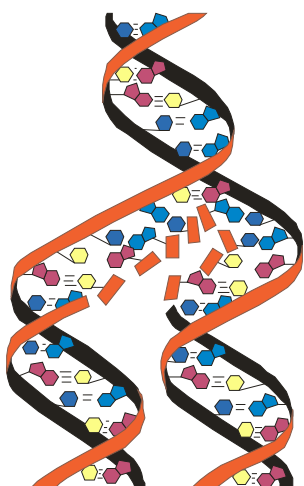


Всеукраїнська громадська наукова організація "Українська академія наук"  
ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет  
імені І.Я. Горбачевського"

# МЕДИЧНА ХІМІЯ

**НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ**



*All-Ukrainian Public Scientific Organization  
"Ukrainian Academy of Sciences"  
SHEI "I.Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University"*

# MEDICAL CHEMISTRY

**SCIENTIFIC JOURNAL**

**2(43) <sup>TOM 12</sup>  
2010**

- ❖ *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*

# МЕДИЧН ХІМІЯ

Науковий журнал

## MEDICAL CHEMISTRY

Scientific Journal

ISSN 1681-2557

Виходить щоквартально  
Published 4 times per year

Заснований у грудні 1999 року  
Founded in December 1999

Свідоцтво про державну реєстрацію: серія KB № 3647 від 26.01.1999 р.  
Certificate of state registration: series KB № 3647 from 26.01.1999

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.).

Рекомендовано до видання вченою радою ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського" (протокол № 20 від 10 червня 2010 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", 2010  
© Scientific Journal "Medical Chemistry", 2010

## Зміст

### ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

<i>Припула Т.П., Пупишева О.В., Мохорт М.А.</i> (Київ) СПАЗМОЛІТИЧНА АКТИВНІСТЬ (ДИ)ГІДРОХЛОРИДІВ ТА ЧЕТВЕРТИННИХ СОЛЕЙ ДЕЯКИХ АДАМАНТИЛВІСНИХ ПОХІДНИХ 1-АЛКОКСИ-3-ДІАЛКІЛАМІНО-2-ПРОПАНОЛУ	5
<i>Воробець Д.З.</i> (Львів) ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ВИВЧЕННЯ АТФ-ГІДРОЛАЗНИХ СИСТЕМ ПРИ ЕРЕКТИЛЬНІЙ ДИСФУНКЦІЇ	9
<i>Шестеренко Є.А., Севастьянов О.В., Романовська І.І., Топтиков В.А., Брусилівський Ю.Е.</i> (Одеса) ДОСЛІДЖЕННЯ БІЛКОВО-ФРАКЦІЙНОГО СКЛАДУ ПРЕПАРАТУ КАРБОКСИЛЕСТЕРАЗ ІЗ МІКРОСОМАЛЬНОЇ ФРАКЦІЇ ПЕЧІНКИ СВИНІ	14
<i>Стеченко О.В.</i> (Київ) АНТИМІКРОБНІ ВЛАСТИВОСТІ ПОВЕРХНЕВОГО КОМПЛЕКСУ ПОЛІ(3-АМІНОПРОПІЛ)СИЛОКСАНУ З ІОНАМИ МІДІ (II)	19
<i>Волкова Ю.В.</i> (Харків) АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ ПЕРШОЇ ЛІНІЇ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В МОЗКУ ЩУРІВ ПУБЕРТАЛЬНОГО ВІКУ В УМОВАХ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ	23
<i>Петруша Ю.Ю., Омельянчик Л.О.</i> (Запоріжжя) КОМП'ЮТЕРНИЙ ПРОГНОЗ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ЯК ПЕРШИЙ ЕТАП СИНТЕЗУ S-ГЕТЕРИЛЗАМІЩЕНИХ L-ЦИСТЕЇНУ	27
<i>Ядловський О.Є., Бухтіарова Т.А.</i> (Київ) ПОШУК ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ТА АНАЛГЕЗИВНИХ ЗАСОБІВ СЕРЕД ПОХІДНИХ ДІАРИЛІМІДАЗОЛІЄВИХ СОЛЕЙ	36
<i>Крупська Т.В., Володькіна А.В., Геращенко І.І., Гладких Ю.В.</i> (Київ, Запоріжжя) ВИВЧЕННЯ БІОСТИМУЛЮВАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ПРЕПАРАТІВ ПЛАЦЕНТИ ЗА ДОПОМОГОЮ ДРІЖДЖОВОГО ТЕСТУ	40
<i>Заїчко Н.В., [Пентиук О.О.], Мельник А.В., Штатко О.І.</i> (Вінниця) ВПЛИВ НАВАНТАЖЕННЯ ЦИСТЕЇНОМ НА ФЕРМЕНТНІ СИСТЕМИ МЕТАБОЛІЗМУ СІРКОВІСНИХ АМІНОКИСЛОТ В ПЕЧІНЦІ, НИРКАХ ТА МОЗКУ ЩУРІВ	43
<i>Калитовська М.Б., Галькевич І.Й.</i> (Львів) ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ПЛІОМБУМУ В КРОВІ З ВИКОРИСТАННЯМ КОНЦЕНТРУВАННЯ НА МОДИФІКОВАНОМУ КЛИНОПТИЛОЛІТІ	50
<i>Леонтєва Ф.С., Туляков В.О.</i> (Харків) ВИКОРИСТАННЯ ПРИНЦИПІВ ДОКАЗОВОЇ МЕДИЦИНИ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ ОСТЕОАРТРОЗУ	55
<i>Ведерникова І.О.</i> (Харків) ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДУ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ ДЛЯ АНАЛІЗУ МАГНІТНОГО ЛІКАРСЬКОГО ПРЕПАРАТУ У ФОРМІ МАЗІ З МАГНЕТИТОМ	61
<i>Гапоненко В.П., Левашова О.Л., Сербін А.Г.</i> (Харків) АНАЛІЗ ЛІПОФІЛЬНИХ ФРАКЦІЙ НАДЗЕМНОЇ ЧАСТИНИ ДЕЯКИХ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ HYPERICUM L.	65
<i>Українець І.В., Моспанова О.В., Гриневиц Л.О., Колісник О.В.</i> (Харків, Рубіжне) КРИСТАЛІЧНА БУДОВА ПІРИМІДИН-2-ІЛАМІДІВ 1-Р-4-ГІДРОКСИ-2-ОКСО- 1,2-ДИГІДРОХІНОЛІН-3-КАРБОНОВИХ КИСЛОТ ЯК ФАКТОР, ЩО ВИЗНАЧАЄ ЇХ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНУ АКТИВНІСТЬ	68

## Contents

### ORIGINAL INVESTIGATIONS

<i>Pritula T.P., Pupysheva O.V., Mokhort M.A.</i> (Kyiv) SPASMOLYTIC ACTION OF (DI)HYDROCHLORIDES AND QUATERNARY SALTS OF ADAMANTYL – CONTAINING DERIVATIVES OF 1-ALKOXY-3- DIALKYLAMINO-2-PROPANOL	5
<i>Vorobets D.Z.</i> (Lviv) THE DIAGNOSTIC IMPORTANCE OF ATP-HYDROLYSIS SYSTEM STUDYING AT ERECTILE DYSFUNCTION	9
<i>Shesterenko Ye.A., Sevastyanov O.V., Romanovska I.I., Topticov V.A., Brusylivsky Yu.E.</i> (Odessa) INVESTIGATION OF PIG LIVER MICROSOMAL CARBOXYL ESTERASES PROTEIN-FRACTIONAL COMPOSITION	14
<i>Stechenko O.V.</i> (Kyiv) ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF COMPLEX Cu (II) LINKED WITH THE SURFACE OF POLY(3-AMINEPROPIL)SYLOXANE	19
<i>Volkova Yu.V.</i> (Kharkiv) THE ACTIVITY OF FIRST LINE ANTIOXIDANT DEFENCE ENZYMES IN THE BRAIN OF RATS AT PUBERTAL AGE UNDER CONDITIONS OF IMMOBILIZATION STRESS	23
<i>Petrusha Yu.Yu., Omelyanchik L.O.</i> (Zaporizhia) THE COMPUTER FORECAST OF BIOLOGICAL ACTIVITY AS THE FIRST STAGE OF SYNTHESIS OF S-GETERYLSUBSTITUTES OF L-CYSTEINYU	27
<i>Yadlovsky O.Ye., Bukhtiarova T.A.</i> (Kyiv) SEARCH OF ANTIINFLAMMATORY AND ANALGESIC AGENTS AMONG DERIVATIVES SALTS OF DYARILIMIDAZOL	36
<i>Krupska T.V., Volod'kina A.V., Gerashchenko I.I., Hladkikh Yu.V.</i> (Kyiv, Zaporizhia) STUDY OF BIOSTIMULATORY EFFECT OF PLACENTA PREPARATIONS BY YEAST GROWTH TEST	40
<i>Zaichko N.V., [Pentiuk O.O.], Melnik A.V., Shatko O.I.</i> (Vinnytsia) INFLUENCE OF CYSTEINE LOADING ON ENZYME SYSTEMS OF SULFUR AMINOACIDS METABOLISM IN RAT LIVER, KIDNEY AND BRAIN	43
<i>Kalytovska M.B., Halkevych I.J.</i> (Lviv) DETERMINATION OF LEAD (II) IN BLOOD BY CONCENTRATION ON MODIFIED KLINOPTILOLIT	50
<i>Leontjeva F.S., Tuljakov V.O.</i> (Kharkiv) USE OF PRINCIPLES OF EVIDENTIAL MEDICINE FOR LABORATORY DIAGNOSTICS OF OSTEOARTHRISIS	55
<i>Vedernikova I.O.</i> (Kharkiv) APPLICATION OF HIGHLY- EFFECTIVE LIQUID CHROMATOGRAPHY IN PERFORMING ANALYSIS OF MAGNETIC MEAN IN FORM OF OINTMENT WITH MAGNETITE	61
<i>Haponenko V.P., Levashova O.L., Serbin A.H.</i> (Kharkiv) ANALYSIS OF LYPOPHILIC FRACTION OVERGROUND PART FROM SOME SPECIES OF HYPERICUM L. GENUS	65
<i>Ukrainets I.V., Mospanova O.V., Hrinevich L.O., Kolisnyk O.V.</i> (Kharkiv, Rubizhne) THE CRYSTALLINE STRUCTURE OF 1-R-4-HYDROXY-2-OXO-1,2- DIHYDROQUINOLIN-3-CARBOXYLIC ACID PYRIMIDINE-2-YLAMIDES AS THE FACTOR THAT DETERMINES THEIR ANTITUBERCULAR ACTIVITY	68

<i>Владимирова І.М., Філіпович Л.І. (Харків)</i> ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ЙОДУ В НАДЗЕМНІЙ ЧАСТИНІ НЕТРЕБИ ЗВИЧАЙНОЇ	73	<i>Vladimirova I.M., Filippovich L.I. (Kharkiv)</i> VOLITAMPEROMETRIC DETERMINATION OF CONTENT OF IODINE IN ELEVATED PART OF COCKLEBUR
<i>Корда М.М., Підручна С.Р., Кулянда О.О., Кулянда І.С., Острівка О.І., Захарчук У.М., Копитчак І.Р. (Тернопіль)</i> ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АКТИВНОСТІ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ НА ТЛІ КОМБІНОВАНОЇ ТРАВМИ	77	<i>Korda M.M., Pidruchna S.R., Kulyanda O.O., Kulyanda I.S., Ostrivka O.I., Zakharchuk U.M., Kopytchak I.R. (Ternopil)</i> PECULARITIES OF LIPID PEROXIDATION AND ACTIVITY OF ANTIOXYDANT ENZYMES IN CASE OF COMBINE TRAUMA
<i>Ісаєв С.Г., Сулейман М.М., Свєчнікова О.М., Яременко В.Д. (Харків)</i> КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ МЕФЕНАМІНОВОЇ КИСЛОТИ ТА НОВИХ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ 3-ОКСАМОЇЛЗАМІЩЕНИХ N-ФЕНІЛАНТРАНІЛОВИХ КИСЛОТ МЕТОДОМ ДВОФАЗНОГО ТИТРУВАННЯ	82	<i>Isaev S.H., Suleyman M.M., Sviechnicova O.M., Yaremenko V.D. (Kharkiv)</i> THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF MEFENAMINIC ACID AND OF NEW BIOLOGICALLY ACTIVE OF 3-OXAMOILSUBSTITUTED OF N-PHENYLANTHRANYLIC ACIDS BY THE BIPHASE TITRATION METHOD
<i>Руденко Я.О., Ковальова В.А., Моргаєнко О.О., Вишневецька А.Г., Остапченко Л.І. (Київ)</i> ЛІПІДНО- БІЛКОВИЙ СКЛАД КЛІТИННИХ ФРАКЦІЙ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ВИРАЗКОУТВОРЕННЯ	87	<i>Rudenko Ya.O., Kovalyova V.A., Morgaienko O.O., Vyshnevskaya A.H., Ostapchenko L.I. (Kyiv)</i> LIPID- PROTEIN COMPOSITION OF DIFFERENT FRACTIONS OF RAT GASTRIC MUCOSAL CELLS UNDER EXPERIMENTAL ULCERATION
<i>Євтїфєєва О.А., Савченко Л.П., Георгіянц В.А. (Харків)</i> ТЕОРЕТИЧНО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ СПОСОБУ ДОЗУВАННЯ ПОРОШКІВ ПРИ ЇХ ВИГОТОВЛЕННІ В УМОВАХ АПТЕКИ	92	<i>Yevtifeeva O.A., Savchenko L.P., Heorgiyants V.A. (Kharkiv)</i> THEORETICAL AND EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF THE CHOICE OF THE WAY OF COMPOUNDING OF POWDERS IN THE CONDITIONS OF THE PHARMACY
<i>Остапенко А.О. (Запоріжжя)</i> ГІПОХОЛЕСТЕРИНЕМІЧНА АКТИВНІСТЬ 8-R-7-(2-ГІДРОКСИ-3- ІЗОПРОПОКСИ)ПРОПІЛ-3-МЕТИЛКСАНТИНІВ	98	<i>Ostapenko A.O. (Zaporizhia)</i> THE EXPERIMENTAL STUDY OF THE HYPOCHOLESTEROLEMIC ACTIVITY OF 8-R- 7-(2-HYDROXY-3-IZOPROPOXY) PROPIL-3- METHYLXANTINE
<i>Криворучко О.В. (Харків)</i> ХРОМАТО-МАС- СПЕКТРОМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ ЗАПАШНИХ РЕЧОВИН ЛИСТЯ SORBUS AUCUPARIA, SORBUS ARIA TA SORBUS TORMINALIS	102	<i>Krivoruchko O.V. (Kharkiv)</i> CHROMATO-MASS- SPECTROMETRY ANALYSIS FRAGRANT SUBSTANCES SORBUS AUCUPARIA, SORBUS ARIA AND SORBUS TORMINALIS LEAVS
<i>Самура Б.А., Ніколаєв В.О., Сенюк І.В., Цапко Є.О. (Харків)</i> КОМП'ЮТЕРНИЙ ПРОГНОЗ СПЕКТРА БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ ІМІДІВ- ТА АМІДІВ(±)КАМФОРНОЇ КИСЛОТИ	107	<i>Samura B.A., Nikolaev V.O., Senuk I.V., Tsapko Ye.O. (Kharkiv)</i> COMPUTER PROGNOSIS OF POSSIBLE TYPES OF BIOLOGICAL ACTIVITY ON PROGRAM PASS DERIVATES OF IMIDES AND AMIDES OF (±)CAMPHORIC ACID
<i>Яворська С.І. (Тернопіль)</i> ЗМІНА ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ТА УЛЬТРАСТРУКТУРИ НИРОК ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ КРІОГЕННОМУ УРАЖЕННІ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ	111	<i>Yavorska S.I. (Ternopil)</i> CHANGES OF THE FUNCTIONAL STATE AND ULTRAMICROSTRUCTURE OF KIDNEYS AT THE EXPERIMENTAL CRIOGENIC DAMAGE OF PANCREAS
<i>Звягінцева Т.В., Сирова Г.О., Абрамова Л.П., Єрмоленко Т.І. (Харків)</i> АНТИЛІПОКСИГЕНАЗНИЙ КОМПОНЕНТ У МЕХАНІЗМІ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ ДІЇ МІГРЕПІНУ	114	<i>Zvjagintseva T.V., Syrova H.O., Abramova L.P., Yermolenko T.I. (Kharkiv)</i> ANTILIPOXYGENASE COMPONENT IN THE MECHANISM OF ANTI-INFLAMMATORY ACTION OF MIGREPIN
<i>Шанайда М.І., Пасемків Ю.А., Корабльова О.А. (Тернопіль, Київ)</i> АНАЛІЗ КОМПОНЕНТНОГО СКЛАДУ ЕФІРНИХ ОЛІЙ ДВОХ ФОРМ DRACOCERPHALUM MOLDAVICA L.	118	<i>Shanayda M.I., Pasemkiv Yu.A., Korablova O.A. (Ternopil, Kyiv)</i> ANALYSIS OF THE ESSENTIAL OIL COMPOSITION OF TWO FORMS DRACOCERPHALUM MOLDAVICA L.
<i>Данілова І.А., Малий В.В. (Харків)</i> ЕЛЕМЕНТНИЙ СКЛАД ЛИСТЯ РОСЛИН РОДУ ІЛЬМ (ULMUS L.)	123	<i>Danilova I.A., Maliy V.V. (Kharkiv)</i> ELEMENTAL COMPOSITION OF ULMUS L. PLANTS LEAVES

## ОГЛЯД

## REVIEW

<i>Нечипорук В.М., Корда М.М. (Вінниця, Тернопіль)</i> СУЧАСНІ АСПЕКТИ ОБМІНУ СІРКОВІСНИХ АМІНОКИСЛОТ	126	<i>Nechiporuk V.M., Korda M.M. (Vinnytsia, Ternopil)</i> MODERN ASPECTS OF SULFUR CONTAINING AMINO ACIDS METABOLISM
---	-----	---

Т.П. Притула, О.В. Пупишева, М.А. Мохорт  
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ, КИЇВ

## СПАЗМОЛІТИЧНА АКТИВНІСТЬ (ДИ)ГІДРОХЛОРИДІВ ТА ЧЕТВЕРТИННИХ СОЛЕЙ ДЕЯКИХ АДАМАНТИЛВМІСНИХ ПОХІДНИХ 1-АЛКОКСИ-3-ДІАЛКІЛАМІНО-2-ПРОПАНОЛУ

У досліджах *in vitro* на ізольованих кільцях аорти щурів вивчено спазмолітичні властивості похідних 1-алкокси-3-діалкіламіно-2-пропанолу та методом В.Б. Прозоровського (щури) встановлено середньолетальні дози перспективних сполук.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: похідні 1-алкокси-3-діалкіламіно-2-пропанолу, судини, спазмолітики, аорта щурів, *in vitro*.

ВСТУП. Найважливішим завданням у галузі охорони здоров'я та державної політики є боротьба із захворюваннями серцево-судинної системи, смертність від яких у 3 рази вища, ніж від раку, туберкульозу, СНІДу, інфекційних захворювань, взятих разом. Позитивні результати лікування спостерігають за умов раціональної та правильно обраної стратегії терапії, яка зорієнтована на пригнічення надмірної активності ендогенних механізмів, що в нормальних умовах є регуляторними, а в патологічних – стають факторами патогенезу хвороби.

При лікуванні гострого інфаркту міокарда та пов'язаних з ним ускладнень клініцисти в останні роки віддають перевагу спазмолітичній терапії. Широко застосовувані на сьогодні блокатори кальцієвих та активатори калієвих каналів, зокрема похідні 1,4-дигідропіридину та гуанідину, разом із притаманною їм біологічною активністю проявляють себе і як спазмолітики [10]. Однак неможливість певною мірою задовольнити вимоги клініцистів, зокрема як щодо нормалізації діяльності серцево-судинної системи та інших захворювань, так і стосовно їх нешкідливості, зумовлює та робить доцільним пошук препаратів у нових хімічних рядах.

В цьому напрямку увага до похідних адамантану не безпідставна. Анагетична, проти-запальна, ноотропна, імуномодуюча, транквілізуюча, актопротекторна та утеростимулювальна активності – це не повний перелік спектра фармакологічної дії даних сполук [3, 7]. Багатьом представникам притаманні антигрибкові, антибактеріальні та протівірусні ефекти

[1, 8, 11]. Застосовують їх як потенційні антиішемічні, антигіпертензивні та протидіабетичні засоби [6, 9].

З огляду на мультифармакологічну дію вищезазначених похідних адамантану, ми із зацікавленістю поставились до пропозиції пошуку нових складових їх фармакологічного ефекту і можливості дослідження останніх як міотропних спазмолітичних засобів.

Предметом нашого дослідження були аде-мол (1-адамантилетокси-3-морфоліно-2-пропанол гідрохлорид) та його похідні, синтезовані в Інституті органічної хімії НАН України.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Скорочувальну активність судин гладеньких м'язів вивчали на сегментах грудної аорти щурів обох статей лінії Вістар (15 особин). Тварин забивали шляхом цервікальної дислокації, яка підтверджена як гуманна в декларації III Національного конгресу з біоетики з міжнародною участю (8-11 жовтня 2007 р., м. Київ). Для експерименту брали частину аорти з більшою щільністю рецепторів, розташовану ближче до розгалуження. Сегменти судин розміщували на двох сталевих гачках в робочій камері зі стандартним буферним розчином Кребса-Хенслейта (рН 7,4), температура якого була постійно на рівні (37±0,5) °С.

