonce, Bruno Pfeiffer et al. Expeditious synthesis and cytotoxic activity of new cyanoindolo[3,2-c]quinolines and benzimidazo[1,2-c]quinazolines // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. – 2000. – **10**. – P. 2183-2185.
8. Demetrio Raffa, Giuseppe Daidone, Benedetta Maggio et al. Synthesis and antileukemic activity of new 3-(1-phenyl-3-methylpirazol-5-yl)-2-styrylquinazolin-4(3H)-ones // *Farmaco*. – 2004. – **59**. – P. 215-221.
9. Demetrio Raffa, Giuseppe Daidone, Benedetta Maggio et al. Synthesis and antileukemic activity of new 3-(5-methylisoxazol-3-yl) and 3-(pyrimidin-2-yl)-2-styrylquinazolin-4(3H)-ones // *Farmaco*. – 2004. – **59**. – P. 451-455.
10. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinases: structure-activity relationships and antitumor activity of novel quinazolines // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. – 1997. – **7**, № 21. – P. 2723-2728.
11. Hyen Joo Park, Young-Shin Kim, Jin Sung Kim et al. 6-Arylamino-7-chloroquinazoline-5,8-diones as novel cytotoxic and DNA topoisomerase inhibitory agents // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. – 2004. – **14**. – P. 3385-3388.
12. Jeff B. Smaill, Brain D. Palmer, Gordon W. Rewcastle et al. Tyrosine kinase inhibitors. 15. 4-(Phenylamino)quinazoline and 4-(phenylamino)pyrido[d]-pyrimidine acrylamides as irreversible inhibitors of the ATP binding site of the epidermal growth receptors // *J. Med. Chem.* – 1999. – **42**. – P. 1803-1815.
13. Kenji Matsuno, Takashi Seishi, Takao Nakajima et al. Potent and selective inhibitors of platelet-derived growth factor receptor phosphorylation. Part 4. Structure-activity relationships for substituents on the quinazoline moiety of 4-[4-(N-substituted(thio)carbomoyl)-1-piperazinyl]-6,7-dimethoxyquinazoline derivatives // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. – 2003. – **13**. – P. 3001-3004.

14. Kidwai M., Venkataramanan R., Mohan R., Sapra P. Cancer chemotherapy and heterocyclic compounds // *Curr. Med. Chem.* – 2002. – **9**. – P. 1209-1228.
15. Masanori Tobe, Yoshiaki Isobe, Hideyuki Tomizawa et al. A novel structural class of potent inhibitors of NF- κ B activation: structure-activity relationships and biological effects of 6-aminoquinazoline derivatives // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. – 2003. – **11**. – P. 3869-3878.
16. Masanori Tobe, Yoshiaki Isobe, Hideyuki Tomizawa et al. Discovery of quinazolines as a novel structural class of potent inhibitors of NF- κ B activation // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. – 2003. – **11**. – P. 383-391.
17. Monks A., Scudiero D., Skehan P. et al. // *J. Nat. Cancer Inst.* – 1991. – **83**. – P. 757.
18. Moorthy S.S. Palanki, Paul E. Erdman, Minghuan Ren et al. The design and synthesis of novel orally active inhibitors of AP-1 and NF- κ B mediated transcriptional activation. SAR of in vitro and in vivo studies // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. – 2003. – **13**. – P. 4077-4080.
19. Rewcastle G.W., Denny W.A., Showalter H.D.H. Synthesis of 4-(2-phenylamino)pyrimidine derivatives as ATP-Competitive protein kinase inhibitors with potential for cancer chemotherapy // *Current Organic Chemistry*. – 2000. – **4**. – P. 679-706.
20. Sergey I. Kovalenko, Alexander V. Karpenko, Oksana V. Krivoshey et al. Novel Method for the Synthesis of [1,2,4]Triazino[4,3-c]quinazoline System // *Synthetic Communications*. – 2007. – **37**. – P. 3719-3727.
21. Trais M. Sielecki, Tricia L. Johnson, Jie Liu et al. Quinazolines as cyclin dependent kinase inhibitors // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. – 2001. – **11**. – P. 1157-1160.
22. Vedula M. Sharma, K.V. Adi Seshu, V. Chandra Sekhar et al. Synthesis and biological evaluation of [4-(2-phenylethanesulfonylmethyl)phenyl]-quinazolin-4-yl-amines as orally active anti-cancer agents // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. – 2004. – **14**. – P. 67-71.
23. William A. Denny. Irreversible inhibitors of the erbB family of protein tyrosine kinases // *Pharmacology & Therapeutics*. – 2002. – **93**. – P. 253-261.
24. William A. Denny. The 4-anilinoquinazoline class of inhibitors of the erbB family of receptor tyrosine kinases // *Pharmacol.* – 2001. – **56**. – P. 51-56.
25. Yanong D. Wang, Karen Miller, Diane H. Boschelli et al. Inhibitors of Src tyrosine kinase: the preparation and structure-activity relationship of 4-anilino-3-cyanoquinolines and 4-anilinoquinazolines // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. – 2000. – **10**. – P. 2477-2480.

СИНТЕЗ, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ПРОТИРАКОВАЯ АКТИВНОСТЬ АМИДОВ (3-ОКСО-3,4-ДИГИДРО-2H-[1,2,4]ТРИАЗИНО[4,3-С]-ХИНАЗОЛИН-4-ИЛ)-УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ

О.В. Кривошей, С.И. Коваленко
ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Разработаны методы синтеза ряда амидов (3-оксо-3,4-дигидро-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]хиназолин-4-ил)-уксусной кислоты, установлено их строение, изучены физико-химические свойства. Показано, что синтезированные соединения проявляют умеренную противораковую активность по отношению к наиболее распространенным клеточным линиям человеческих опухолей.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: (3-оксо-3,4-дигидро-2H-[1,2,4]триазино[4,3-с]хиназолин-4-ил)-уксусная кислота, амиды, противораковая активность.

SYNTHESIS, PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES AND ANTICANCER ACTIVITY OF AMIDES (3-OXO-3,4-DIHYDRO-2H-[1,2,4]TRIAZINO[4,3-C]QUINAZOLINE-4-YL)-ACETIC ACID

O.V. Kryvoschey, S.I. Kovalenko
ZAPORIZHYAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

Summary

The synthesis methods of some new (3-oxo-3,4-dihydro-2H-[1,2,4,]triazino[4,3-c]quinazoline-4-yl)acetic acid amides were elaborated, their structure was determined, physical and chemical properties were investigated. It was shown that compounds which were obtained exhibit moderate anticancer activity relatively to most widespread cell lines of human tumors.

KEY WORDS: (3-oxo-3,4-dihydro-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazoline-4-yl)acetic acids, amides, anticancer activity.

Отримано 7.11.2008 р.

Адреса для листування: С.І. Коваленко, Запорізький державний медичний університет, просп. Маяковського, 26, Запоріжжя, 69035, Україна.

ВПЛИВ МЕТАЛОКОМПЛЕКСУ ТИРОЗИНАТУ ЦИНКУ ТА ЕНТЕРОСОРБЕНТУ “ФІБРАБЕТ” НА ГЕНЕРАЦІЮ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ ТА ОКИСНЮВАЛЬНУ МОДИФІКАЦІЮ БІЛКІВ У ЩУРІВ, УРАЖЕНИХ ХЛОРИДАМИ КАДМІЮ ТА КОБАЛЬТУ

М.В. Чорна

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

У роботі досліджено вплив металокомплексу тирозинату цинку та ентеросорбенту “Фібрабет” на генерацію активних форм кисню та окиснювальну модифікацію білків у тварин, отруєних хлоридами кадмію та кобальту. При такому ураженні у щурів спостерігається значне збільшення швидкості продукування вільних радикалів та вмісту пероксиду водню. Білкові молекули зазнають окиснювальної модифікації при взаємодії з активними формами кисню та самими іонами кадмію і кобальту. Застосування тирозинату цинку для корекції вільнорадикальних порушень привело до зниження продукції супероксид-аніон радикала та гідроксильного радикала, а також концентрації H_2O_2 у плазмі крові. Вміст альдегідо- та кетоніювальних нейтрально-го й основного характеру так само зазнавав змін у кращу сторону. Додаткове введення ентеросорбенту дало ефективний результат і привело до нормалізації як показників активних метаболітів кисню, так і вільнорадикального окиснення білків.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: активні форми кисню, окиснювальна модифікація білків, кадмій, кобальт, тирозинат цинку, ентеросорбент “Фібрабет”.

ВСТУП. Широке використання важких металів у виробництві, збільшення об'єму їх добування і переробки призвели до значного накопичення цих ксенобіотиків та їх солей у навколишньому середовищі. Поміж забруднювачів навколишнього середовища токсичність важких металів, у тому числі кадмію та кобальту, проявляється в індукції оксидативного стресу, до того ж метали відіграють роль не менш активних прооксидантів порівняно з, наприклад, іонізуючою радіацією або радіонуклідами [2]. Кадмій – один з найтоксичніших елементів, який, потрапляючи в організм, практично не виводиться і накопичується в різних органах, переважно в печінці та нирках [13]. Незважаючи на біологічну роль кобальту, надлишкове надходження його в організм супроводжується різними порушеннями здоров'я [11]. Прооксидантна роль кобальту пов'язана з його здатністю безпосередньо взаємодіяти з вільними радикалами кисню та пероксидом водню, активувати ферментні системи генерації реактивних форм кисню [4].