Розчин Кребса мав такий склад (моль/л): NaCl (133,0); KCl (4,7); MgCl<sub>2</sub> (1,05); CaCl<sub>2</sub> (2,5); NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (1,38); NaHCO<sub>3</sub> (16,3); глюкоза (7,82). Вихідне тонічне скорочення ізольованих фрагментів судин викликали гіперкалієвим (60 мМ) розчином та розчином фенілефрину (10<sup>-6</sup> М). Серед фармакологічних агентів, які відкривають повільні потенціалозалежні

кальцієві канали, що не інактивуються, адреналін, серотонін, іони калію найбільш популярні й придатні для моделювання спазму. Гіперкалієва деполяризація гладеньком'язових клітин судин, яка виникає в результаті підвищення концентрації іонів калію в питоному розчині, що омиває ізольовані смужки судин, є найбільш простою, доступною та інформативною моделлю. Вибір щодо фенілефрину, який є синтетичним замінником біогенного аміну – епінефрину, зумовлений його здатністю взаємодіяти з альфа-адренорецепторами, що збігається з явищами стимуляції симпатичних нервів і можливістю призводити до спазму судин.

Дані реєстрували за допомогою аналогово-цифрового перетворювача (WPI LabTrax 4/16, США) на персональний комп'ютер з використанням програми DataTrax2.

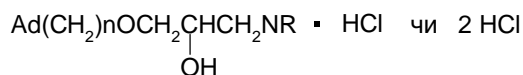
Спазмолітичну ефективність нових синтезованих сполук визначали, порівняно з класичним спазмолітиком – дротаверином, за величиною спазмолітичного ефекту.

Спектр фармакологічного застосування будь-якого нового ксенобіотика розширюється за допомогою додаткових знань, які одержують при встановленні його нешкідливості. У наших дослідженнях показник гострої токсичності – ЛД<sub>50</sub> (середньолетальна доза) дозволяв оцінити сполуку саме з позиції нешкідливості [2, 5].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У дослідгах на ізольованих кільцях грудної аорти на тлі різних констрикторів (гіперкалієвий розчин 60 мМ та розчин фенілефрину 10<sup>-6</sup> М) досліджували специфічну спазмолітичну активність нових синтезованих сполук, похідних 1-алкокси-3-діалкіламіно-2-пропанолу з адамантильними замінниками.

Підгрупа сполук від КОР-19 до КОР-22, яка наведена першою в таблиці 1, несе у своїй будові адамантильний радикал і демонструє спазмолітичну активність у межах концентрацій від 10<sup>-2</sup> до 10<sup>-5</sup> М.

Таблиця 1 – Спазмолітична активність нових похідних адамантану



Шифр сполуки	Радикал та його положення	EC <sub>50</sub> , М		ЛД <sub>50</sub> , мг/кг та довірчі межі
		KCl, 60 мМ	FE, 10 <sup>-6</sup> М	
Дротаверин		1,38*10 <sup>-5</sup>	1,38*10 <sup>-6</sup>	564,0 (389,4-743,4)
КОР-19	Діетиламін	2,57*10 <sup>-4</sup>	6,92*10 <sup>-2</sup>	
КОР-20	N-етилциклогексиламін	7,08*10 <sup>-4</sup>	*	
КОР-21	Диметиламін	5,01*10 <sup>-5</sup>	4,47*10 <sup>-5</sup>	
КОР-22	N-метилдіетиламін	3,02*10 <sup>-5</sup>	6,31*10 <sup>-5</sup>	325,0 (218,8-454,8)
КОР-11	3-Cl,5-метилфенілпіперазин	2,00*10 <sup>-4</sup>	2,69*10 <sup>-5</sup>	
КОР-12	6,7-диметокситетрагідроізохінолін	2,69*10 <sup>-5</sup>	2,69*10 <sup>-5</sup>	1290,0 (841,6-1785,6)
КОР-13	4-бензилпіперидин	2,00*10 <sup>-4</sup>	3,71*10 <sup>-6</sup>	708,0 (500,3-925,1)
КОР-14	Диметиламін	2,82*10 <sup>-5</sup>	3,98*10 <sup>-3</sup>	890,0 (559,6-1338,4)
КОР-15	Діетиламін	3,24*10 <sup>-5</sup>	4,17*10 <sup>-5</sup>	
КОР-16	N-етилциклогексил	3,24*10 <sup>-5</sup>	3,80*10 <sup>-5</sup>	
КОР-17	4-F-фенілпіперазин	7,94*10 <sup>-5</sup>	5,50*10 <sup>-4</sup>	
КОР-18	2-F-фенілпіперазин	8,32*10 <sup>-4</sup>	6,46*10 <sup>-4</sup>	

Примітка. \* – концентрації, що перевищують 10<sup>-1</sup> М; FE – фенілефрин.

У згаданій підгрупі середноефективна концентрація сполук з диметиламіновим та метилциклогексиламіновим радикалами, відповідно КОР-21 і КОР-22 (EC<sub>50</sub>=5,01\*10<sup>-5</sup> М

та EC<sub>50</sub>=3,02\*10<sup>-5</sup> М), дещо наближала їх за спазмолітичною активністю до дротаверину за умов констрикції судин гіперкалієвим розчином у концентрації 60 мМ, але вплив феніл-

ефрину (концентрація  $10^{-6}$  М) зазначені сполуки не змогли подолати на рівні препарату порівняння. Вважаємо за необхідне зауважити, що введення в адамантильний радикал фрагмента диметиламіну та циклогексилу (аліциклічний та гетероциклічний радикали) не призвело до виникнення домінантної активності однієї зі сполук, а рівнозначно стимулювало прояв спазмолітичного ефекту двох перспективних речовин порівняно з іншими дериватами адамантану обговорюваного ряду сполук. Для найбільш активного аналога (КОР-22) визначили показник середньоletalної дози ( $LD_{50}=325$  мг/кг), що є також неконкурентоздатним відносно препарату порівняння – дротаверину,  $LD_{50}$  якого дорівнює 564 мг/кг.

Навантаження адамантильного фрагмента новими функціональними групами не викликало очікуваного підвищення реакційності сполук. Половина синтезованих аналогів за показником спазмолітичної активності досягла значень дротаверину за умов гіперкалієвої констрикції (КОР-12, КОР-14 - КОР-17), а спазм судин, викликаний фенілефрином, знімало лише одне похідне алкоксиспиртів з бензилпіперидиновим замісником в адамантилметильному радикалі – КОР-13 ( $EC_{50} = 3,71 \cdot 10^{-6}$  М). Встановлена спазмолітична активність була майже на рівні зі стандартною речовиною. Такі замісники, як 3-Cl,5-метилфе-

нілпіперазин (КОР-11), 6,7-диметокситетрагідроізохінолін (КОР-12), діетиламін (КОР-15), N-етил-циклогексил (КОР-16), дещо підвищували спазмолітичну здатність сполук у протидії констрикції фенілефрину, але досягнути активності дротаверину не вдалось. Встановлена методом В.Б. Прозоровського та співавторів токсичність дериватів з радикалом адамантилметилу дозволяє вважати їх нетоксичними речовинами,  $LD_{50}$  яких займає положення між 708,0 та 1290,0 мг/кг.

ВИСНОВКИ. 1. В експериментах *in vitro* на моделі ізольованого фрагмента грудної аорти щурів за умов попередньої констрикції хлоридом натрію та фенілефрином досліджено вплив нових синтезованих похідних 1-алкокси-3-діалкіламіно-2-пропанолу як міотропних спазмолітичних засобів.

2. Найбільш активна сполука КОР-13 усувала спазм судин, ініційований фенілефрином, на рівні препарату порівняння дротаверину. Гіперкалієву констрикцію судин знімала більшість нових синтезованих сполук, але рівень їх активності не досягав дротаверину.

3. Досліджено гостру токсичність найактивніших алкоксиспиртів адамантану за показником  $LD_{50}$ , яка здебільшого була нижчою, ніж дротаверину, що дозволило віднести їх до нетоксичних речовин.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вринчану Н.О., Максимов Ю.М. Генералізована інфекція. Антимікробна активність нового похідного аміноадамантану // Медицина сьогодні і завтра. – 2004. – № 4. – С. 48-50.
2. Голиков С.А., Саноцкий И.В., Тиунов Л.А. Общие механизмы токсического действия. – Ленинград: Медицина, 1986. – 280 с.
3. Короткий Ю.В. Синтез і утеростимулююча активність похідних 1-алкокси-3-діалкіламіно-2-пропанолу: Автореф. дис. ... канд. фармац. наук. – Харків, 2005. – 20 с.
4. Поройков В.В., Филимонов Д.А. Компьютерный прогноз биологической активности химических соединений как основа для поиска и оптимизации базовых структур новых лекарств // В сб.: Азотистые гетероциклы и алкалоиды. – М.: Иридиум-пресс, 2001. – Т. 1. – С. 123-129.
5. Прозоровский В.Б., Прозоровская М.П., Демченко В.М. Экспресс-метод определения средней

эффективной дозы и ее ошибки // Фарм. и токсикол. – 1978. – № 4. – С. 497-502.

6. Anne M. Dorrance, NicoleRupp, David M. Pollock et al. An epoxide hydrolase inhibitor 1,2-(3-Adamantan-1-yl-ureido)dodecanoic Acid (AUDA), reduced ischemic cerebral infarct size in stroke-prone spontaneously hypertensive rats // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 2005. – **46**, № 6. – P. 842-848.

7. Calis U., Yarim M., Koksal M., Ozalp M. Synthesis and antimicrobial activity evaluation of some new adamantane // Arzneimittelforschung. – 2002. – **52**, № 10. – P. 778-781.

8. Ioannis Papanastasiou, Andrew Tsotinis, Nicolas Kolocouris et al. Design, synthesis and trypanocidal activity of new aminoadamantane derivatives // J Med.Chem. – 2008. – **51**, № 5. – P. 1496-1500.

9. John D. Imig, Xueying Zhao, Constantine Z. Zaharis et al. An orally active epoxide hydrolase inhibitor lowers blood pressure and provides renal protection in

salt-sensitive hypertension // Hypertension. – 2005. – **46**, № 4. – P. 975-981.

10. Sekiya M., Sato M., Funada J. et al. Effects of the long-term administration of nicorandil on vascular endothelial function and the progression of arteriosclerosis // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 2005. – **46**, № 1. – P. 63-67.

11. Xianghong Jing, Chunlong Ma, Yuki Ohigashi et al. Functional studies indicate amantadine binds to the pore of the influenza A virus M2 proton-selective ion channel // PNAS. – 2008. – **105**, № 31. – P. 10967-10972.

**Т.П. Пригула, Е.В. Пупишева, Н.А. Мохорт**

*ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК УКРАИНЫ, КИЕВ*

## **СПАЗМОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ (ДИ)ГИДРОХЛОРИДОВ И ЧЕТВЕРТИЧНЫХ СОЛЕЙ НЕКОТОРЫХ АДАМАНТИЛСОДЕРЖАЩИХ ПРОИЗВОДНЫХ 1-АЛКОКСИ-3-ДИАЛКИЛАМИНО-2-ПРОПАНОЛА**

### **Резюме**

*В исследованиях in vitro на изолированных кольцах аорты крыс изучены спазмолитические свойства производных 1-алкокси-3-диалкиламино-2-пропанола и методом В.Б. Прозоровского (крысы) установлены среднесмертельные дозы перспективных соединений.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** производные 1-алкокси-3-диалкиламино-2-пропанола, сосуды, спазмолитики, аорта крыс, in vitro.

**T.P. Pritula, O.V. Pupysheva, M.A. Mokhort**

*INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES OF UKRAINE, KYIV*

## **SPASMOLYTIC ACTION OF (DI)HYDROCHLORIDES AND QUATERNARY SALTS OF ADAMANTYL – CONTAINING DERIVATIVES OF 1-ALKOXY-3-DIALKYLAMINO-2-PROPANOL.**

### **Summary**

*In vitro experiences in the isolated rat aorta the 1-alkoxy-3-dialkylamino-2-propanol derivatives were studied as spasmolytics and the median lethal dose ( $LD_{50}$ ) of the perspective compounds was determined on the mice by method of V.B. Prozorovskiy.*

**KEY WORDS:** 1-alkoxy-3-dialkylamino-2-propanol derivatives, vessels, spasmolytics, rat aorta, in vitro.

*Отримано 22.07.09.*

**Адреса для листування:** Т.П. Пригула, Інститут фармакології та токсикології АМН України, вул. Ежена Потье, 14, Київ, 03680, Україна.



## ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ВИВЧЕННЯ АТФ-ГІДРОЛАЗНИХ СИСТЕМ ПРИ ЕРЕКТИЛЬНІЙ ДИСФУНКЦІЇ

*З віком при розвитку еректильної дисфункції у чоловіків знижується активність  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази плазматичної мембрани та  $\text{H}^+$ -АТФази мітохондрій лімфоцитів периферичної крові, що призводить до накопичення  $\text{Na}^+$  у клітині, дефіциту АТФ, порушення іонного гомеостазу та розвитку патологічних станів.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** еректильна дисфункція, лімфоцити,  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФаза,  $\text{H}^+$ -АТФаза.

**ВСТУП.** Еректильна дисфункція зустрічається в тій чи іншій формі у 40-52 % чоловіків після 40 років [2-4]. Здебільшого вона психогенної природи (63-69 %), а також, меншою мірою, органічної (9-20 %) та змішаної (6-11 %). Вивчення біохімічних механізмів, які лежать в основі розвитку еректильної дисфункції, дуже часто проводять на ендотелії кавернозних тіл. Цей ендотелій функціонує як рецептор-ефекторний орган, відповідає на кожен фізичний чи хімічний подразник, модулює гладкі м'язи судин до скорочення та розслаблення тощо [22]. Однак клітини ендотелію є важкодоступними для досліджень. Завдяки тому, що лімфоцити периферичної крові здатні швидко реагувати на будь-які зміни гомеостазу в організмі, а також тому, що модуляція активності ферментів у лімфоцитах настає значно раніше, ніж змінюються інші біохімічні та морфологічні показники в організмі [4, 5, 11, 23], вони є зручним об'єктом для проведення досліджень, пов'язаних з різними патологіями, зокрема порушенням еректильної функції. Лімфоцити експресують унікальні антигенспецифічні рецептори, різноманіття яких фактично відповідає різноманіттю антигенів навколишнього середовища. За своєю складністю імунна система наближається до нервової. Лімфоцити відповідають практично на всі медіатори нейронального походження.

Пошук чутливих показників, які б відображали одночасно фізіологічний статус організму і метаболічні зміни всередині клітини, є актуальним питанням сучасної біохімії та фізіології. Одними з таких показників можуть бути АТФази, які формують іонний градієнт через

мембрани, мембранний потенціал, регулюють водно-сольовий обмін і метаболізм клітини та можуть бути інтегральним показником життєздатності клітини [1, 6, 7]. Живі клітини підтримують низьку внутрішньоклітинну концентрацію  $\text{Na}^+$  (5-15 мМ) на фоні високої концентрації цього іона в позаклітинному просторі (~145 мМ) [1]. Трансмембранний градієнт іонів  $\text{Na}^+$  підтримується роботою  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази, яка транспортує назовні клітини 3 іони  $\text{Na}^+$  в обмін на 2 іони  $\text{K}^+$  при гідролізі 1 молекули АТФ. При багатьох патологічних станах, зокрема ішемії міокарда, діабетичній кардіоміопатії, рості ракових пухлин тощо, відмічено зростання внутрішньоклітинної концентрації  $\text{Na}^+$  [19]. Серед причин, які викликають цей ефект, найголовнішими є енергодефіцит з наступним зниженням активності  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази, а також клітинна ацидифікація, яка стимулює роботу  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обмінника у плазматичній мембрані, а відтак і надходження іонів  $\text{Na}^+$  в клітину. Іони  $\text{Na}^+$  залучені також в інші транспортувальні механізми, зокрема ті, що регулюють внутрішньоклітинне рН, а звідси, і роботу  $\text{H}^+$ -АТФази мітохондрій [8, 16].

Метою роботи було вивчення активності  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази плазматичної мембрани та  $\text{H}^+$ -АТФази мітохондрій лімфоцитів периферичної крові при еректильній дисфункції чоловіків різного віку для оцінки зв'язку між активністю ферментів і станом цього захворювання.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Дослідження проводили на лімфоцитах периферичної крові клінічно здорових чоловіків віком 18-29 років (контроль, група 1, n=30) та 52-66 років (контроль, група 1.1, n=18), чоловіків з психогенною моносиндромною еректильною дисфункцією.

кцією віком 18-29 років (група 2, n=27) та чоловіків зі змішаною формою еректильної дисфункції віком 52-66 років, коли виявляли дисліпідемію, артеріальну гіпертензію, абдомінальне ожиріння та частковий андрогенний дефіцит (група 3, n=14). Моноядерні лімфоцити периферичної крові виділяли з гепаринізованої свіжоотриманої крові у градієнті концентрації філол-урографіну [17]. Підраховували клітини в камері Горяєва, використовуючи як барвник 0,1 % трипановий синій. Життєздатність лімфоцитів в усіх дослідах складала не менше 95 %. Для розкриття латентних АТФазних активностей до суспензії лімфоцитів додавали 0,2 % розчин сапоніну [10, 20]. Загальну  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФазну активність визначали у середовищі інкубації, яке містило 30 мМ  $\text{NaCl}$ , 120 мМ  $\text{KCl}$ , 5 мМ  $\text{MgCl}_2$ , 3 мМ АТФ, 3 мМ  $\text{Neres-Tris}$  буфер (рН 7,4), 0,2 % сапонін, 0,5 мг білка/мл. За  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазну активність брали таку, яка інгібується 1 мМ розчином оубайну. Активність  $\text{H}^+$ -АТФази мітохондрій вираховували за величиною компоненти, яка інгібується специфічним блокатором – азидом натрію (1 мМ). Час інкубації проб складав 5 хв при 37 °С. Гідроліз АТФ АТФ-гідролазами визначали за вмістом неорганічного фосфату.

Статистичний аналіз отриманих результатів проводили з використанням критерію Стьюдента. Статистичні та кінетичні розрахунки здійснювали в режимі програмного забезпечення на персональному комп'ютері.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Зараз багато авторів вважає, що зміни концентрації іонів  $\text{Na}^+$  у клітинах можуть відображати їх фізіологічний чи патологічний стан [1, 6, 7, 9, 12-15]. Основним ферментом, який регулює концентрацію  $\text{Na}^+$  у клітинах, є  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФаза [1, 7].

Нами виявлено, що в пермеабілізованих сапоніном лімфоцитах периферичної крові чоловіків контрольної групи 1 активність  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФази складала  $(3,8 \pm 0,4)$  мкмоль  $\text{P}_i/\text{год} \cdot \text{мг}$  білка, а в контрольній групі 1.1 –  $(3,5 \pm 0,3)$  мкмоль  $\text{P}_i/\text{год} \cdot \text{мг}$  білка. У лімфоцитах чоловіків групи 2 з психогенною моносиндромною еректильною дисфункцією (вік 18-29 років) ця величина дещо зменшувалась і становила  $(3,7 \pm 0,3)$  мкмоль  $\text{P}_i/\text{год} \cdot \text{мг}$  білка, а в лімфоцитах чоловіків групи 3 зі змішаною формою еректильної дисфункції (вік 50-63 роки) активність ферменту знижувалась до  $(2,9 \pm 0,3)$  мкмоль  $\text{P}_i/\text{год} \cdot \text{мг}$  білка, тобто була меншою на 24 % щодо контролю (рис. 1).

Активність  $\text{H}^+$ -АТФази мітохондрій у пермеабілізованих лімфоцитах чоловіків групи 1 при

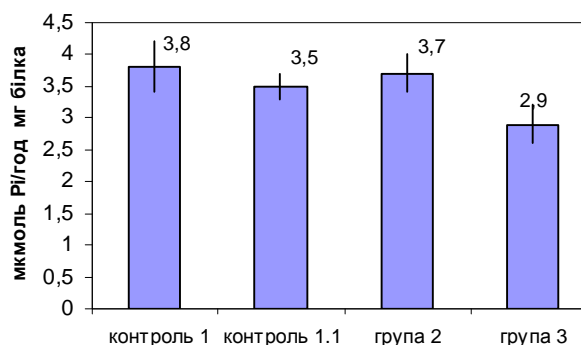


Рис. 1. Активність  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФази пермеабілізованих сапоніном лімфоцитів периферичної крові чоловіків з еректильною дисфункцією. Група 1 – контроль, клінічно здорові чоловіки віком 18-29 років; група 1.1 – контроль, клінічно здорові чоловіки віком 52-66 років; група 2 – чоловіки з психогенною моносиндромною еректильною дисфункцією віком 18-29 років; група 3 – чоловіки зі змішаною формою еректильної дисфункції віком 52-66 років.