Підвищена генерація вільних радикалів викликає збільшення процесів пероксидації

не тільки ліпідів, але і білків. З огляду на різноманітну хімічну будову та особливу структурну організацію білкових молекул, процес їх окиснення має складний і вибірковий характер, що пов'язано з утворенням великої групи окиснених продуктів, різноманітних за своєю хімічною структурою. У фізіологічних умовах і при патологічних станах може перебігати металокаталізоване окиснення білків, що відбувається в тій частині білкової молекули, яка бере участь у зв'язуванні металів змінної валентності, наприклад кобальту [10].

Застосування ентеросорбції при отруєннях важкими металами дає позитивні результати. Ентеросорбенти зменшують процес депонування токсинів у тканини й органи і, як наслідок, попереджують або значно віддаляють розвиток інтоксикації чи хвороби. На сьогодні спостерігається значне зростання інтересу до хелатних сполук біогенних елементів з органічними лігандами, які проявляють різні види біологічної активності. Особливу зацікавленість із таких комплексів викликають сполуки металів-мікроелементів з амінокислотами, які являють собою новий клас біологічно активних сполук [12]. У попередніх роботах дослідників нашої кафедри виявлено пози-

тивний вплив металокомплексів гістидинатів міді й цинку на зменшення процесів ліпопероксидації та покращення стану детоксикаційної системи у тварин з хімічним отруєнням [5, 6, 9].

Тому метою нашої роботи було вивчити вплив ентеросорбенту “Фібрабет” і металокомплексу тирозинату цинку на утворення активних форм кисню (АФК) та вміст окиснювальних модифікованих білків (ОМБ) при отруєнні тварин хлоридами кадмію і кобальту.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експериментальні дослідження проводили на 42 білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою 180-200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Тварини були поділені на 4 групи: 1-ша – інтактні тварини; 2-га – уражені хлоридами кадмію та кобальту; 3-тя група – уражені хлоридами кадмію та кобальту, яким проводили корекцію тирозинатом цинку; 4-та – уражені хлоридами кадмію та кобальту, які отримували тирозинат цинку та ентеросорбент “Фібрабет”. Солі металів вводили одноразово внутрішньошлунково у вигляді водних розчинів. Кадмію хлорид – в дозі 7 мг/кг маси тіла тварини [7], кобальту хлорид – в дозі 5 мг/кг [7]. Тирозинат цинку вводили через годину після введення солей в дозі 0,36 мг/кг. Дозу металокомплексу розраховували на основі концентрації цинку в сироватці крові тварин. Тирозинат цинку синтезовано нами на кафедрі медичної біохімії та клініко-лабораторної діагностики Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського з тирозину та гідроксиду цинку, які брали в еквімолярних концентраціях. Ентеросорбент “Фібрабет” щури отримували в дозі 1 г/кг маси тіла тварин протягом всього експерименту. Декапітацію тварин проводили під тиопенталовим наркозом через 1 та 4 доби від моменту введення токсикантів згідно з правилами Європейської конвенції про гуманне ставлення до лабораторних тварин [18]. Дослідження підлягали плазма крові та печінка.

Визначення продукції супероксид-аніон радикала ($O_2^{\cdot-}$) проводили за допомогою тесту з нітросинім тетразолієм [14], гідроксильного радикала (ОН) – за методом [17]. Швидкість генерації радикала виражали в умовних одиницях, які розраховували як $\Delta E \cdot 10^2$ за 30 хв на 1 мг білка. Пероксид водню (H_2O_2) визначали перманганатометричним методом [8] з розрахунком вмісту H_2O_2 на 1 кг білка. Стан вільнорадикального окиснення білків оцінювали за вмістом альдегідо- та кетоніохідних нейтрального (ОМБ₃₇₀) й основного (ОМБ₄₃₀)

характеру [14]. Отримані результати досліджень обробляли статистично, використовуючи t-критерій Стюдента, за допомогою комп'ютерної програми “Microsoft Excel”.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Супероксид-аніон радикал слугує пусковою ланкою каскаду реакцій, що призводять до утворення інших форм АФК. У процесі дослідження загальної нестимульованої активності $O_2^{\cdot-}$ нами встановлено підвищену його генерацію (табл. 1).

При ураженні щурів солями кадмію та кобальту найвищий вміст супероксид-аніон радикала спостерігали на 4-ту добу експерименту. Продукція $O_2^{\cdot-}$ при загальній нестимульованій активності збільшилася на 119 % порівняно з інтактними тваринами, генерація від мікросомального електронно-транспортного ланцюга зросла на 16 %, а від мітохондріального – на 76 %. Застосування металокомплексу тирозинату цинку призвело до зменшення кількості $O_2^{\cdot-}$. Загальна активність радикала достовірно знизилася на 39 і 30 %, порівняно з ураженими тваринами, на 1-шу та 4-ту доби відповідно. Зменшилася продукція $O_2^{\cdot-}$ і від електронно-транспортних ланцюгів, вона була на 4 і 16 % меншою від уражених щурів у мікросомах на 1-шу та 4-ту доби відповідно й на 8 і 30 % меншою у мітохондріях на ті ж доби. Тирозин як хелатоутворювач проявляє антирадикальну дію, подібну до дії біофлавоноїдів, тобто, взаємодіючи з радикальними формами кисню, перетворює їх в стабільні форми нерадикальної природи. Що стосується цинку, то, за літературними даними [1], він також проявляє антиоксидантні властивості, як сам, так і в складі комплексних сполук, крім того, іони Zn^{2+} пригнічують адсорбцію кадмію в організмі [16]. Цим можна пояснити позитивний вплив тирозинату цинку на утворення АФК. Ще кращі результати ми одержали при застосуванні поєднаної дії металокомплексу та ентеросорбенту “Фібрабет”. Вже на 1-шу добу використання коригуючих чинників генерація $O_2^{\cdot-}$, порівняно з ураженими тваринами, знизилася від нестимульованої активності на 45 %, від мікросомального електронно-транспортного ланцюга – на 5 %, від мітохондріального – на 20 %. На 4-ту добу продукція супероксиду також достовірно знизилася і застосування ентеросорбції в поєднанні з антиоксидантною дією тирозинату цинку привело до нормалізації вмісту $O_2^{\cdot-}$.

Не меншу небезпеку для організму становить і пероксид водню, який утворюється з супероксид-аніон радикала в реакції дисмутації під дією ферменту супероксиддисмутази.

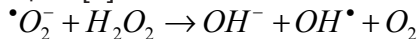
Таблиця 1 – Вплив тирозинату цинку та ентеросорбенту “Фібрабет” на вміст супероксид-аніон радикала і гідроксильного радикала у печінці та пероксиду водню у плазмі крові тварин, уражених хлоридами кадмію і кобальту ($M \pm m$; $n=6$)

Показник	Групи тварин						
	Інтактні $n=6$	Уражені Cd+Co		Тирозинат Zn		Тирозинат Zn+фібрабет	
		1 доба $n=6$	4 доба $n=6$	1 доба $n=6$	4 доба $n=6$	1 доба $n=6$	4 доба $n=6$
$O_2^{\bullet - 1)}$, МКМОЛЬ / (С·КГ)	0,73± 0,01	1,48± 0,07 $p_1 < 0,001$	1,60± 0,04 $p_1 < 0,001$	0,90± 0,03 $p_2 < 0,001$	1,12± 0,03 $p_2 < 0,001$	0,81± 0,06 $p_2 < 0,001$	0,85± 0,04 $p_2 < 0,001$
$O_2^{\bullet - 2)}$, МКМОЛЬ / (С·КГ)	15,33± 0,33	16,10± 0,32	19,38± 0,80 $p_1 < 0,01$	15,46± 0,21	16,31± 0,33 $p_2 < 0,02$	15,38± 0,19	15,84± 0,16 $p_2 < 0,01$
$O_2^{\bullet - 3)}$, МКМОЛЬ / (С·КГ)	16,77± 0,46	21,66± 0,32 $p_1 < 0,001$	29,44± 1,02 $p_1 < 0,001$	19,93± 0,65 $p_2 < 0,05$	20,61± 0,61 $p_2 < 0,001$	17,23± 0,57 $p_2 < 0,001$	18,71± 0,48 $p_2 < 0,001$
H_2O_2 , Г/КГ	0,397± 0,014	0,897± 0,027 $p_1 < 0,001$	0,846± 0,030 $p_1 < 0,001$	0,557± 0,013 $p_2 < 0,001$	0,548± 0,015 $p_2 < 0,001$	0,488± 0,010 $p_2 < 0,001$	0,468± 0,006 $p_2 < 0,001$
OH^{\bullet} , ум. од.	4,53± 0,11	11,13± 0,41 $p_1 < 0,001$	13,85± 0,80 $p_1 < 0,001$	8,19± 0,27 $p_2 < 0,01$	8,42± 0,29 $p_2 < 0,001$	7,89± 0,39 $p_2 < 0,01$	8,15± 0,24 $p_2 < 0,001$

Примітки:

- ¹⁾ – загальна нестимульована активність.
- ²⁾ – продукція від мітосомального електронно-транспортного ланцюга.
- ³⁾ – продукція від мітохондріального електронно-транспортного ланцюга.
- p_1 – різниця достовірна порівняно з інтактними тваринами.
- p_2 – різниця достовірна порівняно з ураженими тваринами.

В нашому експерименті вміст H_2O_2 в плазмі крові різко зростав і в уражених тварин становив уже через 24 год після введення токсинів 226 % від рівня здорових, а на 4-ту добу дещо знижувався, що складало 213 %. Лікування щурів тирозинатом цинку зменшило кількість пероксиду водню і складало близько 60 % від вмісту в уражених тварин. Показники H_2O_2 , майже наближені до рівня інтактних тварин, ми отримали при додатковому застосуванні ентеросорбенту. Найбільша токсичність H_2O_2 для клітин пов'язана з його участю в утворенні гідроксильного радикала за реакцією [3]:



Результати проведених нами досліджень показують, що при введенні щурам хлоридів кадмію та кобальту швидкість утворення гідроксильного радикала достовірно зростає у 2,45 та 3,05 раза на 1-шу і 4-ту доби експерименту порівняно з контрольними тваринами. Тирозинат цинку вплинув на зменшення продукції OH^{\bullet} : на 1-шу добу вона була в 1,36, на 4-ту – в 1,64 раза меншою, ніж в уражених тварин. Поєднання металокомплексу з фібрабетом дало кращі результати порівняно із застосуванням самого тирозинату цинку. Швидкість генерації OH^{\bullet} зменшилася в 1,41

та 1,7 раза на 1-шу і 4-ту доби відповідно порівняно з тваринами, які не зазнавали корекції. Як видно з отриманих результатів, тирозинат цинку має виражену антиоксидантну активність, яка проявляється ще більшою мірою при поєднанні з ентеросорбцією.

Важливими маркерами вільнорадикальної патології є окиснювально-модифіковані білки. Аналіз показників, що характеризують інтенсивність перекисного окиснення білків, показав, що за дії важких металів і металів змінної валентності концентрація альдегідо- та кетонічних нейтрального (ОМБ₃₇₀) і основного (ОМБ₄₃₀) характеру найбільше зростає на 4-ту добу експерименту і становить 194 % (ОМБ₃₇₀) та 163 % (ОМБ₄₃₀) порівняно з інтактними тваринами (табл. 2). Застосування металокомплексу тирозину з цинком через 24 год після введення привело до зниження вмісту ОМБ₃₇₀ та ОМБ₄₃₀ до 81 і 88 % відповідно, а на 4-ту добу ці ж показники становили 74 та 83 % від рівня уражених щурів. Додаткове введення ентеросорбенту привело до нормалізації гідразонових похідних нейтрального характеру і становило тільки на 3 та 5 % більше від інтактних тварин на 1-шу і 4-ту доби експерименту, подібні зміни стосувалися і похідних основного характеру.

Таблиця 2 – Показники вільнорадикального окиснення білків у тварин, уражених хлоридами кадмію та кобальту за корекції тирозинатом цинку й ентеросорбентом “Фібрабет” ($M \pm m$; $n=6$)

Показник	Групи тварин						
	Інтактні $n=6$	Уражені Cd+Co		Тирозинат Zn		Тирозинат Zn+фібрабет	
		1 доба $n=6$	4 доба $n=6$	1 доба $n=6$	4 доба $n=6$	1 доба $n=6$	4 доба $n=6$
ОМБ₃₇₀ , МОЛЬ/КГ	0,73± 0,02	1,12± 0,04 $p_1 < 0,001$	1,42± 0,05 $p_1 < 0,001$	0,91± 0,03 $p_2 < 0,01$	1,05± 0,02 $p_2 < 0,001$	0,75± 0,02 $p_2 < 0,001$	0,77± 0,03 $p_2 < 0,001$
ОМБ₄₃₀ , МОЛЬ/КГ	0,46± 0,02	0,57± 0,02 $p_1 < 0,05$	0,75± 0,01 $p_1 < 0,001$	0,50± 0,01 $p_2 < 0,05$	0,62± 0,01 $p_2 < 0,05$	0,48± 0,01 $p_2 < 0,01$	0,53± 0,02 $p_2 < 0,001$

Примітки:

1. p_1 – різниця достовірна порівняно з інтактними тваринами.
2. p_2 – різниця достовірна порівняно з ураженими тваринами.

ВИСНОВКИ. 1. Введення тваринам хлоридів кадмію та кобальту приводить до значного підвищення генерації активних форм кисню та вмісту окиснювально-модифікованих білків на 1-шу і 4-ту доби експерименту.

2. Введення металокомплексу тирозинату цинку приводить до зменшення продукції вільних радикалів та зниження концентрації ОМБ₃₇₀ і ОМБ₄₃₀, що доводить антиоксидантні властивості сполуки.

3. Застосування ентеросорбції в поєднанні з хелатним комплексом приводить до норми

процеси радикалоутворення і пероксидації білків, що дозволяє припускати можливість застосування такої комбінації при хімічних ураженнях організму.

ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ. Подальше вивчення антиоксидантних властивостей тирозинату цинку буде спрямоване на доведення можливості використання його у клінічній практиці для лікування різних патологій, пов'язаних з хімічним отруєнням.

ЛІТЕРАТУРА

1. Авцын А.П., Жаворонков А.А. Микроэлементы человека. – М.: Медицина, 1991. – 496 с.
2. Антоняк Г.Л., Снітинський В.В., Панас Н.Є. Вплив іонів кадмію на процес енергетичного метаболізму в еритроцитах тварин // Вісник Дніпропетровського державного аграрного університету. – 2006. – № 1. – С. 70-72.
3. Болдырев А.А. Окислительный стресс и мозг. // Соросовский образовательный журнал. – 2001. – 7, № 4. – С.21-28.
4. Ганусова Г.В. Возрастные особенности активности NADP-зависимых дегидрогеназ и содержания цитохромов P-450 и V₅ в печени крыс при развитии оксидативного стресса, вызванного хлоридом кобальта // Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія: Біологія. – 2005. – Вип. 1-2, № 709. – С. 33-38.
5. Головки Л.Л. Корекція гістидинатом міді порушень захисних систем організму, викликаних впливом поєданого введення нітритів та солей важких металів // Мед. хімія. – 2004. – 6, № 4. – С. 42-46.
6. Гонський Я.І., Острівка О.І. Вплив поєднаної дії металокомплексу гістидинату міді та ентеросорбенту “Фібрабет” на показники білкового обміну за умов ураження хлоридом кадмію та нітритом на-

трію на тлі рентгенівського опромінення // Мед. хімія. – 2006. – 8, № 3. – С. 85-88.

7. Губський Ю.І., Долго-Сабуров В.Б., Храпак В.В. Химические катастрофы и экология. – К.: Здоров'я, 1993. – 224 с.

8. Данилович Ю.В. Вплив стероїдних гормонів і окситоцину на утворення NO і H₂O₂ в ендометрії // Укр. біохім. журн. – 2004. – 76, № 1. – С. 88-96.

9. Дмухальська Є.Б. Вплив гістидину та його металокомплексів на стан детоксикаційної системи в шурів з токсичним ураженням печінки // Наукові записки Тернопільського держ. пед. ун-ту. Серія: Біологія. – 2002. – 6, № 4. – С. 95-99.

10. Дубініна О.Ю. Окислювальний стрес і окислювальна модифікація білків // Мед. хімія. – 2001. – 3, № 2. – С. 5-12.

11. Калиман П.А., Загайко А.Л., Шламов Р.В. и др. Содержание и состав липопротеинов крови и печени крыс и некоторые показатели окислительного стресса при введении хлорида кобальта // Укр. біохім. журн. – 1997. – 69, № 5-6. – С. 138-148.

12. Кебец Н.М. Смешаннолигандные комплексы биометаллов с витаминами и аминокислотами и их биологические свойства // Монография. – Кострома, 2005. – 234 с.

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

14. Мещишен І.Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми крові // Буковинський мед. вісник. – 1998. – 2, № 1. – С. 156-158.

15. Почерняева В.Ф., Цебржинский О.И., Шиш Н.В. Определение источников активных форм кислорода // Буковинський мед. вісник. – 2005. – 9, № 2. – С. 214-215.

16. Chmielnicka J., Sowa B. Cadmium interaction with essential metals (Zn, Cu, Fe), metabolism of metallothionein and ceruloplasmin in pregnant rats and fetuses // Ecotoxicol. Environ. Saf. – 1996. – 35. – P. 277-291.