цьому складала  $(3,7 \pm 0,3)$  мкмоль  $\text{P}_i/\text{год} \cdot \text{мг}$  білка, а групи 1.1 –  $(3,2 \pm 0,3)$  мкмоль  $\text{P}_i/\text{год} \cdot \text{мг}$  білка. У лімфоцитах чоловіків групи 2 ця величина дещо знижувалась – до  $(3,5 \pm 0,3)$  мкмоль  $\text{P}_i/\text{год} \cdot \text{мг}$  білка, а в лімфоцитах чоловіків групи 3 активність  $\text{H}^+$ -АТФази ще більше знижувалась – до  $(2,4 \pm 0,2)$  мкмоль  $\text{P}_i/\text{год} \cdot \text{мг}$  білка, тобто була меншою на 35 % щодо контролю (рис. 2).

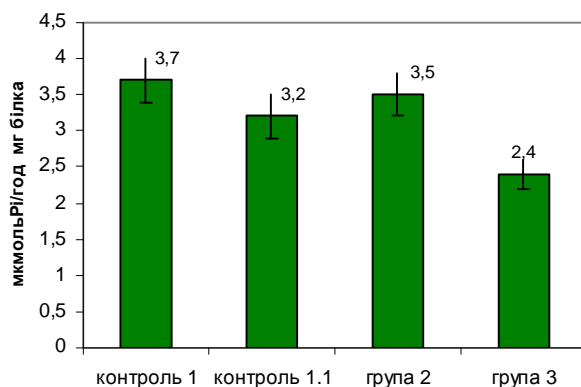


Рис. 2. Активність мітохондріальної  $\text{H}^+$ -АТФази пермеабілізованих сапоніном лімфоцитів периферичної крові чоловіків з еректильною дисфункцією. Група 1 – контроль, клінічно здорові чоловіки віком 18-29 років; група 1.1 – контроль, клінічно здорові чоловіки віком 52-66 років; група 2 – чоловіки з психогенною моносиндромною еректильною дисфункцією віком 18-29 років; група 3 – чоловіки зі змішаною формою еректильної дисфункції віком 50-63 роки.

Зниження активності  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФази та відповідне зростання концентрації  $\text{Na}^+$  у клітинах при різних патологічних станах є досить

поширеним явищем. Про це перш за все свідчать прямі виміри концентрації  $\text{Na}^+$  у клітинах за допомогою ЯМР [12-15].

Так, зниження активності ферментів гліколітичного циклу та  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази у діабетичних кардіоміоцитах призводило до підвищення рівня  $[\text{Na}^+]_v$  [15, 18, 21]. Автори припускають, що зростання  $[\text{Na}^+]_v$  активує  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обмінник у мітохондріальній мембрані та призводить до зниження концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  в мітохондріях, а відтак і до гальмування  $\text{Ca}^{2+}$ -залежних біоенергетичних процесів. Показано, що іони  $\text{Na}^+$  беруть участь у відновленні функцій серця через нормалізацію внутрішньоклітинних концентрацій  $\text{Ca}^{2+}$  і  $\text{H}^+$  [19, 21]. Ці процеси опосередковуються здебільшого через  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ - і  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -іонотранспортувальні механізми.

При порівняльному аналізі змін загально-го тканинного та внутрішньоклітинного  $\text{Na}^+$  у пухлинах RIF-1 фібросаркоми з'ясовано, що на фоні практично незмінного рівня  $[\text{Na}^+]_t$  у нелікованій пухлині рівень  $[\text{Na}^+]_v$  при цьому зростає, очевидно, в результаті зменшення біоенергетичного статусу клітини та активності  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази [12, 13]. При злоякісній трансформації клітин селезінки встановлено зниження активності як загальної, так і  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази [9]. Виявлено, що зростання  $[\text{Na}^+]_v$ , зумовлене інгібуванням активності  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази, є характерним для різних патологій, зокрема тих, що пов'язані з розвитком гіпоксичних станів у тканинах [15].

За сучасними даними, зміни активності АТФаз і концентрації відповідних катіонів у клітинах пов'язані, головним чином, з модифікацією ліпідних компонентів біомембран, порушенням ліпід-ліпідних і ліпід-білкових взаємодій, зміною фізико-хімічних властивостей мембранних структур тощо [9]. Пригнічення роботи іонних pomp призводить до зростання концентрації натрію та кальцію у клітинах [1]. Це супроводжується дисбалансом внутрішньоклітинної регуляції та активацією таких ферментів, як фосфоліпаза  $\text{A}_2$  та ендонуклеаз. Гідроліз фосфоліпідів мембран фосфоліпазою сприяє подальшому порушенню бар'єрних властивостей ліпідного бішару, що призводить до ще більшого зростання концентрації натрію та кальцію в цитоплазмі, набуханню мітохондрій, їх пошкодженню та порушенню всіх клітинних функцій. Окрім того,  $\text{H}^+$ -АТФаза функціонує і як АТФ-синтаза, забезпечуючи спряження фосфорилування АДФ з реакціями в

дихальному ланцюгу. Пригнічення роботи даної АТФази призводить до енергодефіциту в клітині.

Безпосереднє вимірювання концентрації  $\text{Na}^+$  у клітинах підтвердило можливість використання цього катіона як інтегрального показника метаболічних процесів [12-15]. Так,  $[\text{Na}^+]_v$  зростала після ініціювання аноксії у 2,5 рази, відображаючи перш за все зниження активності  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази в ацидифікованій аноксійній тканині м'язів. Як свідчать наведені дані, зміни концентрації іонів  $\text{Na}^+$  у клітинах відображають фізіологічні й метаболічні перетворення, що виникають при різних патологічних станах і можуть використовуватись як інтегральний показник цих перетворень. Рівень  $[\text{Na}^+]_v$  є значно чутливішим до патологічних змін, ніж рівень  $[\text{Na}^+]_t$  [12-15].

Іонотранспортувальна активність  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -pomпи змінюється при дії гормонів, ростових факторів, стресових чинників. Як компонент системи життєзабезпечення клітини натрієва помпа перебуває під контролем регуляторних механізмів різного типу, які забезпечують як швидку, так і довготривалу зміну інтенсивності іонних потоків через плазматичну мембрану [6, 7]. Індукована активацією рецепторів гормонів чи ростових факторів зміна активності натрієвої помпи пов'язана зі зміною кінетичних параметрів субодиниць  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази, а також з інкорпорацією в мембрану нових компонентів АТФази з неактивного внутрішньоклітинного пулу [6, 7].

**ВИСНОВКИ.** 1. При еректильній дисфункції в чоловіків інгібується активність  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази лімфоцитів периферичної крові, що призводить до накопичення  $\text{Na}^+$  в цитоплазмі та порушення клітинних функцій.

2. Зниження активності  $\text{H}^+$ -АТФази мітохондрій при еректильній дисфункції свідчить перш за все про енергодефіцит у клітинах і порушення  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обміну.

3. Оскільки лімфоцити швидко реагують на різноманітні впливи на організм, вони можуть бути адекватною моделлю для вивчення патогенетичних змін в організмі, зокрема тих, що пов'язані з розвитком еректильної дисфункції.

*Робота виконана за підтримки гранта Президента України.*

*Розпорядження № 336/2008-рп від 16.12.2008 року.*

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Болдырев А.А. Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФаза – свойства и биологическая роль // Соросовский образовательный журнал. – 1998. – № 4. – С. 2-9.
2. Возианов А.Ф., Горпинченко И.И. Сексология и андрология. – К.: Абрис, 1997. – 880 с.
3. Возианов О.Ф., Горпинченко И.И., Бойко М.И. Застосування віагри у лікуванні пацієнтів з еректильною дисфункцією // Урологія. – 2000. – № 4. – С. 60-65.
4. Воробець Д.З., Кочешкова Н.С. Неплідність та еректильна дисфункція чоловіків: біохімічні та клінічні аспекти. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2008. – 204 с.
5. Давтян Т.К., Аванесян Л.А. О взаимоотношении иммунного и адаптивного ответов // Успехи совр. биол. – 2001. – **121**, № 3. – С. 275-283.
6. Карицкая И.А., Аксенов Н.Д., Васильева И.О. и др. Долговременная регуляция Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-насоса в лимфоцитах человека: роль JAK/STAT- и MAP-киназных сигнальных путей // Цитология. – 2008. – **50**, № 4. – С. 329-337.
7. Карицкая И.А., Аксенов Н.Д., Виноградова Т.А., Марахова И.И. Регулируемая интерлейкином-2 экспрессия Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФазы в активированных лимфоцитах человека // Цитология. – 2005. – **47**, № 1. – С. 28-37.
8. Лопина О.Д. Взаимодействие каталитической субъединицы Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФазы с клеточными белками и другими эндогенными регуляторами // Биохимия. – 2001. – **66**, № 10. – С. 1389-1400.
9. Надирадзе Н.И., Грекулова А.Н., Кавтарадзе В.Г. Проницаемость мембран эритроцитов для Na<sup>+</sup> и K<sup>+</sup> и их фосфолипидный состав у больных гипертонической болезнью // Бюлл. эксп. биол. и мед. – 1993. – **125**, № 2. – С. 135-136.
10. Підковка Н.О., Воробець З.Д., Зіменковський А.Б. Дослідження деяких властивостей АТФаз у лімфоцитах крові людини // Експерим. та клін. фізіол. і біохім. – 2002. – **7**, № 1. – С. 38-41.
11. Скок М.В. Нікотинові рецептори нейтронного типу: будова і функція у клітинах різного походження // Укр. біохім. журн. – 2004. – **76**, № 3. – С. 5-15.
12. Babsky A., Hekmatyar S., Gorski T. et al. Heat-induced changes in intracellular sodium, pH and bioenergetic status in RIF-1 tumor cells determined by <sup>23</sup>Na and <sup>31</sup>P magnetic resonance spectroscopy // Intern. J. Hyperthermia. – 2005. – **21**, № 2. – P. 141-158.
13. Babsky A., Hekmatyar S., Zhang H. et al. Application of <sup>23</sup>Na MRI to monitor chemotherapeutic response in RIF-1 tumors // Neoplasia. – 2005. – **7**. – P. 658-666.
14. Babsky A., Hekmatyar S., Zhang H. et al. Predicting and monitoring response to chemotherapy by <sup>23</sup>Na MRI in subcutaneously implanted 9L glioma using apparent diffusion coefficient of water and <sup>23</sup>Na Magnetic Resonance Imaging // J. of Magnetic Resonance Imaging. – 2006. – **24**. – P. 132-139.
15. Babsky A., Zhang H., Hekmatyar S., Bansal N. Evaluation of extra- and intracellular apparent diffusion coefficient before and after global ischemia in rat skeletal muscle via <sup>23</sup>Na MRS // Magnetic Resonance in Medicine. – 2008. – **59**, № 3. – P. 485-491.
16. Barbarat B., Podevin R.A. Stoichiometry of the renal sodium-L-lactate cotransporter // J. Biol. Chem. – 1988. – **263**, № 25. – P. 12190-12193.
17. Boyum A. Separation of leucocytes from blood and bone marrow // J. Clin. Lab. Invest. – 1968. – **21**. – P. 9-29.
18. Doliba N., Babsky A., Wehrli S. et al. Metabolic control of sodium transport in streptozotocin induced diabetic rat hearts // Biochemistry (Moscow). – 2000. – **65**, № 4. – P. 590-597.
19. Imahashi K., Nishimura T., Yoshioka J., Kusuoka H. Role of intracellular Na<sup>+</sup> kinetics in preconditioned rat heart // Circ. Res. – 2001. – **88**, № 11. – P. 1176-1182.
20. Podkovka N., Vorobets Z. Ion-transporting enzymes and glutathione antiperoxide system function in human blood lymphocytes // Annales Univ. Marie Curie Sklodowska (Lublin, Poland). – 2002. – **15**, № 24. – P. 363-366.
21. Ramasamy R., Schaefer S. Inhibition of Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> exchanger protects diabetic and non-diabetic heart from ischemic injury: insight into altered susceptibility of diabetic hearts to ischemic injury // J. Mol. Cell. Cardiol. – 1999. – **31**, № 4. – P. 785-797.
22. Saenz de Tejada I., Andulo J., Celtek S. et al. Physiology of erectile function // J. Sex. Med. – 2004. – **1**, № 3. – P. 254-265.
23. Skok M.V., Grailhe R., Agenes F., Changeux J.-P. The role of nicotinic acetylcholine receptors in lymphocyte development // J. Neuroimmunol. – 2006. – **171**, № 1-2. – P. 86-98.

Д.З. Воробець

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

## ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИЗУЧЕНИЯ АТФ-ГИДРОЛАЗНЫХ СИСТЕМ ПРИ ЭРЕКТИЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ

### Резюме

С возрастом при развитии эректильной дисфункции у мужчин снижается активность  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы плазматической мембраны и  $\text{H}^+$ -АТФазы митохондрий лимфоцитов периферической крови, что приводит к накоплению  $\text{Na}^+$  в клетке, дефициту АТФ и развитию патологических состояний.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: эректильная дисфункция, лимфоциты,  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФаза,  $\text{H}^+$ -АТФаза.

D.Z. Vorobets

DANYLO HALYTSKY LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

## THE DIAGNOSTIC IMPORTANCE OF ATP-HYDROLYSIS SYSTEM STUDYING AT ERECTILE DYSFUNCTION

### Summary

In the process of aging, as men's erectile dysfunction develops, plasmatic membrane  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPase and lymphocyte mitochondrial  $\text{H}^+$ -ATPase activities goes down, which causes accumulation of  $\text{Na}^+$  in the cell, deficit of ATP and development of pathological conditions.

KEY WORDS: erectile dysfunction, lymphocytes,  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPase,  $\text{H}^+$ -ATPase.

Отримано 25.06.09

Адреса для листування: Д.З. Воробець, вул. Донцова, 8а, кв. 8, Львів, 79008, Україна.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

## ДОСЛІДЖЕННЯ БІЛКОВО-ФРАКЦІЙНОГО СКЛАДУ ПРЕПАРАТУ КАРБОКСИЛЕСТЕРАЗ ІЗ МІКРОСОМАЛЬНОЇ ФРАКЦІЇ ПЕЧІНКИ СВИНІ

З мікросомальної фракції печінки свині модифікованим методом виділено препарат карбоксилестераз із виходом за білком 2,24 мг/г тканини, естеразною та амідазною активностями 148,7 мкмоль/мг білка·хв і 0,51 нмоль/мг білка·хв відповідно. Методом SDS-електрофорезу в поліакриламідному гелі показано, що фракції з молекулярними масами (52,5±7,8–69,3±7,6) кДа відповідають субодиницям молекули КЕПС, інші фракції є баластними білками, продуктами деградації та агрегації білкових молекул. З використанням нативного електрофорезу в препараті карбоксилестераз виявлено 19 білкових фракцій, 11 з яких (73 % від загального білка) мають естеразну активність.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: карбоксилестерази, мікросомальна фракція, печінка свині, електрофорез.

ВСТУП. Карбоксилестерази (КФ 3.1.1.1) мікросомальної фракції печінки свині (КЕПС) – серинові гідролази, що каталізують гідроліз ефірного й амідного зв'язків у молекулах структурно відмінних сполук. Вони мають широку субстратну специфічність і високу стереоселективність, тому є перспективними як каталізатори стереоселективного гідролізу і синтезу. Відомо, що високого ступеня енантіомерної чистоти сполук, отриманого за допомогою карбоксилестераз, у багатьох випадках неможливо досягнути жодними іншими методами [12].

Також перспективним є застосування карбоксилестераз для вивчення метаболізму й активації лікарських речовин і проліків *in vitro*: вивчено активацію інгібіторів АПФ (цилазаприлу і квінаприлу) [8], протипухлинного препарату іринотекану [7], гіполіпідемічного засобу ловастатину, метаболізм опіоїдів: героїну і меперидину [9], місцевого анестетика лідокаїну [7], деяких транквілізаторів бенздіазепінового ряду [10], ефірів кетопрофену [11] та ін.

Проте одним з основних недоліків застосування карбоксилестераз є висока вартість комерційного ферменту, внаслідок чого актуальним залишається створення більш доступного й ефективного способу їх отримання.

Відомо, що ізоферментний склад карбоксилестераз залежить від об'єкта і методики виділення ферменту [4], тому викликає інтерес дослідження за допомогою електрофорезу

особливостей складу виділеного розробленим методом препарату КЕПС із печінки свині.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Частково очищений препарат карбоксилестераз отримували з мікросомальної фракції печінки свині, що була виділена методом низькошвидкісної седиментації в присутності іонів  $\text{Ca}^{2+}$  [5]. Одержану мікросомальну фракцію інкубували за наявності 0,1 моль/дм<sup>3</sup>  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  (рН 8,0) і 0,1 моль/дм<sup>3</sup> ЕДТА, перемішуючи впродовж 30 хв при температурі 37 °С, і центрифугували при 17 000 об./хв протягом 30 хв. Далі насичували отриманий розчин сульфатом амонію до 70 % при перемішуванні, утримуючи температуру ~0 °С, після чого центрифугували протягом 30 хв. Осад ресуспендували в трис-НСІ буферному розчині (0,01 моль/дм<sup>3</sup>, рН 8,0), що містив 0,5 моль/дм<sup>3</sup> КСІ, потім у розчин додавали сульфат амонію до 45 % насичення, центрифугували, після чого насичували одержану надосадову рідину до 70 % і центрифугували в аналогічних умовах. Виділений осад розчиняли в трис-НСІ буферному розчині (0,01 моль/дм<sup>3</sup>, рН 8,0), поміщали в діалізний мішок (гідратцелюозна мембрана “Діацел”) і діалізували проти того ж буферного розчину при температурі ~ 0 °С. У виділеному препараті карбоксилестерази визначали вміст білка за методом Лоурі в модифікації Хартрі [6], естеразну (за нафтилацетатом) [3] і амідазну (за ацетанлідом) [2] активності.

© Є.А. Шестеренко, О.В. Севастьянов, І.І. Романовська, В.А. Топтіков, Ю.Е. Брусиловський, 2010.

Фракційний склад препарату КЕПС досліджували методом SDS-електрофорезу в 10 % поліакриламідному гелі (ПААГ) у системі Леммлі на приладі "Helicon" (Росія). Забарвлення здійснювали з використанням кумасі R-250.

Нативний електрофорез проводили в 10 % ПААГ за Орнстейн і Девіс [1]. Одну частину гелю забарвлювали кумасі R-250 для прояву білкових фракцій, іншу – субстратом карбоксилестерази для встановлення ферментативної активності.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** З виділеної мікросомальної фракції (МФ) печінки свині модифікованим методом виділено препарат карбоксилестераз із виходом за білком 2,24 мг/г тканини, естеразною та амідазною активностями

148,7 мкмоль/мг білка·хв і 0,51 нмоль/мг білка·хв відповідно. Показано, що заміна часткової солюбілізації МФ на екстракцію 0,1 моль/дм<sup>3</sup> розчином пірофосфату натрію дозволила збільшити вихід за білком, естеразну та амідазну активності виділеного ферменту в 11,2, 3,87 і 1,31 раза відповідно.

Дослідження фракційного складу препарату КЕПС методом SDS-електрофорезу (рис. 1) показало наявність 26 білкових фракцій, які можна об'єднати в 4 зони (табл. 1).

Найбільш низькомолекулярні білки розташовані в діапазоні з відносною електрофоретичною рухомістю  $R_f$  0,92-0,71 (№ 1-6). Частка білків цієї зони в загальному спектрі – 18,20 %. Основна фракція (№ 2) має молекулярну масу 14,4 кДа.

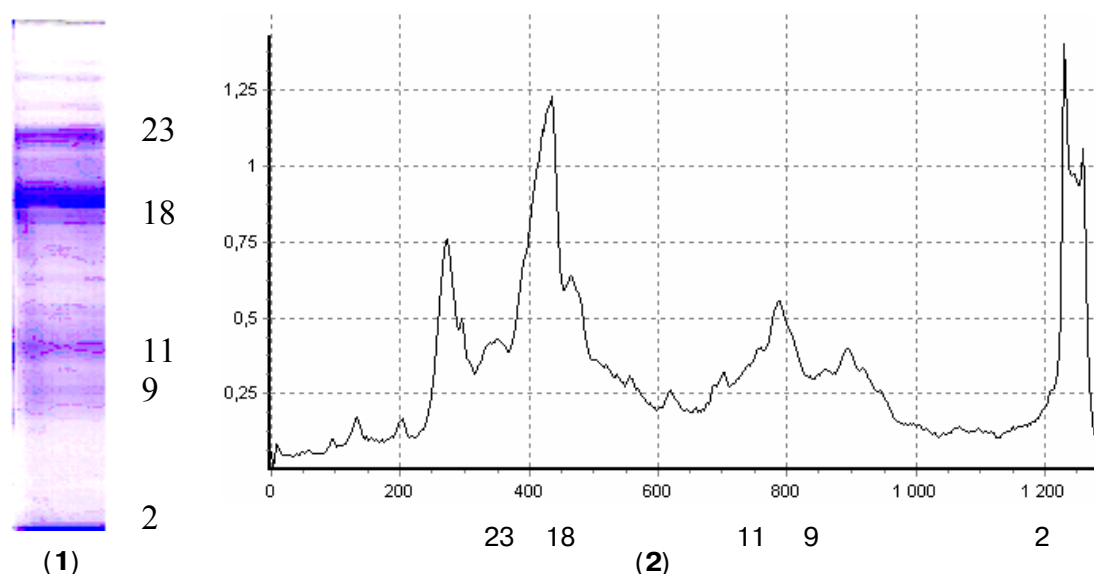


Рис. 1. Електрофореграма (1) і денситограма (2) препарату карбоксилестераз після розділення за допомогою SDS-електрофорезу.