17. Chung S.-K., Osawa T. Hydroxyl radical scavengers from white mustard (*Sinapis alba*) // Food Science and Biotechnology. – 1998. – 7, № 4. – P. 209-213.

18. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe. Strasbourg. – 1986. – № 123. – 52 p.

ВЛИЯНИЕ МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСА ТИРОЗИНАТА ЦИНКА И ЭНТЕРОСОРБЕНТА “ФИБРАБЕТ” НА ГЕНЕРАЦИЮ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА И ОКИСЛИТЕЛЬНУЮ МОДИФИКАЦИЮ БЕЛКОВ У КРЫС, ПОРАЖЕННЫХ ХЛОРИДАМИ КАДМИЯ И КОБАЛЬТА

М.В. Чорная

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

В работе исследовано влияние металлокомплекса тирозината цинка и энтеросорбента “Фибрабет” на генерацию активных форм кислорода и окислительную модификацию белков у животных, отравленных хлоридами кадмия и кобальта. При таком поражении у крыс наблюдается значительное увеличение скорости продуцирования свободных радикалов и содержания перекиси водорода. Белковые молекулы испытывают окислительную модификацию при взаимодействии с активными формами кислорода и самими ионами кадмия и кобальта. Применение тирозината цинка для коррекции свободнорадикальных нарушений привело к снижению продукции супероксид-анион радикала и гидроксильного радикала, а также концентрации H_2O_2 в плазме крови. Содержание альдегидо- и кетонпроизводных нейтрального и основного характера также испытывало изменения в лучшую сторону. Дополнительное введение энтеросорбента дало эффективный результат и привело к нормализации как показателей активных метаболитов кислорода, так и свободнорадикального окисления белков.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: активные формы кислорода, окислительная модификация белков, кадмий, кобальт, тирозинат цинка, энтеросорбент „Фибрабет”.

INFLUENCE OF ZINC TYROSINATE METAL COMPLEX AND ENTEROSORBENT “FIBRABET” ON OXYGEN ACTIVE FORMS GENERATION AND PROTEIN OXIDATIVE MODIFICATION IN RATS AFFECTED WITH CADMIUM AND COBALT CHLORIDES

M.V. Chorna

TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The influence of zinc tyrosinate metal complex and enterosorbent “fibrabet” on oxygen active forms generation and proteins oxidative modification in rats affected with cadmium and cobalt chlorides was investigated. At such affection rats have a considerable increasing of speed of free radicals formation and hydrogen peroxide contents. Proteins molecules are undergone to oxidative modification at interaction with oxygen active forms and cadmium and cobalt ions. Application of zinc tyrosinate for the correction of free-radical violations resulted in the decline of production of superoxide-anion radical and hydroxyl radical as well as H_2O_2 concentration in blood plasma. The contents of aldehyde- and ketone derivatives of neutral and basic character also changed into the better side. Additional introduction of enterosorbent had an effective result and caused the normalization of both indexes of active oxygen metabolites and free-radical oxidation of proteins.

KEY WORDS: oxygen active forms, oxidative modification of proteins, cadmium, cobalt, zinc tyrosinate, enterosorbent “Fibrabet”.

Отримано 18.09.2008 р.

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

ПАТОМОРФОЛОГІЧНЕ ПІДТВЕРДЖЕННЯ НЕШКІДЛИВОСТІ НОВОЇ КОМБІНАЦІЇ КАРБАМАЗЕПІНУ, КАЛІЄВОЇ СОЛІ 2,4-ДИХЛОРБЕНЗОЙНОЇ КИСЛОТИ І КОФЕЇНУ

Т.В. Звягінцева, Л.Т. Киричок, Г.О. Сирова, С.І. Миронченко, Н.І. Горголь, І.В. Трутаєв

ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Наведено дані патоморфологічних досліджень внутрішніх органів тварин (білі щури) після внутрішньо-шлункового введення нової комбінації, що містить калієву сіль 2,4-дихлорбензойної кислоти, кофеїн і карбамазепін, у дозі 2г/кг (щоденно, 30 днів). Показано, що досліджувана комбінація не впливає на морфологію внутрішніх органів і може безпечно застосовуватись тривалий час (1 місяць).

КЛЮЧОВІ СЛОВА: патоморфологічне підтвердження, калієва сіль 2,4-дихлорбензойної кислоти, кофеїн, карбамазепін, морфологія внутрішніх органів.

ВСТУП. Питання застосування у сучасній медичній практиці комбінованих лікарських засобів є актуальним. Комбінація в одному лікарському препараті кількох компонентів розширює його фармакологічний спектр і сприяє політропній дії [3]. Крім того, це дає можливість вводити інгредієнти до складу лікарських засобів у менших дозах, що передбачає позитивний вплив на токсичність препарату. Введення до складу комбінації кількох фармакологічно активних речовин не тільки позитивно впливає на активність препарату, але і може стати причиною збільшення його токсичності. Тому необхідно і доцільно вивчати, як впливає новий лікарський засіб (особливо комбінований) на показники гострої і хронічної токсичності [1, 2].

Проведення патоморфологічних досліджень є обов'язковою складовою частиною при вивченні хронічної токсичності та нешкідливості нових лікарських засобів.

Метою дослідження було виконання патоморфологічних досліджень внутрішніх органів тварин після введення нової комбінації, що містить калієву сіль 2,4-дихлорбензойної кислоти, кофеїн і карбамазепін.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для дослідження брали білих щурів лінії WAG популяції Вістар обох статей масою 180-230 г, яким щодня внут-

рішньошлунково вводили досліджувану комбінацію (30 днів) у дозі 2 г/кг. Після закінчення хронічного дослідження щурів виводили з експерименту з дотриманням правил гуманного ставлення до лабораторних тварин (Страсбург, 1985; Київ, 2001). Фрагменти внутрішніх органів (головного мозку, легенів, тимуса, серця, печінки, селезінки, надниркових залоз, нирок, гонад, шлунка й тонкого кишечника) брали для патоморфологічного дослідження (фарбування гематоксилін-еозином і пікрофуксином за Ван Гізон).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При патоморфологічному дослідженні у речовині головного мозку відзначається слабовиражений периваскулярний і перицелюлярний набряк, а також помірне повнокров'я судин. М'яка мозкова та павутинна оболонки теж з помірно повнокровними судинами.

Спостерігаються м'язові волокна міокарда рівномірної величини, які розділені щільноподібними просторами. Ядра світлі, розташовані центрально, мають подовжену форму, великі розміри. Відзначаються незначний інтерстиціальний набряк і помірне повнокров'я судин.

При патоморфологічних дослідженнях легенів спостерігаються вільні просвіти альвеол, тонкі альвеолярні стінки й стінки бронхіол. Виявляються невеликі вогнища внутрішньо-легеневих крововиливів – як інтерстиціальних, так і внутрішньоальвеолярних. Навколо

великих бронхів визначаються скупчення лімфоїдної тканини. Стінки бронхів тонкі, бронхіальний епітелій частково десквамований. Судини легенів повнокровні.

Центральні вени печінки помірно повнокровні. У портальних трактах визначаються тріади. Цитоплазма гепатоцитів еозинофільна, переважно в периферичних відділах визначаються відкладення глікогену, ступінь якого неоднакова в різних спостереженнях і коливається від незначної кількості до значної (рис. 1, 2). Зустрічаються окремі диплоїдні клітини. Дистрофічні зміни в печінці відсутні.

Ниркові клубочки рівномірної величини, капіляри їх помірно повнокровні. Просвіти каналців містять еозинофільні білкові маси. Цитоплазма епітелію каналців еозинофільна, у більшості спостережень – із легкою еозинофільною зернистістю (рис. 3). В інтерстиції визначаються невеликі лімфоплазмоцитарні інфільтрати. Кровоносні судини помірно повнокровні.

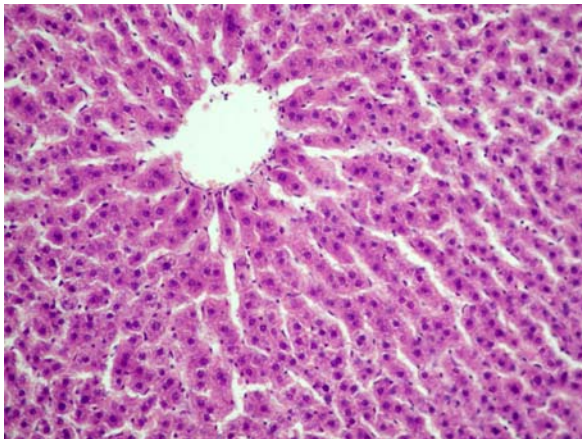


Рис. 1. Печінка. Цитоплазма гепатоцитів еозинофільна, переважно в периферичних відділах часточок визначаються значні відкладення глікогену. Фарбування гематоксилін-еозином. х 200.

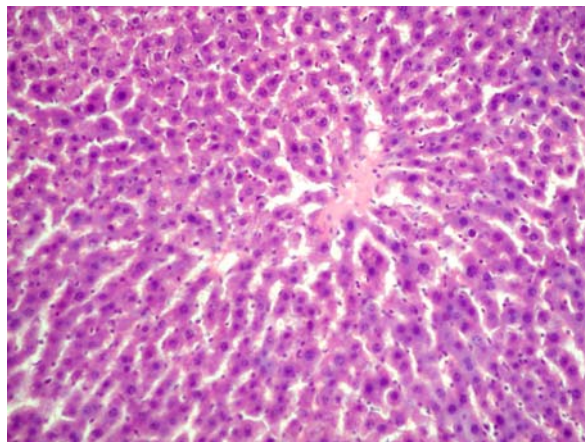


Рис. 2. Печінка. Цитоплазма гепатоцитів еозинофільна, містить незначну кількість глікогену. Фарбування гематоксилін-еозином. х 200.

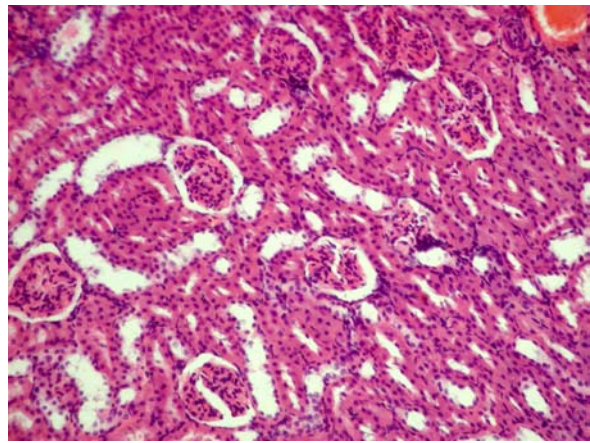


Рис. 3. Просвіти каналців містять еозинофільні білкові маси. Цитоплазма епітелію каналців еозинофільна, з легкою еозинофільною зернистістю. Фарбування гематоксилін-еозином. х 200.

У білій пульпі селезінки визначаються великі фолікули, в яких помітні центральні й периферичні відділи, у червоній – повнокровні синусоїди, плазмоцити й у великій кількості макрофаги, а також помірно повнокровні синусоїди.

У слизовій оболонці стравоходу є ознаки ороговіння і десквамації епітеліоцитів. Власні залози стравоходу та м'язова оболонка без змін, судини помірно повнокровні.

У товщі слизової оболонки шлунка визначаються одиничні десквамовані епітеліоцити. Залози без змін. Клітинний склад власної пластинки слизової та підслизових шарів представлений лімфоцитами, рідкими нейтрофільними гранулоцитами та плазматичними клітинами. Судини помірно повнокровні (рис. 4).

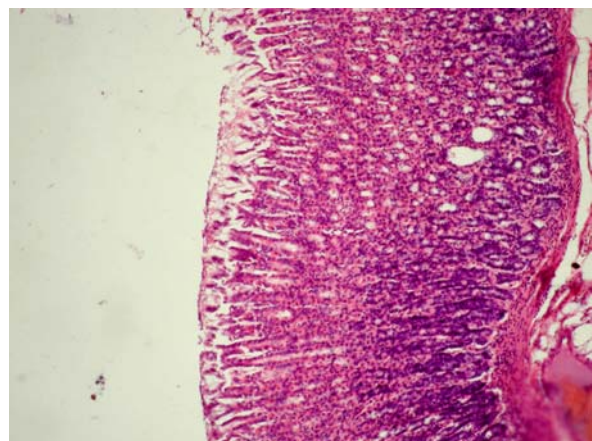


Рис. 4. Шлунок. У товщі слизової оболонки шлунка визначаються одиничні десквамовані епітеліоцити. Залози без змін. Фарбування гематоксилін-еозином. х 100.

При патоморфологічному дослідженні тонкого кишечника спостерігаються ворсинки пальце- або листоподібної форми, епітелій

ворсинок одношаровий призматичний, серед епітеліоцитів визначаються бокалоподібні клітини. В одному із шести спостережень мають місце дистрофічні зміни епітелію й досить виражена десквамація ентероцитів (рис. 5). При цьому у власній пластинці слизової оболонки виявляються збережені кишкові залози без дистрофічних змін. Клітинні інфільтрати представлені лімфоцитами та плазматичними клітинами. Субепітеліально визначаються окремі лімфоїдні фолікули. У підслизовій оболонці спостерігаються помірно повнокровні кровоносні судини.

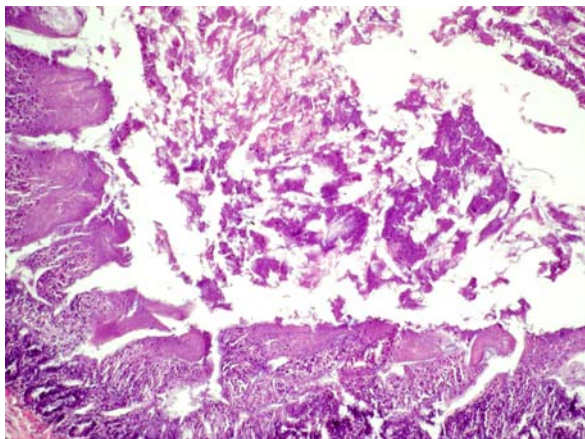


Рис. 5. Тонкий кишечник. Виражена десквамація ентероцитів. Кишкові залози збережені. Фарбування гематоксилін-еозином. $\times 100$.

Епітелій слизової оболонки товстого кишечника одношаровий призматичний, мають місце ознаки слабовираженої десквамації епітеліоцитів. Виявляються численні бокалоподібні клітини зі світлою цитоплазмою. У власній пластинці визначаються тісно розташовані крипти (рис. 6).

Цитоплазма клітин клубочкової та пучкової зон надниркових залоз світла, вакуолізована. Клітини мозкового шару світлі, капіляри повнокровні.

Комбінація, що містить кофеїн, карбамазепін і калієву сіль 2,4-дихлорбензойної кислоти, не впливає на морфологію внутрішніх органів. У більшості спостережень у печінці зберігається глікогенутворення, однак ступінь

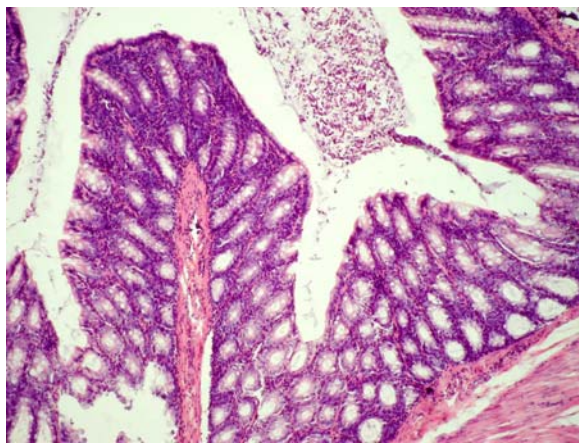


Рис. 6. Товстий кишечник. Епітелій слизової оболонки кишечника одношаровий призматичний, мають місце ознаки слабовираженої десквамації епітеліоцитів. Фарбування гематоксилін-еозином. $\times 100$.

відкладення глікогену в різних спостереженнях коливається, мабуть, у зв'язку з природною динамікою його засвоєння тканинами. Відзначається висока регенераторна здатність гепатоцитів, про що свідчить наявність диплоїдних клітин. У нирках виявляються легка зернистість цитоплазми та скупчення гомогенних еозинофільних мас у просвітах звитих канальців, що відбиває стан функціональної напруги та не відрізняється від контролю. У легенях мають місце крововиливи, спазм дрібних бронхіол з десквамацією епітелію, що відображає, на нашу думку, механізм виведення експериментальних тварин з досліду. Шлунково-кишковий тракт без особливих змін, однак у тонкому кишечнику в 1 спостереженні з 6 відзначені ознаки дистрофії та вираженої десквамації поверхневого епітелію.

ВИСНОВКИ. 1. Нова комбінація, що містить кофеїн, карбамазепін, калієву сіль 2,4-дихлорбензойної кислоти (2 г/кг, внутрішньошлунково, кожного дня, протягом місяця), не впливає на морфологію внутрішніх органів і може безпечно застосовуватися довгий час (1 місяць).

2. При тривалому застосуванні (1 місяць) досліджувана комбінація активізує природні процеси біотрансформації в печінці та елімінації в шлунково-кишковому тракті й нирках.

ЛІТЕРАТУРА

1. Звягинцева Т.В., Киричек Л.Т., Сырочая А.О. и др. Изучение алергизирующего действия комбинации производного 2,4-дихлорбензойной кислоты, карбамазепина и кофеина // Вісник Вінницького національного медичного університету: Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю "Актуальні питання фармакології". – Вінниця, 2007. – 11 (2/2). – С. 765-766.

кого національного медичного університету: Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю "Актуальні питання фармакології". – Вінниця, 2007. – 11 (2/2). – С. 765-766.