Таблиця 1 – Білкові фракції препарату карбоксилестерази печінки свині, виявлені за допомогою SDS-електрофорезу

№	$R_f$	Питома частка білкової фракції в спектрі, %	Молекулярна маса, кДа
1	2	3	4
1	0,92	4,14±0,55	<14,4
2	0,90	7,20±1,07	14,4±3,0
3	0,89	2,04±0,57	15,1±3,8
4	0,81	1,84±0,71	18,4±4,5
5	0,76	1,60±0,48	21,0±5,2
6	0,71	1,39±0,37	23,4±4,7
7	0,68	2,05±0,23	25,1±2,8
8	0,66	2,18±0,35	27,7±3,0
9	0,64	3,38±0,35	27,9±3,0
10	0,61	2,79±0,20	27,9±3,0
11	0,58	6,61±0,90	33,1±3,5
12	0,55	3,03±0,37	36,7±4,0
13	0,51	4,13±0,24	41,7±4,5

1	2	3	4
14	0,45	2,92±0,26	45,5±5,0
15	0,41	3,16±0,44	52,5±5,8
16	0,38	3,00±0,15	56,2±6,2
17	0,35	5,46±0,53	61,0±6,7
18	0,33	18,58±1,43	63,1±7,0
19	0,29	4,10±0,47	69,3±7,6
20	0,26	3,97±0,91	71,6±7,8
21	0,23	1,91±0,45	81,3±10,0
22	0,22	2,10±0,37	83,2±10,0
23	0,19	9,08±1,46	90,0±10,0
24	0,15	0,97±0,19	100,0±12,0
25	0,13	0,34±0,02	140,0±16,8
26	0,10	2,08±0,09	300,0±36,0

Таблиця 2 – Вивчення фракційного складу і ферментативної активності КЕПС методом нативного електрофорезу

№	Rf	Питома частка білкової фракції в спектрі, %	
		за білком (забарвлення кумасі R-250)	за ферментативною активністю
1	0,85	0,10±0,05	–
2	0,65	1,49±0,15	–
3	0,57	3,84±0,16	–
4	0,52	2,23±0,35	–
5	0,50	3,83±0,13	–
6	0,47	4,32±0,33	–
7	0,44	7,08±0,15	–
8	0,42	4,28±0,33	–
9	0,38	3,62±0,19	0,74±0,33
10	0,33	7,69±0,22	12,57±0,72
11	0,28	10,04±0,71	13,02±1,34
12	0,23	6,22±0,33	11,84±0,64
13	0,21	3,90±0,27	
14	0,18	6,23±0,26	9,50±0,93
15	0,15	5,32±0,40	11,04±1,06
16	0,12	15,40±0,39	17,36±1,42
17	0,09	3,71±0,29	7,75±0,58
18	0,07	2,31±0,16	7,63±0,73
19	0,04	8,41±0,38	8,57±0,72

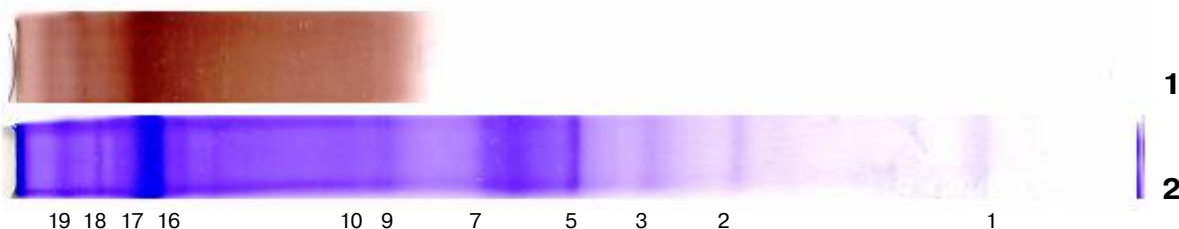


Рис. 2. Електрофореграми (нативний електрофорез) препарату карбоксилестераз: 1 – білкові фракції (забарвлення кумасі R-250); – 2 – ферментативна активність фракцій (за 1-нафтилацетатом).



Білки другої зони (№ 7-13) мають електрофоретичну рухомість від 0,68 до 0,51. Їх питома частка в загальному спектрі – 24,17 %. Середня молекулярна маса білків – близько 30 кДа. Перша і друга зони представлені, ймовірно, баластними білками і продуктами деградації.

Білки найбільш вираженої зони розташовані в діапазоні з Rf 0,45-0,23 (№ 14-21). Їх частка в спектрі – 43,09 %.

Найбільш високомолекулярні білки утворюють зону з рухомістю від 0,22 до 0,10 (№ 22-26) і являють собою, можливо, продукти агрегації молекул КЕПС і баластних білків. Частка білків цієї зони в загальному спектрі – 14,56 %.

У виділеному препараті КЕПС фракції з молекулярними масами (52,5±7,8–69,3±7,6) кДа можуть відповідати субодиницям молекули КЕПС. Отримані дані узгоджуються з наведе-

ними в літературі відомостями про структуру молекули КЕПС [4]; відомо, що М.м. комерційного препарату КЕПС становить 162-168 кДа, молекула ферменту складається з 3-х субодиниць  $\alpha$ ,  $\beta$  і  $\gamma$  з М.м. 58,2, 59,7 і 61,4 кДа відповідно.

З використанням нативного електрофорезу в препараті КЕПС виявлено 19 білкових фракцій, 11 з яких (73 % від загального білка) мають естеразну активність (табл. 2, рис. 2).

**ВИСНОВКИ.** Проведено модифікацію методу виділення карбоксилестераз із мікросомальної фракції печінки свині. Методом SDS-електрофорезу в ПААГ досліджено фракційний склад препарату КЕПС. Із використанням нативного електрофорезу показано, що 11 білкових фракцій (73 % від загального білка) мають виражену естеразну активність.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Остерман Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. Электрофорез и ультрацентрифугирование. – М.: Наука, 1981. – 288 с.
2. Acao T., Omura T. Acetanilide-hydrolyzing esterase of rat liver microsomes // J. Biochem. – 1972. – **72**, № 5. – P. 1245-1256.
3. Balls A.K., Wood H.N. Acetyl chymotrypsin and its reaction with ethanol // J. Biol. Chem. – 1956. – **219**, № 1. – P. 245-256.
4. Bornscheuer U.T., Kazlauskas R.J. Hydrolases in Organic Synthesis. – Wiley-VCH, 2006. – 368 p.
5. Eriksson L.S. Preparation of liver microsomes with high recovery of endoplasmic reticulum and a low grade of contamination // Biochim. Biophys. Acta. – 1978. – **508**, № 1. – P. 155-164.
6. Hartree E.F. Determination of protein: a modification of the Lowry method, that gives a linear photometric response // Anal. Biochem. – 1972. – **48**, № 1. – P. 422-427.
7. Hosokawa M. Structure and catalytic properties of carboxylesterase isozymes involved in metabolic activation of prodrug // Molecules. – 2008. – **13**, № 2. – P. 412-431.
8. Mori M., Hosokawa M., Ogasawara Y. et al. cDNA cloning, characterization and stable expression of novel human brain carboxylesterase // FEBS Lett. – 1999. – **485**. – P. 17-22.
9. Redinbo M.R., Bencharit S., Potter P.M. Human carboxylesterase 1: from drug metabolism to drug discovery // Biochemical Society Transactions. – 2003. – **31**, № 1. – P. 620-624.
10. Yang S., Liu K., Guengerich P. Enantioselective hydrolysis of oxazepam 3-acetate by esterases in human and rat liver microsomes and rat brain S9 fraction // Chirality. – 1990. – **2**. – P. 150-155.
11. Zhu Q., Hu J., Liu J. et al. Stereoselective characteristics and mechanism of epidermal carboxylesterase metabolism observed in HaCaT Keratinocytes // Biol. Pharm. Bull. – 2007. – **30**, № 3. – P. 532-536.
12. Zxu L.M., Tedford M.C. Applications of pig liver esterase (PLE) in asymmetric synthesis // Tetrahedron. – 1990. – **46**, № 19. – P. 6587-6611.

Е.А. Шестеренко, О.В. Севастьянов, И.И. Романовская, В.А. Топтиков,  
Ю.Э. Брусиловский  
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ ИМЕНИ А.В. БОГАТСКОГО НАН  
УКРАИНЫ, ОДЕССА

## ИССЛЕДОВАНИЕ БЕЛКОВО-ФРАКЦИОННОГО СОСТАВА ПРЕПАРАТА КАРБОКСИЛЭСТЕРАЗ ИЗ МИКРОСОМАЛЬНОЙ ФРАКЦИИ ПЕЧЕНИ СВИНЬИ

### Резюме

Из микросомальной фракции печени свиньи модифицированным методом выделен препарат карбоксилэстераз с выходом по белку 2,24 мг/г ткани, эстеразной и амидазной активностями 148,7 мкмоль/мг белка·мин и 0,51 нмоль/мг белка·мин соответственно. Методом SDS-электрофореза в полиакриламидном геле показано, что фракции с молекулярными массами (52,5±7,8–69,3±7,6) кДа отвечают субъединицам молекулы КЭПС, остальные фракции являются балластными белками, продуктами деградации и агрегации белковых молекул. С использованием нативного электрофореза в препарате карбоксилэстераз выявлено 19 белковых фракций, 11 из которых (73 % от общего белка) обладают эстеразной активностью.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: карбоксилэстеразы, микросомальная фракция, печень свиньи, электрофорез.

Ye.A. Shesterenko, O.V. Sevastyanov, I.I. Romanovska, V.A. Topticov,  
Yu.E. Brusylovsky  
O.V. BOHATSKY PHYSICO-CHEMICAL INSTITUTE OF NAS OF UKRAINE, ODESSA

## INVESTIGATION OF PIG LIVER MICROSOMAL CARBOXYL ESTERASES PROTEIN-FRACTIONAL COMPOSITION

### Summary

Using the modified method, the carboxyl esterases preparation with protein yield 2,24 mg/g tissue, esterase and amidase activities of 148,7  $\mu\text{mol}/\text{mg}$  protein·min and 0,51  $\text{nmol}/\text{mg}$  protein·min, respectively, was isolated from pig liver microsomal fraction. By the SDS-PAGE electrophoresis method it was shown that fractions with molecular masses of (52,5±7,8) – 69,3±7,6 kDa belong to PLCE subunits, other fractions are the ballast proteins, degradation products and aggregated protein molecules. In the carboxyl esterases preparation, using the native electrophoresis, the presence of 19 protein fractions was found, 11 of which (73 % of the total protein) have esterase activity.

KEY WORDS: carboxyl esterases, microsomal fraction, pig liver, electrophoresis.

Отримано 04.03.09

Адреса для листування: І.І. Романовська, Фізико-хімічний інститут імені О.В. Богатського НАН України, Люстдорфська дор., 86, Одеса, 65080, Україна.

## АНТИМІКРОБНІ ВЛАСТИВОСТІ ПОВЕРХНЕВОГО КОМПЛЕКСУ ПОЛІ(3-АМІНОПРОПІЛ)СИЛОКСАНУ З ІОНАМИ МІДІ (II)

Одержано поверхневий комплекс полі(3-амінопропіл)силоксану з іонами міді (II) шляхом адсорбції з розчинів та досліджено його антимікробну активність. Також вивчено зміни механічних характеристик гелю ПАПС в ході синтезу та з'ясовано стадії перебігу цього процесу.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** полі(3-амінопропіл)силоксан, адсорбція іонів міді (II), золь-гель-метод, антимікробна активність.

**ВСТУП.** Раніше методом золь-гель-техніки нами було синтезовано поліамінопропілсилоксани (ПАПС) і досліджено вплив умов синтезу (температури, природи органічної добавки) на їх структурно-адсорбційні властивості [3]. Наявність на поверхні таких адсорбентів функціональних груп орієнтує на пошуки шляхів практичного застосування ПАПС у процесах адсорбції, комплексоутворення і т. ін. Тому проведено адсорбцію іонів міді (II) з розчинів з метою одержання поверхневих комплексів ПАПС з іонами міді (II), які можна було б використовувати в медицині. Також вивчено зміни механічних характеристик гелю ПАПС в ході синтезу та з'ясовано стадії перебігу цього процесу.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** З метою вивчення процесу утворення тримірного каркаса гелю ПАПС було проведено декілька досліджень. Перше з них – це вивчення структурно-механічних характеристик полі(3-амінопропіл)силоксану при гелеутворенні за допомогою приладу Вейлера-Рейндера [2] з автоматичним записом кривої “деформація – час”. При цьому спеціальну пластинку приладу занурювали в суміш реагентів (для реакції гідролітичної поліконденсації силанів) та реєстрували зміну рівноважного модуля еластичності ( $E_s$ ) залежно від повноти процесів гідролізу та поліконденсації вихідних силанів.  $E_s$  визначали за рівноважним найбільшим значенням повної деформації ( $\epsilon_m$ ), яка зникає після розвантаження:

$$E_s = P/\epsilon_m,$$

де  $P$  – навантаження.

Отримані результати наведено на рисунках 1 та 2.

Адсорбцію іонів міді (II) з ацетонітрильних розчинів проводили в статичному режимі. Для

цього в колби ємністю 50 мл вводили необхідної концентрації розчин нітрату міді (II) об'ємом 25 мл, туди ж вносили наважку адсорбенту – 0,3 г. Колби періодично перемішували при кімнатній температурі до встановлення рівноваги в системі. Адсорбент відділяли шляхом фільтрування, промивали двічі ацетонітрилом та сушили на повітрі. Контроль розподілу іонів міді проводили за рідкою фазою. З цією метою фільтрати повністю випаровували, до утвореного сухого залишку додавали 2 мл концентрованої азотної кислоти та при нагріванні розкладали можливих органічних домішки. Далі осад розчиняли у воді, рівноважну концентрацію іонів міді (II) у водних розчинах визначали методом атомно-абсорбційної спектроскопії (на спектрометрі Spectr AA 200-HT, Varian) або трилонометрично [5]. При прямому титруванні як індикатор застосовували мурексид. Рівноважну концентрацію іонів міді (II)

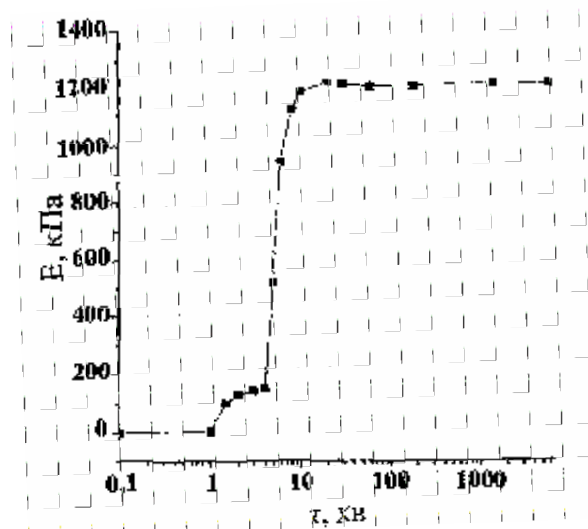


Рис. 1. Залежність рівноважного модуля еластичності зразка ПАПС від часу.

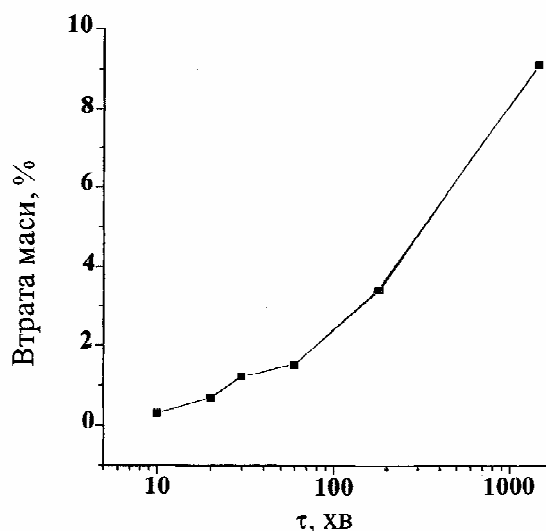


Рис. 2. Залежність втрати маси гелю ПАПС від часу.

у фазу адсорбенту ( $C_{Cu}^S$ ) обчислювали за різницею між вихідною ( $C_{Cu}^0$ ) та рівноважною концентраціями іонів міді (II) ( $C_{Cu}$ ) в ацетонітрилі.

Дослідження антимікробних властивостей комплексу іонів міді (II) на поверхні ПАПС проводили шляхом його інкубування з культурами мікроорганізмів протягом різного часу, після чого мікроорганізми пересівали на поживне середовище (агар-ендо) та спостерігали за їх ростом. Дані мікробіологічних досліджень наведено в таблиці 1.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Методика золь-гель-синтезу характеризується утворенням гелів у відповідних умовах та за певний проміжок часу. Найчастіше перебіг золь-гель-процесу характеризують за зміною в'язкості системи [7, 8]. У нашому ж випадку (під час реакції гідролітичної поліконденсації з утворенням ПАПС) процес гелеутворення відбувався майже миттєво – протягом декількох хвилин. Тому динаміку структуроутворення гелю визначали шляхом контролю рівноважного модуля еластичності ( $E_s$ ), що дозволяє зафіксувати час утворення просторово зшитого полімеру (власне, структури гелю). На рисунку 1 наведено графік залежності  $E_s$  ПАПС від часу, що минув з моменту додання води до вихідної суміші силанів. З цього рисунка видно, що процес гелеутворення перебігає в декілька етапів. Перший етап триває до 1 хв та не супроводжується значними змінами модуля еластичності. Це, ймовірно, пов'язано з початком гідролізу вихідних силанів та формуванням олігомерних продуктів поліконденсації. Другий етап гелеутворення триває від 1 до 4 хв, коли відбувається значне наростання модуля еластичності, яке далі дещо уповільнюється. Саме в цей час візуально спостері-

гаються “схоплювання” гелю та наростання у ньому опалесценції. Дані явища свідчать про початок формування просторово зшитих полімерів у всьому об'ємі зразка, коли при конденсації полімерних молекул виділяється значна кількість води, що спричиняє подальше прискорення зшивання ПАПС на третьому етапі гелеутворення – приблизно з 4 до 11 хв. На графіку це відображено у вигляді стрімкого зростання  $E_s$  зразка, що після 11 хв від початку експерименту набуває постійного значення та вже не змінюється у часі. Таким чином, гелеутворення відбувається у декілька стадій, і процес структуроутворення гелю завершується в основному протягом десятків хвилин. Подальші зміни у структурі гелю пов'язані з випаровуванням інтерміцелярної рідини, що спричиняє втрату маси гелю. Залежність втрати маси гелю ПАПС від часу наведено на рисунку 2. Як видно з цього рисунка, протягом періоду від 10 хв до 24 год з моменту початку експерименту відбувається втрата маси зразка, і крива залежності втрати маси від часу має нелінійний характер. Проведені дослідження дали змогу визначити оптимальний час дозрівання гелю – 24 год.

В ході золь-гель-синтезу та подальшої обробки зразка (промивання та сушки) було отримано ксерогель ПАПС у вигляді білого порошку. За допомогою методів скануючої та трансмісійної електронної мікроскопії підтверджено глобулярну структуру ПАПС. На рисунках 3 і 4 наведено SEM- і TEM-мікрофотографії синтезованої речовини, з яких видно, що ПАПС являє собою скупчення часточок глобулярної форми, які утворюють просторово зшиті конструкції – скелет ксерогелю. Отриманий адсорбент має розвинуту питому поверхню, визначену за низькотемпературною адсорбцією азоту, – 242 м<sup>2</sup>/г, а сорбційний об'єм становить 0,73 см<sup>3</sup>/г [1]. Розвинута питома поверхня ПАПС та наявність на ній аміногруп дають можливість використовувати цей матеріал для адсорбції іонів металів з розчинів. Нами було проведено дослідження адсорбції іонів міді (II) з ацетонітрильних розчинів, що дозволило визначити сорбційну ємність для синтезованого зразка ПАПС. Вона становила 1,7×10<sup>3</sup> моль/г. Вивчення комплексу міді (II) на поверхні ПАПС-матриці методами ЕПР-спектроскопії та електронної спектроскопії дифузного відбиття показало, що склад цього комплексу відповідає співвідношенню Cu:N:O=1:2:2 [6].