2. Звягинцева Т.В., Сирова Г.О., Киричек Л.Т. та ін. Вивчення хронічної токсичності нової комбінації 2,4-дихлорбензойної кислоти, кофеїна та карбамазепіна // Матеріали I Національного конгресу "Человек и лекарство – Украина". – К., 2008. – С. 160.

3. Киричек Л.Т., Трутаєв І.В., Федорін Г.Ф. Комбіновані фітопрепарати – нове перспективне джерело фармакотерапії // Матеріали II Національного з'їзду фармакологів України "Фармакологія 2001 – крок у майбутнє". – Дніпропетровськ, 2001. – С. 111.

4. Ларионов Л.П., Бурда В.Д., Журавлев В.Н. и др. Новая комбинация фармакологически активных веществ на гелевой основе для использования при инструментальных урологических вмешательствах // Матеріали III съезда фармакологов России "Фармакология – практическому здравоохранению". – С. Пб., 2007. – Т. 7, Ч. 1. – С. 1762.

5. Мамчур В.И., Жилуков В.И., Дронов С.Н. и др. Фармакология церебропротекторов в виде фик-

сированных комбинаций // Матеріали III съезда фармакологов России "Фармакология – практическому здравоохранению". – С. Пб., 2007. – Т. 7, Ч. 2. – С. 1847.

6. Подплетняя Е.А., Мазур И.А., Каменская Л.А., Кучеренко Л.И. Комбинированное применение индометацина и тиотриазолина – возможность повышения хондробезопасности НПВС // Матеріали III съезда фармакологов России "Фармакология – практическому здравоохранению". – С. Пб., 2007. – Т. 7, Ч. 2. – С. 1900.

7. Чайка Л.О., Тимченко О.В., Андріанова Т.В., Лібіна В.В. Протизапальні властивості нового комбінованого препарату для нашкірного застосування – гелю "Диклоцин-КМП" // Матеріали II Національного з'їзду фармакологів України "Фармакологія 2001 – крок у майбутнє". – Дніпропетровськ, 2001. – С. 269.

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ПОДТВЕРЖДЕНИЕ БЕЗВРЕДНОСТИ НОВОЙ КОМБИНАЦИИ КАРБАМАЗЕПИНА, КАЛИЕВОЙ СОЛИ 2,4-ДИХЛОРБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ И КОФЕИНА

Т.В. Звягинцева, Л.Т. Киричек, А.О. Сыровая, С.И. Миронченко, Н.И. Горголь, И.В. Трутаев

ХАРЬКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Резюме

Приведены данные патоморфологических исследований внутренних органов животных (белые крысы) после внутрижелудочного введения новой комбинации, содержащей калиевую соль 2,4-дихлорбензойной кислоты, кофеин и карбамазепин, в дозе 2 г/кг (ежедневно, 30 дней). Показано, что исследуемая комбинация не влияет на морфологию внутренних органов и может безопасно применяться длительное время (1 месяц).

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: патоморфологическое подтверждение, калиевая соль 2,4-дихлорбензойной кислоты, кофеин, карбамазепин, морфология внутренних органов.

PATHOMORPHOLOGICAL CONFIRMATION OF INNOCENCE OF NEW COMBINATION OF CARBAMAZEPINUM, KALIUM SALT OF 2,4-DICHLORBENZOIC ACID AND COFFEINUM

T.V. Zvyahintseva, L.T. Kyrychok, H.O. Syrova, S.I. Myronchenko, N.I. Horhol, I.V. Trutayev

Summary

The results of pathomorphological researches of internal organs of white rats after intragastric introduction of new combination, containing kalium salt of 2,4-dichlorbenzoic acid, coffeinum and carbamazepinum, in a dose 2 g/kg (daily, 30 days) are adduced. It is shown that researched combination does influence on morphology of internal organs and can be used safety for a long time (1 month).

KEY WORDS: pathomorphologigal confirmation, kalium salt of 2,4-dichlorbenzoic acid, coffeinum, carbamazepinum, morphology of internal organs.

Отримано 11.06.2008 р.

Адреса для листування: Г.О. Сирова, Харківський національний медичний університет, просп. Леніна, 4, Харків, 61022, Україна.

ЗНАЧЕННЯ МАРКЕРІВ КІСТКОВОГО МЕТАБОЛІЗМУ ТА ДЕСТРУКЦІЇ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ У ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА ЮВЕНІЛЬНИЙ РЕВМАТОЇДНИЙ АРТРИТ**О.Є. Федорців, Н.М. Ярема***ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО*

У роботі наведено дані про зміну маркерів кісткового метаболізму та деструкції сполучної тканини у дітей, хворих на ювенільний ревматоїдний артрит. Отримані дані можуть бути використані в клініці для вдосконалення діагностики на ранніх етапах порушень мінерального обміну.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ювенільний ревматоїдний артрит, кальцій, фосфор, лужна фосфатаза, оксипролін, румалонові антитіла.

ВСТУП. Остеопороз (ОП) – найбільш розповсюджене метаболічне захворювання скелета, що характеризується низькою кістковою масою та порушенням мікроархітектури кісткової тканини, які призводять до підвищеної крихкості кісток та збільшення ризику переломів [5]. На сьогодні актуальними є питання поширення ОП на тлі соматичної патології, з чим стикаються лікарі терапевтичного профілю. Однак ще більше занепокоєння викликає той факт, що ОП зустрічається і в педіатричній практиці.

При ювенільному ревматоїдному артриті (ЮРА), в основі розвитку якого лежить запальний процес, внаслідок нагромадження цитокінів (інтерлейкін-1, інтерлейкін-6, туморнекротизуючий фактор) значно підвищується кісткова резорбція, що може призводити, залежно від активності запального процесу, до розвитку різних ступенів остеопенії та ОП [1]. Тому багато досліджень науковців присвячені пошуку більш специфічних лабораторних методів діагностики, які дозволять виявити групи ризику з виникнення остеопенії в дітей та попередити ОП у дорослого працездатного населення.

Для оцінки стану обміну речовин в кістковій тканині (КТ) досить широко застосовується рентгенівська денситометрія, однак вона дозволяє оцінити лише загальний стан кісткової маси з точки зору структури, динамічні ж зміни метаболізму КТ не фіксує [4]. Тому очевидним є те, що поряд із рентгенівською денситометрією для оцінки функціо-

нального стану КТ доцільно використовувати біохімічні методи діагностики.

Методи оцінки функціонального стану КТ ґрунтуються на характеристиці кальцієво-фосфорного обміну, вивченні біохімічних маркерів кісткового метаболізму та деструкції сполучної тканини. До маркерів резорбції КТ відносять фермент тартратрезистентну кислоту фосфатазу та продукти деградації КТ: кальцій, гідроксипролін, піридинові поперечні зв'язки та телопептиди [6]. Активність маркерів відображає швидкість кісткового метаболізму і визначає швидкість втрат кісткової маси [3].

На нашу думку, доцільно проаналізувати зміни біохімічних маркерів і показників кальцієво-фосфорного обміну в процесі формування остеопенічних змін у дітей, хворих на ЮРА, тому що знання патогенетичних механізмів і пов'язаних з ними метаболічних порушень дозволить на більш ранніх стадіях діагностувати ОП.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Під спостереженням перебувало 48 дітей, хворих на ЮРА, віком від 7 до 16 років без тяжкої супутньої патології, що могла б спричинити зміни в КТ.

Для обстеження дітей використані загальноприйнятні в педіатрії методи: анамнестичні, загальноклінічні, в тому числі больовий, суглобовий, запальний індекс за Річчі, об'єм рухів у суглобах для оцінки стану дитини і перебігу ЮРА, а також загальнолабораторні та біохімічні для оцінки активності запального процесу. Метаболізм сполучної тканини визначали за активністю оксипроліну (В.В. Меншиков, 1987) та румалончутливих антитіл (РмАт) (Е.В. Бе-

ненсон і співавт., 1992). Концентрацію кальцію, фосфору і активність лужної фосфатази в сироватці крові визначали за допомогою наборів фірми "Lachema" (Чехія), стан мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ) – із застосуванням рентгенівського абсорбціометра фірми "Lunar - ДРХ" (США).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. За даними денситометрії з використанням стандартного відхилення z-критерію, у 16 (33,4 %) дітей, хворих на ЮРА, МЩКТ була в межах норми, у 32

(66,6 %) відмічалось її зниження. При цьому остеопенію I ступеня діагностовано у 9 (28,2 %), II ступеня – у 8 (25,0 %), III ступеня – у 6 (18,7 %), ОП – у 9 (28,1 %) дітей. При аналізі показників кальцієво-фосфорного обміну виявлено, що у більшості хворих на ЮРА достовірно реєструється гіпокальціємія. Останнє свідчить про виснаження кальційрегулюючих гормонів. Гіпокальціємія, у свою чергу, створює негативне тло для реалізації порушень кісткового ремоделювання з переважанням резорбтивних процесів над утворенням кістки [2].