Комплексну сполуку іонів міді (II) з поверхнею ПАПС було досліджено як антимікробний препарат. Експеримент проводили на 5 культурах мікроорганізмів, а саме: Staph.aureus

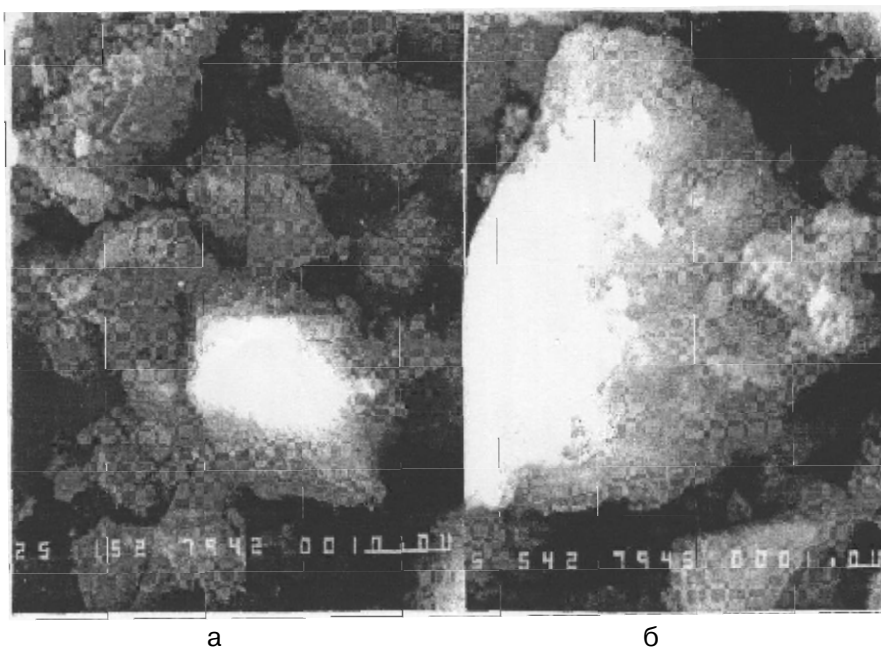


Рис. 3. SEM-мікрофотографії зразка ПАПС: а – при збільшенні  $\times 1500$ ; б – при збільшенні  $\times 5400$ .

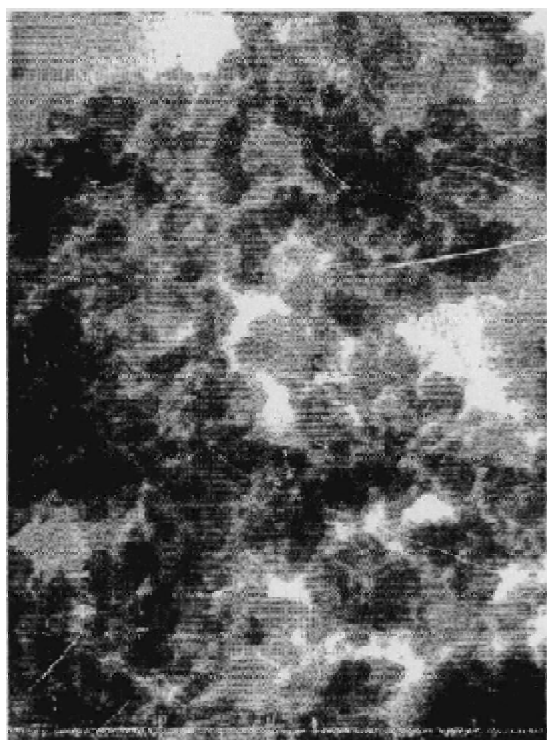


Рис. 4. TEM-мікрофотографія ксерогелю ПАПС (збільшення  $\times 150\,000$ ).

25923, *Ps.aeruginosa* 27853, *Candida* 885/663, *Cl.perfringens* 27 та *H.pylori* 1 (табл. 1). Як видно з таблиці 1, висока антимікробна активність комплексу  $\text{Cu}^{2+}$ -ПАПС спостерігається відносно штамів *Ps.aeruginosa* 27853 (синьогнійної палички) та *H.pylori* 1, що викликає виразкову хворобу шлунка та дванадцятипалої кишки – час повної загибелі мікроорганізмів в обох випадках складав 120 хв.

В літературі [4] є дані про дослідження бактерицидних властивостей металокомплексополіорганосилоксанів, що містять триядерні комплекси іонів міді (II). Їх антимікробну активність досліджували відносно штаму кишкової палички *E.Coli* 0,24 шляхом висіву мікробних клітин на пластини агару-ендо (по 1 мл суспензії *E.Coli* 0,24) після контакту з комплексами міді (II) та мікроскопічного контролю рівня обсіменіння через 20 хв. При цьому зразки описаних в [4] комплексів міді (II) демонстрували такі значення часу повної загибелі мікробних клітин: від 120 до 360 хв залежно від величини питомої поверхні зразків.

Порівняльний аналіз даних таблиці 1 й літератури дозволяє зробити висновок про

Таблиця 1 – Антимікробні властивості комплексу  $\text{Cu}^{2+}$ -ПАПС

Штам мікроорганізмів	Час інкубації, після якого ще спостерігається ріст мікроорганізмів, год	Час повної загибелі мікроорганізмів, год
<i>Staph.aureus</i> 25923	6	24
<i>Ps.aeruginosa</i> 27853	1	2
<i>Candida</i> 885/663	24	48
<i>Cl.perfringens</i> 27	6	24
<i>H.pylori</i> 1	1	2

високу бактерицидну активність комплексу  $\text{Cu}^{2+}$ -ПАПС. Такі комплекси можуть знайти застосування в медицині як антимікробні препарати контактної дії, а також для бактерицидного очищення питної води.

**ВИСНОВКИ.** 1. Встановлено, що комплекс  $\text{Cu}^{2+}$ -ПАПС має високу бактерицидну активність

та може бути використаний в медицині та для бактерицидного очищення питної води.

2. Визначено сорбційну ємність зразка ПАПС відносно іонів міді (II).

3. Методом контролю рівноважного модуля еластичності досліджено процес структуроутворення гелю ПАПС в ході синтезу і визначено час утворення просторово зшитого полімеру.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Зуб Ю.Л., Чуйко О.О., Стеченко О.В. Синтез, будова та структурно-адсорбційні характеристики деяких поліаміносилосанів // Допов. НАН України, – 2002. – №4. – С.150-156.

2. Круглицкий Н.Н. Физико-химические основы регулирования свойств дисперсий глинистых минералов. – Київ: Наук. думка, 1968. – 320 с.

3. Матковський О.К., Юрченко Г.Р., Стеченко О.В., Зуб Ю.Л. Вплив природи органічного розчинника на структурно-адсорбційні характеристики полі(3-амінопропіл)силоксану // Наукові записки Тернопільського держ. пед. університету ім. В.Гнатюка. Серія: Хімія. – 2000. – 4. – С. 40-45.

4. Патент України № 18977 А. Металокомплексополіорганосилоксани, що містять тріядерні комплекси іонів 3d-металів та алюмінію, як адсорбенти з

бактерицидними властивостями і способі їх одержання / Шевченко Ю.М., Яшина Н.І. – Опубл. 1997. – Бюл. № 6. – 5 с.

5. Шварценбах Г. Комплексонометрическое титрование. – М.: Гос. науч. тех. изд-во хим. лит., 1958. – 154 с.

6. Якубович Т.Н., Тесленко В.В., Зуб Ю.Л., Чуйко А.А. Изучение адсорбции меди (II) поли-(3-аминопропил)силоксаном // Химия, физика и технология поверхности. – 1997. – № 2. – С. 62-67.

7. Bailey J.K., Nagase T., Broberg S.M., Mecartney M.L. // J.of Non-Crystalline Solids. – 1989, – № 109. – P.198-210.

8. Vogelsberger W., Hoyer T., Opfermann J. // Zeitschrift fur Physikalisch Chemie. – 1992. – Bd.175. – P. 81-90.

**Е.В. Стеченко**

НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ А.А. БОГОМОЛЬЦА, КИЕВ

## АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА ПОВЕРХНОСТНОГО КОМПЛЕКСА ПОЛИ(3-АМИНОПРОПИЛ)СИЛОКСАНА С ИОНАМИ МЕДИ (II)

### Резюме

Получен поверхностный комплекс поли(3-аминопропил)силоксана с ионами меди (II) путем адсорбции из растворов и исследована его антимикробная активность. Также изучены изменения механических характеристик геля ПАПС в ходе синтеза и выяснены стадии протекания этого процесса.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** поли(3-аминопропил)силоксан, адсорбция ионов меди (II), золь-гель-метод, антимикробная активность.

**O.V. Stechenko**

O.O. BOHOMOLET'S NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY, KYIV

## ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF COMPLEX $\text{Cu}$ (II) LINKED WITH THE SURFACE OF POLY(3-AMINEPROPI)SYLOXANE

### Summary

The complex  $\text{Cu}$  (II) linked with the surface of poly(3-aminepropil)syloxane (PAPS) has been obtained by the adsorption from solutions and its antimicrobial activity have been investigated. Also changes of mechanical properties of PAPS-gel during the synthesis have been studied and the stages of the process have been elucidated.

**KEY WORDS:** poly(3-aminepropil)syloxane, adsorption of  $\text{Cu}$  (II) ions, sol-gel method, antimicrobial activity.

Отримано 12.11.09

Адреса для листування: О.В. Стеченко, вул. Драгоманова, 42-а, кв. 88, Київ-068, 02068, Україна.

## АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ ПЕРШОЇ ЛІНІЇ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В МОЗКУ ЩУРІВ ПУБЕРТАТНОГО ВІКУ В УМОВАХ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ

*Метою роботи було вивчення активності ферментів першої лінії антиоксидантного захисту в мозку щурів пубертатного віку при іммобілізаційному стресі. Встановлено, що тривала іммобілізація не супроводжується зміною активності каталази і супероксиддисмутази (СОД) у мозку щурів пубертатного віку. Після 30-хвилинної іммобілізації у 2-місячних тварин відбувається підвищення каталазної активності й величини СОД/каталаза в постмітохондріальній фракції мозку, а в 1,5- і 12-місячних щурів активність досліджених ферментів першої лінії антиоксидантного захисту залишається на вихідному рівні.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** пубертат, каталаза, супероксиддисмутаза, мозок.

**ВСТУП.** На сьогодні існують переконливі дані на користь того, що в пубертатному віці підвищується чутливість організму до несприятливих зовнішніх впливів, наслідком чого стає зростання рівня захворюваності в підлітків, пов'язаної з патологією ЦНС, серцево-судинної системи, шлунково-кишкового тракту та ін. [2-4, 12, 13]. З огляду на важливу роль стресу в етіології цих захворювань, можна припустити їх взаємозв'язок з підвищенням чутливості тканин внутрішніх органів до дії стресорів. Однією з центральних і неспецифічних ланок стресорного ушкодження внутрішніх органів є стимуляція в них вільнорадикальних процесів [7-10]. У зв'язку з цим, вікову зміну чутливості до стресу можна пов'язати з віковими змінами в стані системи антиоксидантного захисту. Беручи до уваги вищевикладене, метою роботи було вивчення активності ферментів першої лінії антиоксидантного захисту в мозку щурів пубертатного віку при іммобілізаційному стресі.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Роботу виконано на 72 щурах-самцях лінії Вістар трьох вікових груп: I – 1,5-місячних (ранній пубертат), II – 2-місячних (пізній пубертат) і III – 12-місячних (дорослі статевозрілі). У свою чергу, тварин кожної вікової групи поділили на 3 підгрупи: 1-ша – інтактні, 2-га – тварини, яких іммобілізували протягом 30 хв шляхом прив'язування спиною до нерухої опори, і 3-тя – тварини, яких піддавали дії тривалої іммобілізації. З цією метою тварин прив'язували до нерухої опо-

ри на 5 год на добу протягом 2 днів. Ефективність відтворення стресу оцінювали за рівнем 11-ОКС у крові.

Евтаназію проводили безпосередньо після припинення іммобілізації шляхом декапітації під легким ефірним наркозом. Видаляли головний мозок, поміщали в охолоджений до 4 °С ізотонічний розчин хлористого натрію, подрібнювали ножицями і гомогенізували в скляному гомогенізаторі Поттера-Ельвегейма у співвідношенні 1:10 (маса/об'єм) з розчином, що містить 320 мМ сахарози, 10 мМ Тріс і 1 мМ ЕДТА (рН 7,4). Гомогенати фільтрували через 2 шари марлі й центрифугували протягом 20 хв при 10 000 г. Надосадову рідину використовували в роботі як постмітохондріальну фракцію. Всі процедури проводили при 4-6 °С.

В постмітохондріальній фракції головного мозку визначали активність каталази (КФ 1.11. 1.6.) [1] і супероксиддисмутази (КФ 1.15. 1.1.) [5] та вміст білка [11].

Результати досліджень піддавали статистичній обробці з використанням непараметричного методу Wilcoxon-Mann-Whitney.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Дослідження показали, що активність супероксиддисмутази (СОД) у постмітохондріальній фракції мозку щурів пубертатного віку не відрізняється від такої у дорослих статевозрілих тварин (табл. 1). Разом із тим, активність каталази зі збільшенням віку тварин від 1,5 до 12 місяців поступово підвищується, досягаючи максимуму в дорослих статевозрілих щурів (табл. 2).

Таблиця 1 – Активність СОД у постмітохондріальній фракції мозку щурів, ОД/хв•мг білка

Підгрупи тварин	Вікові групи тварин		
	1,5-місячні	2-місячні	12-місячні
Інтактні	0,22±0,02	0,20±0,05	0,17±0,01
30-хвилинна іммобілізація	0,17±0,01	0,18±0,01	0,15±0,02
Тривала іммобілізація	0,27±0,04	0,19±0,01	0,25±0,02*

Примітка. Тут і в наступних таблицях за результатами досліджень на 5-6 тваринах: \* – до інтактних; \*\* – до інтактних 1,5-місячних.

Таблиця 2 – Активність каталази в постмітохондріальній фракції мозку щурів, мкмоль/хв•мг білка

Підгрупи тварин	Вікові групи тварин		
	1,5-місячні	2-місячні	12-місячні
Інтактні	1,40±0,41	3,03±0,49**	8,06±1,55**
30-хвилинна іммобілізація	2,12±0,45	4,96±0,33*	4,23±0,36
Тривала іммобілізація	3,28±0,80	3,19±0,62	7,35±2,24

При цьому для щурів пубертатного віку характерна більша величина співвідношення СОД/каталаза (табл. 3), ніж для дорослих статевозрілих тварин.

Короткочасна іммобілізація не супроводжується зміною активності СОД у мозку. Після тривалої іммобілізації активність СОД у дорослих тварин підвищується на 47 % порівняно з вихідною величиною. У щурів пубертатного віку активність ферменту не змінюється.

Активність каталази в постмітохондріальній фракції мозку дорослих щурів, яких піддавали дії короткочасної іммобілізації, залишається

на вихідному рівні, в 1,5-місячних тварин – має тенденцію до підвищення, а в 2-місячних щурів – зростає на 64 % порівняно з її вихідною величиною. Після тривалої іммобілізації у тварин всіх досліджених вікових груп активність даного ензиму в мозку не змінюється.

Виявлені при стресі зміни активності досліджених ферментів першої лінії антиоксидантного захисту в постмітохондріальній фракції мозку щурів різних вікових груп не супроводжуються зміною величини співвідношення активності СОД/каталаза порівняно з її вихідним рівнем.

Таблиця 3 – Співвідношення значень СОД/каталаза в постмітохондріальній фракції мозку щурів

Підгрупи тварин	Вікові групи тварин		
	1,5-місячні	2-місячні	12-місячні
Інтактні	0,193±0,088	0,068±0,007	0,028±0,007**
30-хвилинна іммобілізація	0,104±0,023	0,044±0,004	0,030±0,006
Тривала іммобілізація	0,070±0,010	0,070±0,010	0,040±0,010

Проведені дослідження дозволили виявити високу стійкість СОД до вікової зміни її активності в постмітохондріальній фракції мозку щурів у період від 1,5- до 12-місячного віку. У цей же період розвитку відбувається поступове зростання каталазної активності, що досягає свого максимуму в статевозрілому віці. Наслідком появи таких змін стає поступове підвищення величини співвідношення активності СОД і каталази (СОД/каталаза) від раннього пубертатного до статевозрілого віку. Беручи до уваги тісний взаємозв'язок у функціонуванні цих двох ензимів у захисті клітини від активних форм кисню [6], можна припустити, що зміна

співвідношення їх активності сприяє зміні ефективності функціонування ферментативної системи першої лінії антиоксидантного захисту в цитозолі нервових клітин.

Порівняльний аналіз отриманих результатів дозволяє говорити про поступове вікове збільшення потужності цієї системи в період розвитку від 1,5- до 12-місячного віку. З даної причини в пубертатному віці, особливо на його ранньому етапі, виникають передумови для підвищення чутливості мозку до дії прооксидантних факторів. З огляду на це, було проведено дослідження активності СОД і каталази у тварин, яких піддавали стресорному впливу різної тривалості.



Було встановлено, що короточасна іммобілізація не супроводжується зміною активності СОД у постмітохондріальній фракції мозку. Це характерно і для каталази мозку 1,5- і 12-місячних щурів. Разом із тим, у 2-місячних тварин після 30-хвилинної іммобілізації підвищується активність каталази. Одночасно в них зменшується величина співвідношення СОД/каталаза, в результаті чого вона наближається до її значення в дорослих щурів.

Таким чином, короточасна іммобілізація у щурів пізнього пубертатного віку супроводжується збільшенням активності каталази. Це сприяє підвищенню в них ефективності антиоксидантного захисту нервових клітин, що не характерно для тварин у віці раннього пубертату й дорослих щурів.

У результаті тривалої іммобілізації в дорослих щурів підвищується активність СОД. Однак це зрушення не супроводжується зміною в них величини співвідношення СОД/каталаза в постмітохондріальній фракції мозку. Разом із тим, у тварин пубертатного віку не відбувається модуляції активності досліджених ферментів. Усе це вказує на те, що в мозку щурів досліджених вікових груп під впливом тривалої іммобілізації не виникає умов для зміни потужності системи першої лінії антиоксидантного захисту.

Отримані результати свідчать про те, що при іммобілізаційному стресі не відбувається зміни активності ферментів першої лінії антиоксидантного захисту (СОД і каталази) у цитозолі нервових клітин. Вона залишається на

вихідному рівні, визначаючи тим самим можливість посилення проявів оксидативного стресу в мозку при іммобілізації тварин пубертатного віку. Більшою мірою це характерно для раннього, ніж для пізнього, періоду статевого дозрівання. До того ж, короточасний вплив стресора на 2-місячних тварин супроводжується появою в них адаптивних зрушень, спрямованих на підвищення потужності антиоксидантного захисту.

Резюмуючи вищевикладене, можна дійти висновку про те, що мозок щурів пубертатного віку проявляє більш високу чутливість до дії прооксидантних факторів стресу, ніж мозок дорослих тварин. Однак дане припущення вимагає спеціальної перевірки, що й стане предметом наших подальших досліджень.

**ВИСНОВКИ.** 1. У пубертатному віці, більшою мірою в його ранній період, обмежується ефективність функціонування ферментативної системи першої лінії антиоксидантного захисту в постмітохондріальній фракції мозку за рахунок обмеження активності каталази.

2. Тривала іммобілізація не супроводжується зміною активності каталази і СОД у мозку щурів пубертатного віку. Після 30-хвилинної іммобілізації у тварин пізнього пубертатного віку відбувається підвищення каталазної активності й величини СОД/каталаза в постмітохондріальній фракції мозку, а в 1,5- і 12-місячних щурів активність досліджених ферментів першої лінії антиоксидантного захисту залишається на вихідному рівні.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Барабой В.А., Орел В.Е., Карнаух И.М. Перекисное окисление липидов и радиация. – К.: Наукова думка, 1991. – 256 с.
2. Коренев М.М., Носова О.М. Клініко-гемодинамічні показники формування церебральних порушень у підлітків з первинною артеріальною гіпертензією // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2002. – № 2. – С. 15-18.
3. Коренев Н.М. Артериальная гипертензия у подростков // Прогнозування та профілактика артеріальної гіпертензії в дитячому та підлітковому віці: Збірник доповідей симпозіуму. – Харків, 2001. – С. 3-7.
4. Коренев Н.М., Богмат Л.Ф., Савво И.Д. и др. Особенности перестройки сердца и церебральных сосудов у подростков с первичной гипертензией // Вісник Вінницького держ. мед. університету. – 2003. – № 2. – С. 870-872.

5. Костюк В.А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // Вопросы мед. химии. – 1990. – **36**, № 2. – С. 28-35.
6. Сазонтова Т.Г., Архипенко Ю.В. Значение баланса прооксидантов и антиоксидантов – равнозначных участников метаболизма // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2007. – № 3. – С. 2-17.
7. Davydov V.V., Dobaeva N.M., Bozhkov A.I. Possible role of aldehyde's scavenger enzymes during aging // Exp.Gerontol. – 2004. – **39**. – P. 11-16.
8. Davydov V.V., Shvets V.N. Lipid peroxidation in the heart of adult and old rats during immobilization stress // Exp.Gerontol. – 2001. – **36**, № 5. – P. 1155-1160.
9. Kovacs P., Juranek I., Stankovicova T. et al. Lipid peroxidation during acute stress // Pharmazie. – 1996. – **51**, № 1. – P. 51-53.

11. Protein measurement with the Pholin phenol reagent Lowry O.H., Rosenbrough K.J., Farr A.L., Rendall K.I. // J. Biol. Chem. – 1955. – **193**, № 1. – P. 265-267.

12. Romeo R.D., McEwen B.C. Stress and the adolescent brain // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2006. – **1094**. – P. 226-234.

13. Toledo-Rodriguez M., Sandi C. Stress before puberty exerts a sex- and age-related impact on auditory and contextual fear conditioning in the rat // Neural Plast. – 2007. – **2007**. – P. 71203.

**Ю.В. Волкова**

*ИНСТИТУТ ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ АМН УКРАИНЫ, ХАРЬКОВ*

## **АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ПЕРВОЙ ЛИНИИ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В МОЗГЕ КРЫС ПУБЕРТАТНОГО ВОЗРАСТА, ПОДВЕРГНУТЫХ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМУ СТРЕССУ**

### **Резюме**

*Целью работы было изучение активности ферментов первой линии антиоксидантной защиты в мозге крыс пубертатного возраста при иммобилизационном стрессе. Показано, что длительная иммобилизация не сопровождается изменением активности каталазы и супероксиддисмутазы (СОД) в мозге крыс пубертатного возраста. После 30-минутной иммобилизации у 2-месячных животных происходит повышение каталазной активности и величины СОД/каталаза в постмитохондриальной фракции мозга, а у 1,5- и 12-месячных крыс активность исследованных ферментов первой линии антиоксидантной защиты остается на исходном уровне.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** пубертат, каталаза, супероксиддисмутаза, мозг.

**Yu.V. Volkova**

*INSTITUTE OF CHILDREN AND ADOLESCENT HEALTH CARE OF AMS OF UKRAINE, KHARKIV*

## **THE ACTIVITY OF FIRST LINE ANTIOXIDANT DEFENCE ENZYMES IN THE BRAIN OF RATS AT PUBERTAL AGE UNDER CONDITIONS OF IMMOBILIZATION STRESS**

### **Summary**

*The purpose of the present work is to study the activity of first line antioxidant defence enzymes in the brain of rats at pubertal age under conditions of immobilization stress. It has been shown that prolonged immobilization was not accompanied by a change in catalase and superoxide dismutase activity in the brain of rats at pubertal age. 30-minute immobilization of 2-month-old rats was accompanied by an increase in catalase activity and the value of SOD/catalase in postmitochondrial fraction of brain. In 1,5- and 12-month-old rats the activity of investigated first line antioxidant defence enzymes remains at its initial level.*

**KEY WORDS:** puberty, catalase, superoxide dismutase, brain.

*Отримано 18.05.09 р.*

**Адреса для листування:** Ю.В. Волкова, Інститут охорони дітей та підлітків АМН України, просп. 50-річчя ВЛКСМ, 52-А, Харків, 61153, Україна.

**КОМП'ЮТЕРНИЙ ПРОГНОЗ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ЯК ПЕРШИЙ  
ЕТАП СИНТЕЗУ S-ГЕТЕРИЛЗАМІЩЕНИХ L-ЦИСТЕЇНУ**

*Створено комбінаторну бібліотеку S-гетерилзаміщених L-цистеїну та їх аналогів. Проведено комп'ютерний прогноз загального біологічного потенціалу цих сполук. Для кожної речовини визначено найбільш імовірні фармакологічні ефекти з метою подальшого їх вивчення.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** комп'ютерний прогноз, біологічна активність, S-гетерилзаміщені L-цистеїну.

**ВСТУП.** У ряді важливих біологічно активних сполук, які використовують для одержання лікарських засобів широкої фармакологічної дії, одне з провідних місць займають похідні гетероциклічних систем піридину, хіноліну та акридину. В арсеналі сучасної медицини існує багато ефективних лікарських препаратів із групи похідних цих сполук. Серед них знайдено речовини, що проявляють протимікробну, протизапальну, антиоксидантну, діуретичну та інші види активності. Особливо цінною є можливість їх застосування для отримання засобів з протипухлинною, анальгетичною, нейротропною діями [2, 4, 6, 7, 9].

Не меншу зацікавленість викликає L-цистеїн, на основі якого створено декілька лікарських та ветеринарних препаратів, а ще низка препаратів проходить клінічні дослідження [3]. Серед його похідних найбільшу увагу привертає N-ацетил-L-цистеїн, який чинить виражену муколітичну, антиоксидантну, імунomodуючу, антиоксидантну дію [1].

Значний інтерес викликає можливість поєднання в одній молекулі гетероциклічної системи піридину, хіноліну чи акридину та L-цистеїну або N-ацетил-L-цистеїну, що може призвести до появи нових властивостей чи до посилення біологічної дії даних комбінованих сполук.

З огляду на це, пошук біологічно активних речовин серед S-гетерилзаміщених L-цистеїну та їх аналогів є актуальним, має теоретичну і практичну значущість.

Відомо, що пошук і створення нових лікарських препаратів супроводжуються ризиком отримання негативних результатів через можливе виявлення побічних ефектів і токсичності. Для раціонального використання

лікарських засобів, досягнення ними максимальної терапевтичної дії необхідно вже на стадії розробки отримати всебічну характеристику біологічної активності сполуки, дані про всі її лікувальні та можливі негативні ефекти.

Комп'ютерний прогноз основної та побічних дій фармакологічної речовини на ранніх стадіях вивчення дозволяє оптимізувати вибір досліджуваних базових структур і знизити сумарні затрати на дослідження та розробки [8].

Тому метою нашої роботи було створити комбінаторну бібліотеку біомолекул, що поєднують у собі структури гетероциклу (піридину, хіноліну, акридину чи тетрагідроакридину) та L-цистеїну або N-ацетил-L-цистеїну, провести віртуальний скринінг з використанням програми PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) та дослідити вплив зміни гетероциклічної системи в молекулі на прогнозовану біологічну активність.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Віртуальний скринінг сполук проведено за допомогою комп'ютерної програми PASS, метою якої є прогнозування всіх видів біологічної активності, котрі сполуки можуть проявити при взаємодії з біологічними мішенями. Прогноз здійснювали на основі аналізу численної навчальної вибірки, що містила інформацію про структуру відомих біологічно активних речовин та їх взаємодію з біологічними об'єктами. Найбільш сучасна версія програми (бета-версія PASS 2008, липень 2008) містить 200 126 біологічно активних речовин у навчальній вибірці та прогнозує приблизно 4000 найменувань біологічної активності із середньою точністю 94 %.

Для опису структури органічних сполук у PASS вибрано як основу структурну формулу. Це відповідає завданню прогнозу спектрів

активності нових, запланованих до синтезу (сконструйованих *in silico*), органічних сполук.

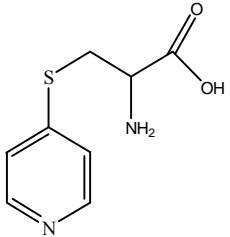
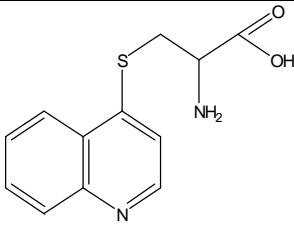
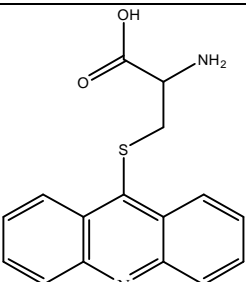
Результат прогнозу спектра біологічної активності наведено в PASS у вигляді упорядкованого списку назв відповідних активностей та вірогідностей Pa “бути активним” і Pi “бути неактивним” для прогнозованої сполуки, тобто величини Pa і Pi інтерпретують як оцінки міри належності речовини до класів активних та неактивних сполук [5, 10-12].

Таким чином, використання програми PASS дозволяє успішно представити як головні фармако-терапевтичні, так і побічні ефекти вже на стадії конструювання молекул

*in silico* до проведення реального хімічного синтезу та біологічного тестування.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Передбачення вірогідності прояву речовиною конкретних видів біологічної активності дозволяє визначити, які тести найадекватніші для вивчення біологічної активності конкретної хімічної речовини. З теоретично ймовірних можуть бути синтезовані тільки деякі похідні, що найбільшою мірою відповідають критеріям поставленого завдання. Результати попередньої оцінки загального біологічного потенціалу сполук наведено в таблицях 1-5.

Таблиця 1 – Результати прогнозу біологічної активності S-гетерилзаміщених L-цистеїну

№	Хімічна структура сполуки	Прогноз біологічної активності за PASS		
		Pi*	Pa*	вид біологічної дії
1	2	3	4	5
1		0,004 0,006 0,019 0,036 0,006 0,032 0,019 0,006 0,010 0,008 0,006 0,009 0,153 0,049 0,022 0,011	0,827 0,647 0,741 0,504 0,567 0,611 0,741 0,758 0,693 0,767 0,614 0,682 0,617 0,520 0,596 0,565	Антибактеріальна Протизапальна Нейропротектор Радіопротектор Фунгіцидна Антикоагулянт Психотропна Лікування автоімунних порушень Антинеопластична Гіполіпімічна Імуносупресант Антигельмінтна Кардіопротектор Хемопротектор Лікування септичного шоку Протикашльова
2		0,006 0,048 0,014 0,014 0,041 0,007 0,016 0,017 0,014 0,243 0,014 0,022 0,014 0,033	0,720 0,487 0,549 0,594 0,604 0,920 0,604 0,614 0,771 0,509 0,704 0,696 0,594 0,517	Антибактеріальна Антиоксидантна Протизапальна Лікування автоімунних порушень Нейропротектор Дерматологічна Психотропна Антигельмінтна Лікування психосексуальних дисфункцій Кардіопротектор Антинеопластична Гіполіпімічна Імуносупресант Антикоагулянт
3		0,020 0,028 0,002 0,037 0,015 0,037 0,028 0,131 0,015 0,007	0,828 0,836 0,936 0,528 0,601 0,523 0,601 0,510 0,525 0,618	Противіразкова Дерматологічна Психотропна Нейропротектор Лікування автоімунних порушень Антигельмінтна Антинеопластична Гіполіпімічна Протизапальна Імуносупресант

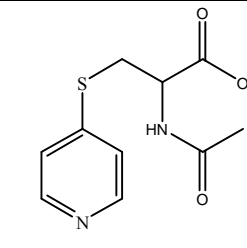
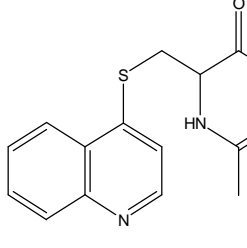
1	2	3	4	5
4		0,088 0,049 0,047 0,014 0,006 0,014 0,076	0,349 0,575 0,775 0,839 0,502 0,501 0,556	Антибактеріальна Лікування психосексуальних дисфункцій Противіразкова Дерматологічна Психотропна Імуномодулятор Гіполіпімічна

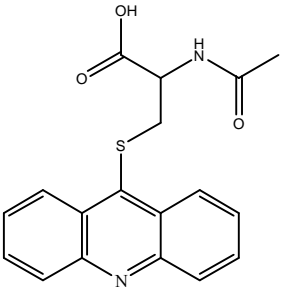
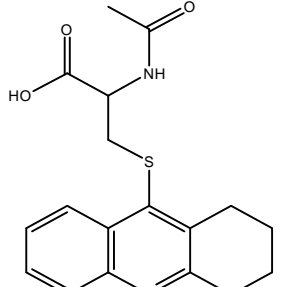
З таблиці 1 видно, що серед S-гетерилзаміщених L-цистеїну найбільш широкий спектр біологічної активності має речовина 1 (S-(піридин-4-іл)-L-цистеїн). Для цієї сполуки вірогідні найбільші значення антибактеріальної, проти-запальної, нейропротекторної, гіполіпімічної, антигельмінтної, кардіопротекторної та антикоагулянтної дій. Заміна піридинової гетероциклічної системи на іншу призводить до зменшення цих видів активності. Також тільки для сполуки 1 прогнозовано протикашльову, фунгіцидну, радіо- та хемопротекторну дії.

Антиоксидантна активність вірогідна тільки для S-(хінолін-4-іл)-L-цистеїну. Найменший спектр біологічної активності спостерігається для S-(1,2,3,4-тетрагідроакридин-9-іл)-L-цистеїну.

Серед S-гетерилзаміщених N-ацетил-L-цистеїну (табл. 2) найвужчий спектр біологічної активності також має S-(1,2,3,4-тетрагідроакридин-9-іл)-N-ацетил-L-цистеїн, а найширший – S-(хінолін-4-іл)-N-ацетил-L-цистеїн. Антиоксидантну активність прогнозовано для речовин 2–4, максимального значення вона досягла в S-(акридин-9-іл)-N-ацетил-L-цистеїну.

Таблиця 2 – Результати прогнозу біологічної активності S-гетерилзаміщених N-ацетил-L-цистеїну

№	Хімічна структура сполуки	Прогноз біологічної активності за PASS		
		Pi*	Pa*	вид біологічної дії
1	2	3	4	5
1		0,026 0,052 0,163 0,026 0,005 0,124 0,038 0,037 0,026 0,005	0,504 0,556 0,313 0,716 0,615 0,577 0,596 0,653 0,596 0,615	Лікування автоімунних порушень Нейропротектор Антибактеріальна Дерматологічна Психотропна Противіразкова Антинеопластична Гіполіпімічна Імуносупресант Антидот
2		0,006 0,043 0,010 0,010 0,022 0,071 0,045 0,090 0,022 0,010 0,101 0,010 0,030 0,062 0,031	0,664 0,503 0,566 0,573 0,544 0,470 0,544 0,559 0,573 0,686 0,579 0,796 0,544 0,503 0,657	Антибактеріальна Антиоксидантна Протизапальна Лікування автоімунних порушень Нейропротектор Хемопротектор Антианемічна Гіполіпімічна Антинеопластична Імуносупресант Антикоагулянт Дерматологічна Психотропна Лікування септичного шоку Лікування психосексуальних дисфункцій

1	2	3	4	5
3		0,012 0,017 0,029 0,002 0,008 0,085 0,007 0,016 0,078 0,028 0,007	0,548 0,647 0,570 0,899 0,726 0,614 0,605 0,642 0,575 0,570 0,710	Протикашльова Антибактеріальна Антиоксидантна Психотропна Дерматологічна Антикоагулянт Протизапальна Антинеопластична Гіполіпімічна Нейропротектор Імуносупресант
4		0,011 0,114 0,001 0,226 0,059	0,405 0,361 0,956 0,580 0,580	Антибактеріальна Антиоксидантна Психотропна Лікування автоімунних порушень Антинеопластична

S-гетерилзаміщені метилового ефіру L-цистеїну (табл. 3) демонструють досить широкий спектр корисної дії, серед якого найбільш вірогідна дерматологічна, протизапальна, антигельмінтна, антинеопластична, імуносупресорна, гіполіпімічна активності. Антиоксидантну активність прогнозовано для сполук 1–3.

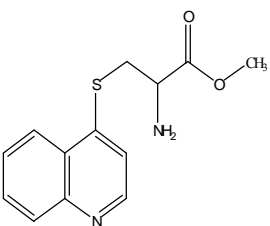
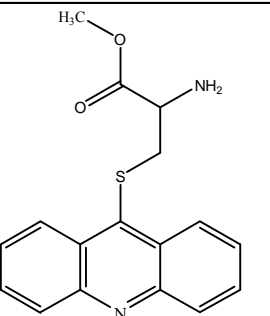
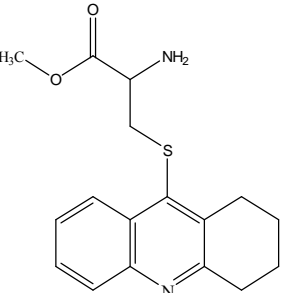
Як видно з таблиці 4, для S-гетерилзаміщених натрієвих солей L-цистеїну високу вірогідність прояву прогнозовано тільки для нейропротекторної, психотропної, дерматологічної та гіполіпімічної активностей. Антиоксидантна активність вірогідна для сполук 2–4, максимального значення вона досягала в натрієвої солі S-(акридин-9-іл)-L-цистеїну.

Серед усіх S-гетерилзаміщених L-цистеїну S-гетерилзаміщені N-сукциніл-L-цистеїну (табл. 5) мають найширший спектр біологічної активності. Усім 4-м сполукам прогнозовано антиоксидантну активність.

Таким чином, аналіз результатів комп'ютерного прогнозу демонструє досить широкий спектр біологічної активності досліджуваних сполук, які є перспективними препаратами для лікування автоімунних порушень, імуносупресантами, антикоагулянтами, нейро-, хемо-, радіо- та кардіопротекторами. Також можуть мати антибактеріальну, протизапальну, дерматологічну, противиразкову, антигельмінтну корисну дію.

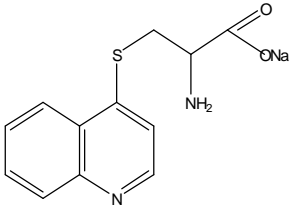
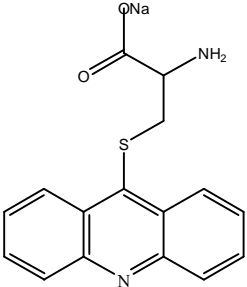
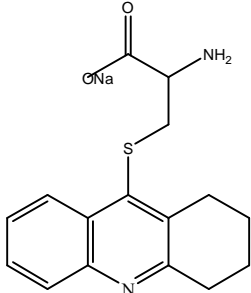
Таблиця 3 – Результати прогнозу біологічної активності S-гетерилзаміщених метилового ефіру L-цистеїну

№	Хімічна структура сполуки	Прогноз біологічної активності за PASS		
		Pi*	Pa*	вид біологічної дії
1	2	3	4	5
1		0,007 0,012 0,133 0,058 0,134 0,027 0,038 0,012 0,008 0,016 0,012 0,025 0,039	0,719 0,630 0,353 0,737 0,634 0,558 0,587 0,778 0,912 0,626 0,626 0,685 0,500	Антибактеріальна Протизапальна Антиоксидантна Антикоагулянт Кардіопротектор Антигельмінтна Психотропна Лікування автоімунних порушень Дерматологічна Лікування септичного шоку Імуносупресант Гіполіпімічна Антитоксична

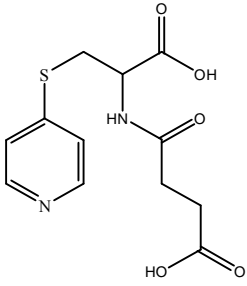
1	2	3	4	5
2		0,078 0,046 0,-46 0,078 0,013 0,027 0,041 0,046 0,217 0,006 0,059 0,054 0,046 0,044 0,018	0,417 0,515 0,664 0,417 0,901 0,466 0,511 0,585 0,548 0,579 0,606 0,477 0,515 0,589 0,736	Антиоксидантна Протизапальна Лікування автоімунних порушень Нейропротектор Дерматологічна Психотропна Антигельмінтна Імуносупресант Кардіопротектор Противиразкова Гіполіпімічна Антикоагулянт Лікування септичного шоку Антинеопластична Лікування психосексуальних дисфункцій
3		0,034 0,034 0,107 0,034 0,027 0,002 0,032 0,008 0,034 0,027 0,127 0,002	0,543 0,543 0,609 0,543 0,835 0,916 0,537 0,609 0,543 0,803 0,515 0,609	Антиоксидантна Протизапальна Лікування автоімунних порушень Нейропротектор Дерматологічна Психотропна Антигельмінтна Імуносупресант Антиоксична Противиразкова Гіполіпімічна Антинеопластична
4		0,083 0,133 0,033 0,041 0,051 0,016 0,018 0,056 0,015 0,012	0,393 0,517 0,514 0,510 0,567 0,892 0,587 0,596 0,556 0,540	Антибактеріальна Антикоагулянт Радіопротектор Антигельмінтна Лікування психосексуальних дисфункцій Дерматологічна Імуносупресант Гіполіпімічна Антиоксична Антинеопластична

Таблиця 4 – Результати прогнозу біологічної активності S-гетерилзаміщених натрієвої солі L-цистеїну

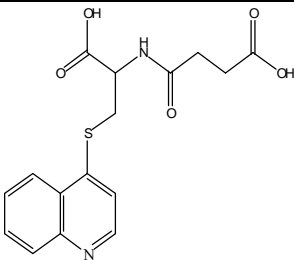
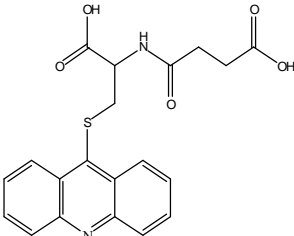
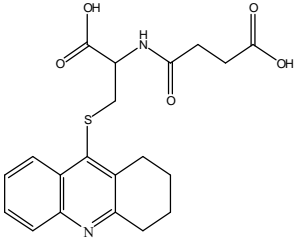
№	Хімічна структура сполуки	Прогноз біологічної активності за PASS		
		Pi*	Pa*	вид біологічної дії
1	2	3	4	5
1		0,006 0,013 0,005 0,033 0,005 0,013 0,010 0,067 0,013 0,024 0,042	0,666 0,487 0,912 0,535 0,912 0,487 0,907 0,470 0,470 0,690 0,431	Антибактеріальна Протизапальна Нейропротектор Антигельмінтна Психотропна Лікування автоімунних порушень Дерматологічна Лікування септичного шоку Імуносупресант Гіполіпімічна Антинеопластична