Таблиця 1 – Взаємозв'язок між МЩКТ та кальцієво-фосфорним обміном

МЩКТ	Рівень Са, ммоль/л	Рівень Р, ммоль/л	ЛФ, ммоль/л
Без змін	2,54±0,37*	0,94±0,07*	4,6±0,42*
Остеопенія	2,62±0,43*	0,97±0,10*	6,8±0,51*
Остеопороз	1,93±0,03*	0,85±0,16*	10,7±0,20*
Норма	2,19±0,07	0,92±0,04	4,7±0,31

Примітка. Тут і в наступній таблиці: * – різниця між показниками достовірна (p<0,05).

Відзначено прямий кореляційний зв'язок між показниками активності ревматоїдного запалення, гострофазовими показниками і концентрацією кальцію в сироватці крові. Водночас концентрація кальцію в сироватці крові не корелює з кількістю уражених суглобів і функціональним індексом. Стосовно обміну неорганічного фосфору, то при наростанні симптомів активності запалення відбувається зниження його концентрації в крові. Зменшення концентрації кальцію і неорганічного фос-

фору з паралельним збільшенням їх секреції із сечею та кореляція цих змін з активністю ревматоїдного запалення свідчать про можливі гормональні впливи на їх гомеостаз і, безперечно, негативний вплив власне ревматоїдного процесу.

Активність лужної фосфатази як показника остеобластичної активності суттєво зростає як при остеопенії, так і при остеопорозі, проте значно більше при остеопорозі (майже у 2,3 раза проти норми).

Таблиця 2 – Зв'язок показників метаболізму сполучної тканини і рівня МЩКТ

МЩКТ	Рівень оксипроліну в крові	Румалончутливі антитіла
Без змін	24,7±0,32 *	17,53±0,22 *
Остеопенія I	30,0±1,27 *	20,11±0,71*
Остеопенія II	49,7±1,11*	27,92±1,01*
Остеопенія III	60,91±1,10*	41,31±0,97*
Остеопороз	63,78±1,21 *	50,81±1,03*
Норма	23,6±0,49	16,47±0,30

Вільний оксипролін як маркер кісткової резорбції у дітей з нормальною МЩКТ практично не змінювався ((24,7±0,32) мкмоль/л), порівняно з дітьми контрольної групи і пацієнтів з остеопатією його рівень достовірно підвищувався. В процесі демінералізації кісток вміст оксипроліну достовірно збільшувався при всіх ступенях остеопенії та ОП порівняно з його вмістом у здорових дітей, а також хворих на ЮРА з нормальною МЩКТ. При цьому в дітей з ОП оксипролін досягав максимальних значень (63,78±1,21), збільшуючись у 2,7 раза проти норми, і достовірно відрізнявся від аналогічного показника у хворих з остеопенією I–II ступенів (p<0,05).

Таку ж тенденцію спостерігали з боку румалончутливих антитіл, які є маркером пору-

шення структури остеїнових волокон кістки. Так, їх вміст зростає при всіх ступенях остеопенії, проте максимального значення досягав при ОП ((50,81±0,3) проти норми (16,47±0,30) %), що є більше ніж у 3 рази.

Підвищені рівні оксипроліну і РмАт можуть свідчити про активований обмін сполучної тканини. Разом із тим, кореляцію даних показників із МЩКТ, на нашу думку, можна пояснити тісним зв'язком між механізмами розвитку запального процесу й ОП.

На окрему увагу заслуговують дані, отримані при порівнюванні обміну сполучнотканинних структур при суглобовій і вісцеральній формах ЮРА. Вісцеральна форма ЮРА перебігає з ураженням багатьох суглобів і внутрішніх органів з переважно високою ак-

тивністю запалення, тому слід було очікувати при цій формі глибших змін в обміні сполучнотканинних структур, ніж при суглобовій. Однак при дослідженні даних показників за двох форм ЮРА їх рівні незначно відрізняються, що свідчить про дезорганізацію обміну сполучнотканинних структур.

ВИСНОВКИ. 1. При ревматоїдному артриті у дітей в патогенезі ОП важливе значення мають порушення кальцієво-фосфорного обміну

та порушення кісткового метаболізму з дезорганізацією сполучної тканини.

2. Визначення маркерів кісткового метаболізму та деструкції сполучної тканини можуть бути інформативними тестами для ранньої діагностики остеопенії у дітей, хворих на ЮРА. Останнє дає унікальну можливість запобігти прогресуванню порушень мінерального обміну та усунути наявні порушення в темпах накопичення кісткової маси в дитинстві.

ЛІТЕРАТУРА

1. Головач І.Ю. Деякі механізми формування ревматоїд-асоційованої остеопенії // Укр. мед. альманах. – 2001. – 4, № 2. – С. 43-44.

2. Головач І.Ю. Моніторинг стану кальцієвого обміну при застосуванні комплексного препарату кальцію і вітаміну Д у хворих на ревматоїдний артрит // Укр. терапевт. журн. – 2005. – № 2. – С. 60-63.

3. Клубова А.Ф., Гавриленко Т.И., Дейкун А.И. Апоптоз и остеопороз // Укр. ревматол. журн. – 2000. – № 1. – С. 19-22.

4. Минченко Б.И., Беневоленский Д.С., Тишина Р.С. Биохимические показатели метаболічес-

ких нарушений в костной ткани. Часть 1. Резорбция кости // Клини. лаб. диагностика. – 1999. – № 1. – С. 8-15.

5. Поворознюк В.В. Остеопороз в Україні: медико-соціальні проблеми та шляхи їх вирішення // Остеопороз: епідеміологія, клініка, діагностика, профілактика та лікування: Матеріали І Укр. наук.-практ. конф. (Київ, грудень 1995 р.). – Київ: Ін-т геронтології АМН України, 1995. – С. 3-6.

6. Поворознюк В.В. Остеопороз та біохімічні маркери метаболізму кісткової тканини // Лаб. діагностика. – 2002. – № 1. – С. 53-61.

ЗНАЧЕНИЕ МАРКЕРОВ КОСТНОГО МЕТАБОЛИЗМА И ДЕСТРУКЦИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ ЮВЕНИЛЬНЫМ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

О.Е. Федорцов, Н.М. Ярема

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

Резюме

В работе приведены данные об изменении маркеров костного метаболизма и деструкции соединительной ткани у детей, больных ювенильным ревматоидным артритом. Полученные данные могут быть использованы в клинике для повышения диагностики на ранних этапах нарушений минерального обмена.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ювенильный ревматоидный артрит, кальций, фосфор, щелочная фосфатаза, оксипролин, румалоновые антитела.

IMPORTANCE OF BONE METABOLISM MARKERS AND CONNECTIVE TISSUE DESTRUCTION IN CHILDREN SUFFERING FROM JUVENILE RHEUMATOID ARTHRITIS

O.Ye. Fedortsiv, N.M. Yarema

TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY BY I.YA. HORBACHEVSKY

Summary

The changes of bone metabolism markers and the connective tissue destruction in children suffering from juvenile rheumatoid arthritis have been presented in the article. The obtained data are supposed to be used in the clinical practice for the improvement of diagnosis at the early stages of mineral metabolism disorders.

KEY WORDS: juvenile rheumatoid arthritis, calcium, phosphorus, alkaline phosphatase, oxypoline, rumalon antibodies.

Отримано 17.09.2008 р.

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

ВИВЧЕННЯ ВІКОВИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ВМІСТУ ТЕСТОСТЕРОНУ ТА ПРОГЕСТЕРОНУ В ПЛАЗМІ КРОВІ ЩУРІВ ПРИ НЕПОВНІЙ ГЛОБАЛЬНІЙ ІШЕМІЇ МОЗКУ

В.А. Дорошко, В.І. Швець, К.В. Левандовська
БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ЧЕРНІВЦІ

Досліджено вплив неповної глобальної ішемії мозку на вміст тестостерону та прогестерону в плазмі крові щурів різних вікових груп. Встановлено, що в тримісячних тварин постішемичне зменшення вмісту обох гормонів відбувається паралельно. У щурів трижневого віку виражене постішемичне зниження рівня тестостерону спостерігається на тлі майже незмінного вмісту прогестерону, що свідчить про порушення конверсії останнього в статеві гормони.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: неповна глобальна ішемія мозку, тестостерон, прогестерон, щури-самці.

ВСТУП. Вивченню ролі статевих гормонів у перебігу ішемічно-реперфузійних пошкоджень присвячена значна кількість наукових досліджень, однак єдиного погляду на механізм їх дії не існує [3, 4]. Статеві стероїди впливають на стан судин через активність ренін-ангіотензин-альдостеронової системи та шляхом зміни реактивності α -адренорецепторів судин [1]. Відомо, що статеві стероїди можуть підвищувати ризик розвитку судинної патології, впливаючи на синтез та секрецію ендогенних біологічно активних сполук, здатних посилювати ішемічні впливи [5]. Захисні й пошкоджувальні механізми впливу статевих стероїдів потребують детального подальшого вивчення.

Дослідження механізмів участі статевих стероїдів у патогенезі ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку розпочато з вивчення реакції гормонів на неповну глобальну ішемію мозку.