1	2	3	4	5
2		0,130 0,049 0,028 0,015 0,047 0,108 0,127 0,006 0,006 0,006	0,361 0,490 0,673 0,896 0,489 0,461 0,461 0,850 0,850 0,551	Антиоксидантна Антигельмінтна Лікування психосексуальних дисфункцій Дерматологічна Антинеопластична Протизапальна Лікування автоімунних порушень Нейропротектор Психотропна Противиразкова
3		0,085 0,179 0,006 0,020 0,002 0,036 0,047 0,040	0,415 0,540 0,884 0,885 0,920 0,525 0,629 0,540	Антиоксидантна Лікування автоімунних порушень Нейропротектор Дерматологічна Психотропна Антигельмінтна Гіполіпімічна Антинеопластична
4		0,163 0,140 0,007 0,038 0,001 0,061 0,010 0,089	0,316 0,450 0,829 0,853 0,963 0,466 0,425 0,559	Антиоксидантна Протизапальна Нейропротектор Дерматологічна Психотропна Антигельмінтна Противиразкова Гіполіпімічна

Таблиця 5 – Результати прогнозу біологічної активності S-гетерилзаміщених N-сукциніл-L-цистеїну

№	Хімічна структура сполуки	Прогноз біологічної активності за PASS		
		Pi*	Pa*	вид біологічної дії
1	2	3	4	5
1		0,011 0,006 0,083 0,026 0,217 0,045 0,019 0,006 0,007 0,014 0,006 0,023 0,038 0,019 0,124 0,048 0,064 0,027 0,043 0,020	0,811 0,763 0,412 0,726 0,548 0,501 0,544 0,718 0,787 0,569 0,695 0,692 0,588 0,533 0,416 0,459 0,470 0,603 0,526 0,637	Антибактеріальна Протизапальна Антиоксидантна Антикоагулянт Кардіопротектор Антигельмінтна Психотропна Лікування автоімунних порушень Дерматологічна Лікування септичного шоку Імуносупресант Гіполіпімічна Антитоксична Нейропротектор Анальгетична Фунгіцидна Спазмолітична Хемопротектор Ліпотропна Антинеопластична



1	2	3	4	5
2		0,007 0,008 0,058 0,039 0,060 0,032 0,008 0,010 0,036 0,008 0,048 0,058 0,033 0,051 0,062 0,038 0,027	0,722 0,621 0,461 0,562 0,476 0,519 0,609 0,788 0,468 0,678 0,627 0,492 0,519 0,515 0,466 0,624 0,609	Антибактеріальна Протизапальна Антиоксидантна Антикоагулянт Антигельмінтна Психотропна Лікування автоімунних порушень Дерматологічна Лікування септичного шоку Імуносупресант Гіполіпімічна Антитоксична Нейропротектор Хемопротектор Ліпотропна Лікування психосексуальних дисфункцій Антинеопластична
3		0,055 0,006 0,039 0,026 0,047 0,003 0,006 0,008 0,024 0,006 0,041 0,039 0,024 0,053 0,050 0,068 0,022	0,422 0,680 0,521 0,600 0,495 0,881 0,671 0,711 0,466 0,700 0,644 0,526 0,521 0,509 0,501 0,715 0,671	Антибактеріальна Протизапальна Антиоксидантна Антикоагулянт Антигельмінтна Психотропна Лікування автоімунних порушень Дерматологічна Лікування септичного шоку Імуносупресант Гіполіпімічна Антитоксична Нейропротектор Хемопротектор Ліпотропна Противиразкова Антинеопластична
4		0,009 0,009 0,073 0,044 0,074 0,001 0,009 0,012 0,009 0,069 0,036 0,089 0,031	0,639 0,568 0,427 0,516 0,445 0,949 0,619 0,589 0,619 0,589 0,427 0,439 0,619	Антибактеріальна Протизапальна Антиоксидантна Антикоагулянт Антигельмінтна Психотропна Лікування автоімунних порушень Дерматологічна Імуносупресант Гіполіпімічна Нейропротектор Хемопротектор Антинеопластична

Перспективним є пошук речовин з антинеопластичною, антиоксидантною, гіполіпімічною, ліпотропною, психотропною та іншими видами біологічної активності.

Важливий момент прогнозу досліджуваних сполук – відсутність у них високої токсичності, терато-, канцеро-, мутагенності та ембріотоксичності.

За рахунок зміни гетероциклічної системи для кожної сполуки зникають та з'являються індивідуальні види біологічної активності, величина вірогідності яких для кожної сполуки також індивідуальна.

ВИСНОВКИ. 1. Комп'ютерний скринінг показав, що S-гетерилзаміщені L-цистеїну та їх

аналоги проявляють комбінований спектр біологічної активності. Використаний підхід допомагає визначити, які види активності доцільно вивчати експериментально в кожній зі сполук, та знайти оптимальні напрямки для створення високоефективних лікарських засобів.

2. Зміна гетероциклічної системи в молекулі сприяє або появі нових властивостей, або збільшенню значень прогнозованої активності

порівняно з іншими похідними, що значно розширює можливості пошуку нетоксичних і селективних фармакологічних препаратів.

3. Використання даного методу дало можливість встановити, що синтез S-гетерилзаміщених L-цистеїну є перспективним, а створення комбінаторної бібліотеки оптимізує процес подальшої цілеспрямованої розробки досліджуваних сполук.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Антиоксидантные и антиоксические свойства ацетилцистеина // Укр. мед. часопис. – 1999. – **14**, № 6. – С. 74-80.

2. Бражко О.А. Біологічно активні похідні хіноліну та акридину з азото- та сірковмісними функціональними групами: Дис. ... д-ра біол. наук. – К., 2005. – 456 с.

3. Бражко О.А. L-цистеїн – синтон для створення біологічно активних речовин // Актуальні питання біології, екології та хімії: електронне наукове видання [Електронний ресурс] / Запорізький національний університет. – 2009. – **1**, № 1. – С. 4-15.

4. Завгородній М.П. Біологічна активність нових 4-тіопохідних хіноліну: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Запоріжжя, 2004. – 18 с.

5. Колесніков О.В., Черних В.П., Шемчук Л.А. PASS-скринінг похідних піримідину // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики: Матеріали Міжнарод. наук. конф. – Запоріжжя, 2004. – С. 192-199.

6. Омелянчик Л.А. Синтез, свойства и биологическая активность N- и S-замещенных акридина, хинолина и пиридина: Дис. ... д-ра фармац. наук. – Запорожье, 1991. – 367 с.

7. Омелянчик Л.О., Генчева В.І., Федоряк Д.М. та ін. Пошук біорегуляторів з антиоксидантною дією

серед S-похідних 4-меркаптохінолінів // *Ucrainica Bioorganica Acta*. – 2007. – № 2. – С. 17-24.

8. Омелянчик Л.О., Новосад Н.В. Прогнозування можливих видів біологічної активності в рядах S- та N-похідних акридину // Ліки. – 1998. – № 1. – С. 60-61.

9. Петруша Ю.Ю., Омелянчик Л.О. Перспективність пошуку нових біологічно активних речовин серед S-гетерилзаміщених L-цистеїну та їх аналогів // Сучасні проблеми біології, екології та хімії: Збірка матеріалів Міжнарод. конф., присвяченої 20-річчю біол. фак. ЗНУ. – Запоріжжя, 2007. – С. 559-560.

10. Поройков В.В., Филимонов Д.А., Глориозова Т.А. и др. Компьютерное предсказание биологической активности химических веществ: виртуальная хемогеномика // Вестник ВОГиС. – 2009. – **13**, № 1. – С. 137-143.

11. Поройков В.В., Филимонов Д.А. Прогноз спектра биологической активности органических соединений // Рос. хим. журн. (Журн. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). – 2006. – **1**, № 2. – С. 66-75.

12. Anzali S., Barnickel G., Cezanne B. et al. Discriminating between drugs and nondrugs by Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS) // *J. Med. Chem.* – 2001. – **15**, № 4. – P. 2432-2437.

**Ю.Ю. Петруша, Л.А. Омелянчик**  
ЗАПОРОЖСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

## КОМПЬЮТЕРНЫЙ ПРОГНОЗ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КАК ПЕРВЫЙ ЭТАП СИНТЕЗА S-ГЕТЕРИЛЗАМЕЩЕННЫХ L-ЦИСТЕИНА

### Резюме

Создана комбинаторная библиотека S-гетерилзамещенных L-цистеина и его аналогов. Проведен компьютерный прогноз общего биологического потенциала этих соединений. Для каждого вещества определены наиболее вероятные фармакологические эффекты с целью дальнейшего их изучения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: компьютерный прогноз, биологическая активность, S-гетерилзамещенные L-цистеина.

**Yu.Yu. Petrusha, L.O. Omelyanchik**  
ZAPORIZHYAN NATIONAL UNIVERSITY

## **THE COMPUTER FORECAST OF BIOLOGICAL ACTIVITY AS THE FIRST STAGE OF SYNTHESIS OF S-GETERYLSUBSTITUTES OF L-CYSTEINYU**

### **Summary**

*Combinatory library of S-geterylsubstitutes of L-cystein and its analogues is created. The computer forecast of the general biological potential of these connections is spent. For each substance the most probable pharmacological effects for their subsequent studying are defined.*

**KEY WORDS: computer forecast, biological activity, S-geterylsubstitutes of L-cystein.**

*Отримано 07.12.09*

**Адреса для листування:** Ю.Ю. Петруша, Запорізький національний університет, просп. Маяковського, 26, Запоріжжя, 69035, Україна.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

**ПОШУК ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ТА АНАЛГЕЗИВНИХ ЗАСОБІВ СЕРЕД ПОХІДНИХ ДІАРИЛІМІДАЗОЛІЄВИХ СОЛЕЙ**

*Проведено PASS-прогноз похідних діарилімідазолієвих солей, згідно з яким даним сполукам теоретично властива анальгезивна активність, малоімовірно – протизапальна. Експериментальна верифікація прогнозу показала відсутність протизапальної та наявності анальгезивної активності. Присутність галогенів у другому чи третьому положенні впливає на ступінь анальгезивного ефекту.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** діарилімідазолієві солі, анальгезія, протизапальна дія.

**ВСТУП.** Пошук нових знеболювальних і протизапальних засобів є важливим та актуальним і займає одне із центральних місць в сучасній фармакології [1, 3, 8]. Це пов'язано з недостатньою ефективністю та безпекою сучасних нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ) і ненаркотичних анагетиків (НА), які вважають одними з головних у лікуванні болю [4, 9]. Пошук нових НПЗЗ та НА проводиться серед різних класів хімічних сполук, з яких одне із центральних місць займають азотисті гетероцикли. В останні десятиріччя у медичну практику впровадили такі препарати, як кеторолак, rimazolium, проводили комплексні дослідження зі створення неопіоїдного анагетика пемедолаку [10, 11]. Досить цікавими серед нових протизапальних та анальгезивних засобів є похідні піролу та імідазолу. Метою даної роботи був пошук нових анагетиків серед четвертинних діарилімідазолієвих солей.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Фармакологічний скринінг залежності між структурою, фізико-хімічними властивостями конденсованих імідазолвмісних гетероциклічних сполук було проведено з використанням PASS-прогнозу та подальшої експериментальної верифікації експериментальних даних [7]. Прогноз за допомогою PASS-програми, у режимі on line, з високою точністю оцінює вірогідність прояву речовиною різної біологічної активності. Прогноз проводили за структурною формулою сполук і обґрунтовували на основі знань, що включають у себе структурні формули і дані про активність біологічно активних сполук. При

цьому було здійснено прогноз 319 видів біологічної активності на основі аналізу “структура-активність” для навчальної вибірки, що містить більш ніж 45 000 сполук. У ході прогнозу вираховували вірогідність наявності (Pa) та вірогідність відсутності (Pi) біологічної активності.

Експериментальну верифікацію прогнозу було проведено на білих мишах обох статей масою (22±2) г, розведення віварію Інституту фармакології та токсикології АМН України”. Досліджувані речовини вводили внутрішньошлунково у дозах 1/10 ЛД<sub>50</sub>. Останню розраховували за методом В.Б. Прозоровського та співавторів [6]. Протизапальну активність досліджували на моделях карагенінового набряку. Критерієм оцінки слугував відсоток інгібіції набряку [8]. Оцінку анальгезивної активності проводили на моделі “гаряча пластина” [11]. Антиноцицептивний ефект визначали через 30, 60, 90 та 120 хв після введення досліджуваних сполук. Критерієм відбору слугувало збільшення латентного періоду реакції (час облизування задньої лапки миші) порівняно з вихідним значенням.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за [5].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Результати прогнозу наведено в таблиці 1. Досліджені четвертинні діарилімідазолієві солі з різною вірогідністю можуть проявляти достатньо широкий спектр активності, у тому числі пов'язаної з протизапальною та знеболювальною діями (кардіоваскулярна аналептична, агоністична дія на  $\alpha_2$ -адренорецептори, здатність впливати на 5-ліпооксигеназу, ГАМК та ін.). Слід сказати, що всі сполуки, за винятком

© О.Є. Ядловський, Т.А. Бухтіарова, 2010.

Таблиця 1 – PASS-прогноз активностей похідних 4,5-поліметиленімідазолію

Вид активності	Д-67		Д-62		Д-64		Д-65		Д-66		Д-67		Д-68		Д-69	
	Рв	РІ	Рв	РІ	Рв	РІ	Рв	РІ	Рв	РІ	Рв	РІ	Рв	РІ	Рв	РІ
Cardiovascular activity	0,849	0,009	-	-	-	-	0,736	0,035	-	-	-	-	-	-	-	-
Antinurotoxic	0,823	0,011	-	-	-	-	0,745	0,023	-	-	-	-	-	-	0,853	0,007
GA <sub>BA</sub> A receptor antagonist	0,763	0,01	0,768	0,009	0,762	0,010	-	-	0,744	0,013	0,757	0,011	0,629	0,005	0,674	0,031
Alpha 2 adrenoceptor agonist	0,756	0,022	0,641	0,041	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Interleukin 1 antagonist	0,63	0,012	-	-	0,621	0,013	0,556	0,025	0,613	0,014	0,644	0,01	0,630	0,012	-	-
GA <sub>BA</sub> A receptor agonist	0,614	0,005	0,485	0,006	-	-	0,439	0,007	-	-	0,550	0,006	0,712	0,020	-	-
Dopamine D4 agonist	0,591	0,080	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,681	0,050	-	-
Sigma receptor agonist	0,505	0,032	-	-	-	-	0,283	0,105	0,460	0,041	0,491	0,035	-	-	-	-
Acetylcholine release stimulant	0,532	0,072	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5 Lipoxygenase inhibitor	0,471	0,026	0,397	0,036	0,449	0,028	0,323	0,056	0,443	0,029	0,425	0,031	-	-	-	-
Troponin B2 antagonist	0,453	0,074	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GA <sub>BA</sub> receptor antagonist	-	-	0,505	0,051	-	-	-	-	0,376	0,023	-	-	0,347	0,163	-	-
Prostaglandin antagonist	-	-	0,423	0,091	0,436	0,080	-	-	0,509	0,038	0,510	0,038	0,459	0,056	0,522	0,033
Histamine release inhibitor	-	-	0,410	0,090	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Non-stereoidal antiinflammatory agent	-	-	-	-	0,603	0,005	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Antimigraine	-	-	-	-	0,551	0,007	-	-	-	-	-	-	0,357	0,027	0,397	0,017
Prostaglandin E2 antagonist	-	-	-	-	0,341	0,013	0,274	0,054	0,350	0,010	0,362	0,008	0,355	0,008	-	-
Antiinflammatory, intestinal	-	-	-	-	0,417	0,128	0,656	0,037	-	-	-	-	0,362	0,139	0,414	0,074
Cyclooxygenase inhibitor	-	-	-	-	-	-	0,352	0,22	-	-	-	-	-	-	0,245	0,057
Analgesic, non-opioid	-	-	-	-	-	-	-	-	0,658	0,019	-	-	-	-	0,476	0,055
Analgesic	-	-	-	-	-	-	-	-	0,525	0,041	-	-	-	-	0,32	0,127
Glutamate release inhibitor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,379	0,061	-	-	0,321	0,130
vanilloid antagonist	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,589	0,030

речовини Д-65, можуть впливати на ГАМК. Вірогідність цих ефектів коливається між 60 та 80 % для всього ряду. Вірогідність прояву сполуками протизапальної активності невелика. Вірогідність прояву активності, пов'язаної із запаленням, незначна. Так, Ра здатності впливати на 5-ліпооксигеназу, простагландин Е2, загальну протизапальну дію, хоча і є практично у всіх сполук, але вірогідність її прояву менша 50 %. Єдиний виняток – антипростагландинова активність, що, можливо, притаманна сполукам Д-62, Д-64, Д-66, Д-67, Д-68, Д-69, Ра якої коливається між 42,3 та 52,3 % залежно від структури. Прояв знеболювальної активності, не пов'язаної із запаленням, найбільш вірогідний у сполуки Д-57. Цей прояв може полягати у впливі на адренергічну, дофамінергічну чи ГАМКергічну систему, що характерно для ад'ювантних аналгетиків [4]. Заміна метоксигруп у Д-57 атомами хлору, бром, групи  $-SCHF_2$  (сполуки Д-65, Д-66, Д-67, Д-68, Д-69) призводить до можливого прояву агоністичного впливу на сигма-рецептори, антимігренової активності, впливу на ванілоїдний рецептор, інгібіцію глутамату, загальноаналгетичної чи неопіоїдної аналгетичної активності. Але вірогідність прояву цих активностей, як правило, не перевищує 50 %.

Підсумовуючи дані прогнозу, можна з великою часткою вірогідності сказати, що досліджені похідні (четвертинні діарилімідазолієві солі) малоперспективні як нестероїдні протизапальні засоби у зв'язку з низькою вірогідністю проявів протизапальної активності. З іншого боку, дані структури можуть проявляти антиноцицептивний ефект, не пов'язаний із впливом на ланки метаболізму арахідонової кислоти.

Дані експериментальної верифікації прогнозу наведено в таблиці 2. Всі досліджені солі

1,3-діарил-4,5-поліметиленімідазолію проявляють досить високу токсичність. За рівнем токсичності їх можна віднести до високотоксичних [2]. Сполука Д-64 проявляла досить високу токсичність,  $LD_{50}$  для якої становила 0,43 мг/кг. Тому вивчення протизапальної та аналгетичної активності даної сполуки не проводили.

Всі досліджені сполуки проявили низьку протизапальну активність або взагалі вона була відсутня на моделі “карагенінового набряку”. Введення галогенів, замість метоксигруп, у сполуку Д-57 не викликало покращення антинабрякового ефекту (табл. 2).

Сполука Д-57 проявляла значну (збільшення латентного періоду більше ніж на 100 %) і тривалу (понад 2 год) антиноцицептивну дію на моделі супраспінальної ноцицептивної стимуляції “гаряча пластина”.

Введення атомів хлору, бром, чи групи  $-SCHF_2$ , замість метоксигруп, у 2 чи 3 положенні -4,5-поліметиленімідазолію викликало деяке зниження антиноцицептивної активності всіх досліджених сполук. Але практично у всіх досліджених речовин, за винятком Д-64, спостерігалось вірогідне збільшення антиноцицептивного ефекту, величина якого коливалась між достовірними величинами 20,2 та 96,6 %.

Підсумовуючи отримані дані, можна сказати, що в цілому прогноз збігся з експериментальною верифікацією. Похідним 4,5-поліметиленімідазолію притаманна антиноцицептивна активність на фоні відсутності протизапальної активності й високої токсичності.

**ВИСНОВКИ.** 1. Згідно з PASS-прогнозом діарилімідазолієві солі з низькою вірогідністю проявлять протизапальну активність.

2. Досліджені сполуки можна віднести до високотоксичних.

Таблиця 2 – Токсичність, протизапальна та аналгезивна активність похідних конденсованих поліметиленімідазолів

Сполука	$LD_{50}$ мг/кг	Карагеніновий набряк	“Гаряча пластина”, % зміни до вихідного через			
			30 хв	60 хв	90 хв	120 хв
Д-57	135	-22.6	+122.4*	+119.6*	+151.6*	+113.5*
Д-62	6.50	-5.4	+43.4*	+19.2*	+32.4	+30.6*
Д-63	3.20	+1.4	+59.6*	+96.6*	+73.3*	+11.6*
Д-65	8.90	+19.0	+20.7	+88.7	+58.5*	+52.3*
Д-66	4.47	-1.0	+10.8	+69.7*	+78.2*	+64.6
Д-67	7.43	-1.0	+6.2	+50.7*	+54.1*	+37.7
Д-68	4.47	-2.3	+20.2*	+55.7*	+73.5*	+80.3
Д-69	25.8	-26.1	+32.5*	+53.7	+48.7*	+68.8
Диклофенак натрію	130	-56.8	+100.4*	–	–	–

Примітка. \* –  $p < 0,05$ .