Метою дослідження було з'ясувати вікові особливості відстроченого впливу двосторонньої каротидної ішемії на вміст тестостерону та прогестерону в плазмі крові щурів-самців.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти виконано на щурах віком 20 днів і 3 міс. Контрольні групи представлені тваринами обох вікових груп, котрим проводили розтин шкіри

та виділення сонних артерій без їх перетиснення. У щурів першої експериментальної групи моделювали неповну глобальну ішемію мозку шляхом 20-хвилинного кліпсування обох загальних сонних артерій [2]. Другу експериментальну групу склали тварини, яким аналогічне втручання виконували через два тижні після кастрації. Реперфузійний період тривав 5 діб. На шосту добу здійснювали евтаназію тварин під ефірним наркозом. Прогестерон та тестостерон визначали в плазмі крові радіоімунним методом наборами ИБОХ (Білорусь) з дотриманням наданих фірмами інструкцій.

Статистичну обробку проводили за t-критерієм Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Отримані результати представлено на рисунках 1, 2. Порівняння конститутивного вмісту досліджуваних гормонів у тварин обраних вікових груп свідчить про відсутність суттєвих відмінностей. Рівень прогестерону в щурів молодшої вікової групи був дещо нижчим. Ішемічно-реперфузійний вплив спричинив суттєве зменшення рівнів обох гормонів у тварин обох вікових груп. Однак кількісний аналіз отриманих змін показав, що реакція прогестерону має виражені вікові відмінності – при фактично однаковому конститутивному вмісті гормону індуковане ішемією зниження у трижневих тварин було значно меншим, ніж у тримісячних. Це

© В.А. Дорошко, В.І. Швець, К.В. Левандовська, 2008.

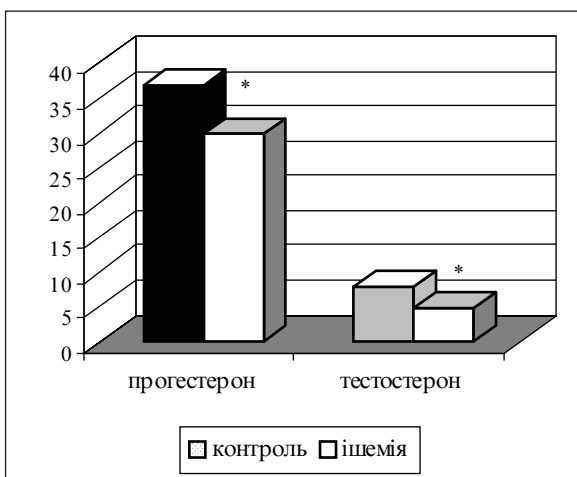


Рис. 1. Вплив неповної глобальної ішемії мозку на рівень прогестерону (нмоль/л) та тестостерону (нмоль/л) в плазмі крові тритижневих щурів.

Примітка. Тут і на наступному рисунку: * – вірогідність змін порівняно з контролем.

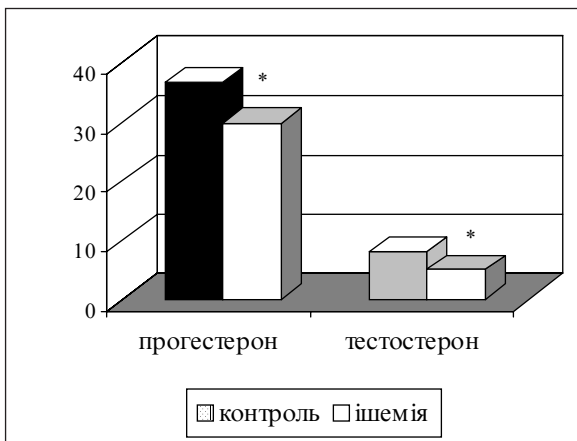


Рис. 2. Вплив неповної глобальної ішемії мозку на рівень прогестерону (нмоль/л) та тестостерону (нмоль/л) в плазмі крові тримісячних щурів.

може свідчити про те, що отримане постішемічне зниження рівня тестостерону в щурів різного віку має неоднакову природу. Врахову-

ючи те, що прогестерон є біохімічним попередником тестостерону та кортикостероїдів, одночасне зменшення вмісту обох гормонів у тримісячних тварин вказує на виснаження джерел біосинтезу гормонів, можливо, за рахунок більш активного утворення кортикостероїдів, яке має місце за умов дії несприятливих чинників.

У тварин молодшої вікової групи зниження рівня тестостерону відбувається на тлі незначного зменшення рівня прогестерону. Це може свідчити про вибіркове порушення біосинтезу статевих гормонів, імовірно, за рахунок порушення за даних умов активності відповідних ферментів. Ще одну причину таких змін можна вбачати в меншій реактивності системи стрес-реалізації в даному віці й, відповідно, менш вираженій активації біосинтезу кортикостероїдів або в різній динаміці перебігу патологічного процесу. Імовірно, саме з цим пов'язаний більш сприятливий перебіг ішемії у тварин молодшої вікової групи, адже відомо, що прогестерон та його метаболіти володіють нейропротекторним ефектом, зокрема викликають зменшення некротичних змін нейронів полів CA1 і CA3 гіпокампа [4].

Отримані нами дані підтверджують літературні щодо зниження рівня статевих гормонів при дії несприятливих чинників [6], однак при цьому вказують на залежні від віку відмінності в механізмах розвитку даного явища.

ВИСНОВКИ. 1. Концентрація прогестерону та тестостерону в плазмі крові щурів обох вікових груп знижується при неповній глобальній ішемії мозку.

2. При порівнюванні концентрації обох гормонів вона знижується у тримісячних тварин, а у щурів тритижневого віку виражене зменшення рівня тестостерону відбувається на тлі майже незмінного вмісту прогестерону.

ЛІТЕРАТУРА

1. Метелица В.И. Блокаторы рецепторов ангиотензина II // Тер. архив. – 1996. – **68**, № 8. – С. 64-67.
2. Скибо Г.Г., Коваленко Т.М., Осадченко І.О., Гірник О.В. Залежність ступеня пошкодження нейронів гіпокампу від тривалості ішемії мозку та постішемічного періоду // Запороз. мед. журн. – 2002. – **13**, № 3. – С. 21-22.
3. Crofton J.T. Gonadal hormones modulate deoxycorticosterone-salt hypertension in male and female rats // Hypertension. – 1997. – № 1. – P. 494-499.

4. Frye C.A. The neurosteroid $3\alpha,5\alpha$ -THP has antiseizure and possible neuroprotective effects in an animal model of epilepsy // Brain Res. – 1995. – **3**, № 1-2. – P. 113-120.

5. Harukuni J. Deleterious effect of β -estradiol in a rat model of transient forebrain ischemia // Elsevier Netherlands. – 2001. – **1**. – P. 137-142.

6. Kaasik A., Kalda A., Jaako K., Zhar B. Dehydroepiandrosterone sulphate prevents oxygen-glucose deprivation-induced injury in cerebellar granule cell culture // Pergamon Press. – 2001. – **2**. – P. 427-432.

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗРАСТНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ СОДЕРЖАНИЯ ТЕСТОСТЕРОНА И ПРОГЕСТЕРОНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ КРЫС ПРИ НЕПОЛНОЙ ГЛОБАЛЬНОЙ ИШЕМИИ МОЗГА

В.А. Дорошко, В.И. Швец, К.В. Левандовская
БУКОВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ЧЕРНОВЦЫ

Резюме

Исследовано влияние неполной глобальной ишемии мозга на содержание тестостерона и прогестерона в плазме крови крыс различных возрастных групп. Установлено, что у трехмесячных животных постischemическое уменьшение содержания обоих гормонов происходит параллельно. У крыс трехнедельного возраста выраженное постischemическое снижение уровня тестостерона наблюдается на фоне почти неизменного содержания прогестерона, что свидетельствует о нарушении конверсии последнего в половые гормоны.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: неполная глобальная ишемия мозга, тестостерон, прогестерон, крысы-самцы.

EFFECT OF INCOMPLETE GLOBAL BRAIN ISCHEMIA THE BLOOD PLASMA TESTOSTERONE AND PROGESTERONE CONTENT IN RATS

V.A. Doroshko, V.I. Shvets, K.V. Levandovska
BUCOVYNIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY, CHERNIVTSI

Summary

The effect of incomplete global ischemia of the brain on the blood plasma testosterone and progesterone content in males of different age groups has been investigated. It has been established that a postischemic decrease of the content of both hormones proceeds simultaneously in three month old animals. Three-week old animals are characterized by a postischemic decrease of the testosterone level, taking place against a background of an almost unchanged content of progesterone. This fact proves the conversion disturbance of the latter into sex hormones.

KEY WORDS: cerebral incomplete global ischemia, testosterone, progesterone, ratmales.

Отримано 28.10.2008 р.

Адреса для листування: В.А. Дорошко, вул. Трояндова (Клари Цеткін), 6, кв. 2, Чернівці, 58000, Україна.