3. Заміна галогенами метоксигрупи у 2 чи 3 положенні -4,5-поліметиленімідазолію не впли-

ває на наявність протизапальної активності та впливає на прояв анальгетичної активності.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Брагин Е.О. Нейрохимические механизмы регуляции болевой чувствительности. – М.: Медицина, 1991. – 248 с.  
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. О.В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.  
3. Кай Бруне. Нестероидные противовоспалительные средства как анальгетики // *Pharmedicum*. – 1995. – № 1. – С. 5-7.  
4. Каннер Р. Секреты лечения боли: Пер. с англ. – М.: Издательство БИНОМ, 2006. – 400 с.  
5. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистика в науке и бизнесе. – К.: Морион, 2002. – 640 с.  
6. Прозоровский В.Б. Табличный экспресс-метод определения средних эффективных мер воздействия на биологические объекты // *Токсиколог. вестник*. – 1998. – № 1. – С. 28-32.  
7. Садым А.В., Лагуни А.А., Филимонов Д.А., Проишов В.В. Интернет-система прогноза спектра биологической активности химических соединений //

Химико-фармацевтический журнал. – 2002. – **36**, № 10. – С. 21-26.  
8. Тринус Ф.П., Мохорт Н.А., Клебанов Б.М. Нестероидные противовоспалительные средства. – К.: Здоров'я, 1975. – 240 с.  
9. Чурюканов В.В. Нейрохимический анализ и фармакологическая регуляция кортикофугальных механизмов контроля ноцицептивных сигналов в афферентных путях // *Эксперим. и клин. фармакол.* – 2003. – **66**, № 2. – С. 19-23.  
10. Goodman A., Gilman L. The pharmacological basis of Therapeutic (9<sup>th</sup> ed.). – New York: McGraw-Hill, 1996. – Ch. 27. – P. 836-932.  
11. Furst S., Gyires K., Knoll J. Analgesic profile of rimazolium as compared to different classes of pain killers // *Arzneimittelforschung*. – 1988. – **38**, № 4. – P. 552-557.  
12. Komlos E., Porsresr J., Knole J. Morfin – prostigmin synergismus // *Az. Acta. Physiologica. Acad. Scient. Hungaricae*. – 1950. – № 1. – P. 77-83.

**О.Е. Ядловский, Т.А. Бухтиарова**

*ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ АМН УКРАИНЫ, КИЕВ*

## ПОИСК ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ И АНАЛГЕЗИРУЮЩИХ СРЕДСТВ СРЕДИ ПРОИЗВОДНЫХ ДИАРИЛИМИДАЗОЛИЕВЫХ СОЛЕЙ

### Резюме

*Проведен PASS-прогноз производных диарилимидазолиевых солей, согласно которому данным структурам теоретически присуща анальгезирующая активность, маловероятно – противовоспалительная. Экспериментальная верификация прогноза показала отсутствие противовоспалительной и наличие анальгезирующей активности. Присутствие галогенов во втором или третьем положении влияет на степень анальгезирующего эффекта.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** диарилимидазолиевые соли, анальгезия, противовоспалительное действие.

**O.Ye. Yadlovsky, T.A. Bukhtiarova**

*INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF AMS OF UKRAINE, KYIV*

## SEARCH OF ANTIINFLAMMATORY AND ANALGESIC AGENTS AMONG DERIVATIVES SALTS OF DYARILIMIDAZOL

### Summary

*The PASS forecast of derivativse of diarylimidazol salts according to which theory antiinflammatory and analgesic activity is inherent in the yielded frames. Experimental verification of the forecast has shown the absence of antiinflammatory and presence of analgesic activity. The presence of halogens in the second or in the third position influences on the degree of analgesic effect.*

**KEY WORDS:** diarylimidazol salts, analgesic activity, antiinflammatory activity.

*Отримано 03.04.09 р.*

**Адреса для листування:** О.Є. Ядловський, Інститут фармакології та токсикології АМН України, вул. Е. Потье, 14, Київ, 03680, Україна.

**Т.В. Крупська<sup>1</sup>, А.В. Володькіна<sup>2</sup>, І.І. Геращенко<sup>1</sup>, Ю.В. Гладких<sup>3</sup>**  
 ІНСТИТУТ ХІМІЇ ПОВЕРХНІ ІМЕНІ О.О. ЧУЙКА НАН УКРАЇНИ<sup>1</sup>, КИЇВ  
 ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ<sup>2</sup>  
 ІНСТИТУТ КЛІТИННОЇ ТЕРАПІЇ<sup>3</sup>, КИЇВ

## ВИВЧЕННЯ БІОСТИМУЛЮВАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ПРЕПАРАТІВ ПЛАЦЕНТИ ЗА ДОПОМОГОЮ ДРІЖДЖОВОГО ТЕСТУ

*За допомогою модифікованого дріжджового тесту проведено порівняльне випробування препаратів плаценти людини, одержаних за різною технологією. Показано, що кріоконсервовані зразки гомогенату плаценти і кордової крові чинять більш виражений стимулювальний вплив на бродильну енергію дріжджових клітин порівняно з аптечним екстрактом плаценти для ін'єкцій.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** плацента, кордова кров, екстракт плаценти, дріжджові клітини, бродіння, газовиділення.

**ВСТУП.** У зв'язку з просуванням клітинних плацентарних препаратів на ринок космецевтиків, а також враховуючи перспективу їх використання у клінічній практиці, виникає потреба в об'єктивній оцінці їх ефективності. За фармакологічною активністю препарати плаценти відносять до біогенних стимуляторів [2]. Складовими механізми дії цих препаратів, який на даний час остаточно не з'ясовано, вважають зміну активності ряду ферментів, що беруть участь в окисидантних та антиоксидантних ланках ланцюга клітинного дихання [7], неспецифічне підвищення імунітету [3] тощо. Сьогодні офіційно зареєстрованими є завись та екстракт плаценти для ін'єкцій, які виготовляють з консервованого на холоді органа за методикою акад. В.П. Філатова.

Метою роботи було провести попереднє порівняльне випробування біостимулювальної активності кріоконсервованих препаратів плаценти, що містять клітинний матеріал, і відомого екстракту плаценти для ін'єкцій.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Для дослідження використовували аптечний екстракт плаценти для ін'єкцій виробництва ЗАТ "Біофарма" (м. Київ). Зразки кріоконсервованих плацентарних препаратів – гомогенату плаценти і плацентарної (кордової) крові – були люб'язно надані Інститутом клітинної терапії (м. Київ).

Для визначення активності біостимуляторів з природної сировини запропоновано кілька

тестів, прийнятих Фармакологічним центром як стандартні. Серед них – дріжджовий тест, який ґрунтується на здатності біопрепаратів прискорювати ріст і розмноження дріжджових клітин: після 17-20 год інкубації фотокolorиметрично визначають величину екстинкції, яка є показником накопичення біомаси, і встановлюють процент активності препарату відносно контролю [5].

Натомість нами був застосований тест визначення "бродильної енергії" дріжджів, який полягає у визначенні об'єму вуглекислого газу, що виділяється [6]. У колбу вносили 15 мл розчину сахарози, 5 мл дріжджової зависі (10 г сухих хлібопекарських дріжджів виробництва ЗАТ "Ензим" (м. Львів) на 100 мл дистильованої води) і додавали 1-5 мл біопрепарату. Поміщали в термостат. Через кожну годину протягом 10 год слідкували за зменшенням маси колби, реєструючи виділення вуглекислого газу. Колбу зважували на технічних вагах ВЛКТ-500 з точністю до 0,01 г. Перевага застосованої методики полягає у погодинному контролі за життєдіяльністю дріжджів, що дозволяє одержати певне уявлення про фази розвитку культури клітин. Було виконано дві серії дослідів, в яких варіювали концентрацію поживної речовини і температуру.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Кріоконсервовані плацентарні препарати містять нативний біологічний матеріал (біологічно активні речовини та клітини) [1, 4, 10], тоді як аптечний препарат значною мірою пред-

© Т.В. Крупська, А.В. Володькіна, І.І. Геращенко, Ю.В. Гладких, 2010.



ставлений продуктами автолізу, серед яких майже повний набір амінокислот, дикарбонові й оксикислоти, жирні кислоти, глікозаміноглікани, стероїдні гормони та інші сполуки [9].

В таблиці 1 наведено результати реєстрації газовиділення (г/л) від початку досліду й обчислено ступінь активації дріжджів (%) як відношення показника газовиділення в основному досліді до аналогічного показника у контрольному досліді за однаковий проміжок часу. На рисунках 1 і 2 зображено відповідний погодинний графік газовиділення. Як

видно, в цілому метаболічна активність дріжджових культур триває протягом близько 10 год, після чого активність різко знижується. Основний максимум газовиділення припадає на 4-5 год, а також реєструється підвищення активності на 1-й і 7-й год спостереження. Одержані дані свідчать про те, що за стимулювальним впливом на бродильну енергію дріжджів кріоконсервовані зразки гомогенату плаценти і кордової крові, навіть у меншій дозі, вірогідно перевершують аптечний препарат екстракту плаценти.

Таблиця 1 – Реєстрація сумарного газовиділення (г/л) і ступінь активації дріжджів (%) у першій серії дослідів. Інкубаційне середовище: 10 % розчин сахарози, t=25 °C

Час, год	Контроль (n=2)	Екстракт плаценти (ЗАТ "Біофарма"), 5 мл (n=2)	Гомогенат плаценти (Ін-т клітинної терапії), 1 мл (n=2)	Кордова кров (Ін-т клітинної терапії), 1 мл (n=3)
0	–	–	–	–
1	3,9±0,3	4,2±0,2	4,1±0,2	4,2±0,6
2	5,9±0,3	6,8±0,4	7,2±0,9	6,3±0,4
3	8,7±0,7	9,0±0,2	11,2±0,2	10,5±0,5
4	14,2±1,0	14,0±0,4	18,1±1,0	17,3±0,6
5	17,7±1,3	18,2±0,2	25,0±0,7	22,8±0,8
6	21,2±1,2	22,0±0,4	30,0±0,5	27,5±1,3
7	25,5±1,5	25,6±0,0	35,3±0,4	32,7±1,1
8	28,0±2,4	28,6±0,2	39,5±0,5	36,2±1,1
9	30,2±3,0	31,2±0,0	42,7±0,2	39,5±1,3
10	32,0±3,6	33,2±0,0 **	45,0±0,8*	42,3±1,4*
Активаци- ція, %	0-5 год	100	103±1 **	141±4 *
	0-10 год	100	104±0 **	141±3*

Примітка. \* – p<0,1 відносно контрольного досліді і p<0,01 відносно екстракту плаценти; \*\* – немає вірогідного розходження порівняно з контролем.

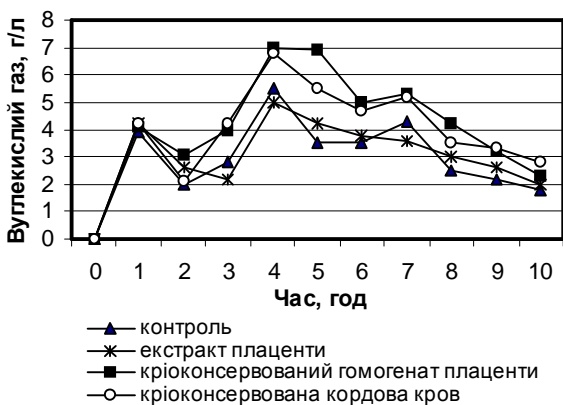


Рис. 1. Графік погодинного газовиділення у першій серії дослідів.

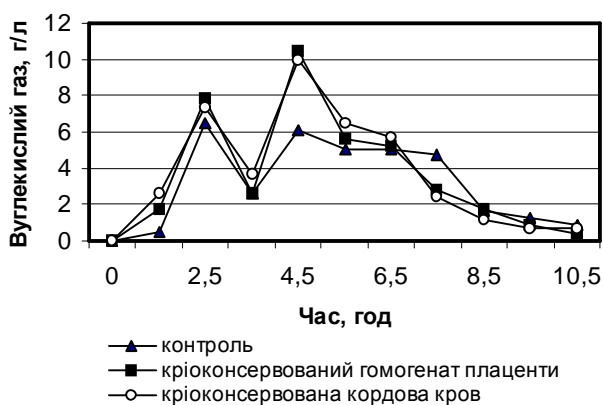


Рис. 2. Графік погодинного газовиділення у другій серії дослідів. Інкубаційне середовище: 17 % розчин сахарози, t=26-27 °C.

У другій серії експериментів, де було змінено концентрацію сахарози в інкубаційному середовищі, коливальний характер газовиді-

лення зберігається, причому основний максимум знову ж припадає на 4-5 год. Отже, одержану закономірність не можна розглядати як

артефакт. Подібний коливальний характер росту популяції мікроорганізмів, який може спостерігатися за певних умов, описано в літературі, для нього розроблено відповідну математичну модель [8]. Ступінь активації у другій серії за період 0-5 год у дослідях з кріопрепаратами становить 145-150 % (аптечний препарат в цій серії не досліджували).

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ломакин М.С., Арцимович Н.Г. Биологически активные вещества, ассоциированные с плацентой // Акушерство и гинекология . – 1991. – № 9. – С. 6-10.
2. Машковский М.Д. Лекарственные средства. – М.: Медицина, 1994. – Ч. 2. – 688 с.
3. Прикладная иммунология / Под ред. А.А. Сохина, Е.Ф. Чернушенко. – К.: Здоров'я, 1984. – 320 с.
4. Рябчиков О.П., Кузнецова Л.В., Назимова С.В. и др. Гормональный и клеточный состав препаратов фетальных тканей человека // Бюлл. эксп. биол. и мед. – 1998. – 126, Приложение 1. – С. 156-157.
5. Соловйова В.П., Сотнікова О.П., Лотош Т.Д. Експериментальне вивчення біостимуляторів з природної сировини // В кн.: Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / За ред. О.В. Стефанова. – К.: МОЗ України, ДФЦ, Авіценна, 2001. – С. 497-502.

**ВИСНОВОК.** За стимулювальним впливом на життєдіяльність дріжджових клітин кріоконсервовані зразки гомогенату плаценти і кордової крові вірогідно перевершують аптечний препарат екстракту плаценти для ін'єкцій. Як один з етапів дослідження механізмів активуючої дії кріопрепаратів плаценти доцільно провести вивчення їх біохімічних показників.

6. Технологический процесс получения биогенных стимуляторов. – Фрунзе: Киргиз. гос. мед. ин-т, 1983. – 30 с.
7. Фармацевтична енциклопедія / За ред. В.П. Черних. – К.: МОРІОН, 2005. – 848 с.
8. Хаїмзон І.І., Желіба В.Т. Основи медичної інформатики. – К.: Вища школа, 1998. – 181 с.
9. Чикало І.І. Образование биогенных стимуляторов и химический состав тканевых препаратов // В кн.: Тканевая терапия / Под ред. Н.А. Пучковской. – К.: Здоров'я, 1975. – 208 с.
10. Шепітько В.І. Структурно-функціональні показники кріоконсервованої плаценти і вплив її трансплантації на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Харків, 2004. – 40 с.

**Т.В. Крупская<sup>1</sup>, А.В. Володькина<sup>2</sup>, И.И. Герашенко<sup>1</sup>, Ю.В. Гладких<sup>3</sup>**  
ИНСТИТУТ ХИМИИ ПОВЕРХНОСТИ ИМЕНИ А.А. ЧУЙКО НАН УКРАИНЫ<sup>1</sup>, КИЕВ  
ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ<sup>2</sup>  
ИНСТИТУТ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ<sup>3</sup>, КИЕВ

## ИЗУЧЕНИЕ БИОСТИМУЛИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТОВ ПЛАЦЕНТЫ С ПОМОЩЬЮ ДРОЖЖЕВОГО ТЕСТА

### Резюме

С помощью модифицированного дрожжевого теста проведено сравнительное испытание препаратов плаценты человека, полученных разными методами. Показано, что криоконсервированные образцы гомогената плаценты и кордовой крови оказывают более выраженное стимулирующее влияние на брождильную энергию дрожжевых клеток в сравнении с аптечным экстрактом плаценты для инъекций.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** плацента, кордовая кровь, экстракт плаценты, дрожжевые клетки, брожение, газовыделение.

**T.V. Krupskaya<sup>1</sup>, A.V. Volod'kina<sup>2</sup>, I.I. Herashchenko<sup>1</sup>, Yu.V. Hladkikh<sup>3</sup>**  
O.O. CHUIKO INSTITUTE OF SURFACE CHEMISTRY OF NAS OF UKRAINE<sup>1</sup>, KYIV  
ZAPORIZHYAN STATE MEDICAL UNIVERSITY<sup>2</sup>  
INSTITUTE OF CELL THERAPY<sup>3</sup>, KYIV

## STUDY OF BIOSTIMULATORY EFFECT OF PLACENTA PREPARATIONS BY YEAST GROWTH TEST

### Summary

By the help of modified yeast growth test a comparative study of different preparations elaborated from human placenta was carried out. As was shown, the cryopreparations of placenta homogenate and cord blood stimulated the yeast cells more actively in comparison with the commonly used extract of placenta for injections.

**KEY WORDS:** placenta, cord blood, extract of placenta, yeast cells, fermentation, gas evolution.

Отримано 18.05.09

Адреса для листування: І.І. Герашенко, вул. Ентузіастів, 35/1, кв. 14, Київ, 02154, Україна.

Н.В. Заїчко<sup>1</sup>, О.О. Пентюк<sup>2</sup>, А.В. Мельник<sup>2</sup>, О.І. Штатсько<sup>2</sup>  
 НДІ РЕАБІЛІТАЦІЇ ІНВАЛІДІВ ВІННИЦЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО МЕДИЧНОГО УНІВЕРСИТЕТУ  
 ІМЕНІ М.І. ПИРОГОВА<sup>1</sup>  
 ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ М.І. ПИРОГОВА<sup>2</sup>

## ВПЛИВ НАВАНТАЖЕННЯ ЦИСТЕЇНОМ НА ФЕРМЕНТНІ СИСТЕМИ МЕТАБОЛІЗМУ СІРКОВІСНИХ АМІНОКИСЛОТ В ПЕЧІНЦІ, НИРКАХ ТА МОЗКУ ЩУРІВ

*Досліджено вплив 4-тижневого навантаження цистеїном (250 мг/кг) на ферментні системи метаболізму сірковмісних амінокислот у печінці, нирках та мозку щурів. Установлено, що навантаження цистеїном викликає зменшення вмісту гомоцистеїну в сироватці крові та впливає на активність ферментів деградації сірковмісних амінокислот в органах щурів: підвищує активність цистеїндіоксигенази,  $\gamma$ -глутамілцистеїнсинтетази та знижує активність сульфітоксидази, S-аденозилметіонінсинтетази, бетаїнгомоцистеїнметилтрансферази, S-аденозилгомоцистеїнгідролази, цистатіонін- $\gamma$ -ліази. Активність цистатіонін- $\beta$ -синтази та цистеїнамінотрансферази збільшується в печінці й зменшується в нирках щурів з гіперцистеїнемією.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: цистеїн, ферменти, печінка, нирки, мозок.

**ВСТУП.** Причетність порушень обміну гомоцистеїну до розвитку численних патологічних станів, зокрема уражень серцево-судинної системи і тромбозів, уже не викликає сумнівів. Однак роль цистеїну, який присутній в організмі у значно більшій кількості, ніж гомоцистеїн, тривалий час залишалась без належної уваги. Нещодавно була доведена патогенетична роль гіперцистеїнемії як самостійного фактора ризику розвитку патології судин [1]. Інтерес до обміну цистеїну посилюється також і в зв'язку з тим, що ця амінокислота (АК) є головним джерелом для утворення високоактивних газових трансмітерів – гідроген сульфід ( $H_2S$ ) та діоксиду сірки ( $SO_2$ ) [11], які залучені до регуляції судинного тонуусу, нейромодуляції тощо.

Метаболізм сірковмісних АК метіоніну, гомоцистеїну та цистеїну (схема 1) тісно пов'язаний між собою: ці АК мають спільні шляхи деградації, а проміжні метаболіти відіграють роль регуляторів активності ферментів транссульфування та реметилування. Однак питання, як змінюється стан ферментних систем метаболізму сірковмісних АК та утворення їх біологічно активних похідних за умов перевантаження цистеїном, не з'ясовано.

Метою нашої роботи було вивчення впливу хронічного аліментарного навантаження

цистеїном на стан ферментних систем обміну сірковмісних АК у печінці, нирках та мозку щурів.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Для досліджень використано 20 білих безпородних щурів-самців масою 250-270 г, яких за 10 днів до початку експерименту та весь термін його проведення утримували на стандартній крохмально-казеїновій дієті, що містила всі незамінні харчові фактори, у тому числі й вітаміни [2], з водним режимом *ad libitum* та 12-годинним світловим режимом день/ніч. Гіперцистеїнемію викликали шляхом введення 10 щурам L-цистеїну в дозі 250 мг/кг 1 раз на добу інтрагастрально на 1 % розчині крохмалю (0,5 мл на 100 г маси щура) протягом 28 днів. Контрольну групу склали 10 тварин, яким 1 раз на добу інтрагастрально вводили відповідний об'єм 1 % розчину крохмалю. З дослідів щурів виводили шляхом декапітації під легким ефірним наркозом. Досліди виконували згідно з правилами гуманного ставлення до експериментальних тварин, затвердженими комітетом з біоетики Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова.

Печінку, мозок, нирки гомогенізували при 3000 об./хв у середовищі 1,15 % калію хлориду у співвідношенні 1:4. Для досліджень використовували пост'ядерну фракцію, яку отримували шляхом центрифугування гомогенатів при 600 g та  $t=4$  °C упродовж 30 хв.

© Н.В. Заїчко, О.О. Пентюк, А.В. Мельник, О.І. Штатсько, 2010.

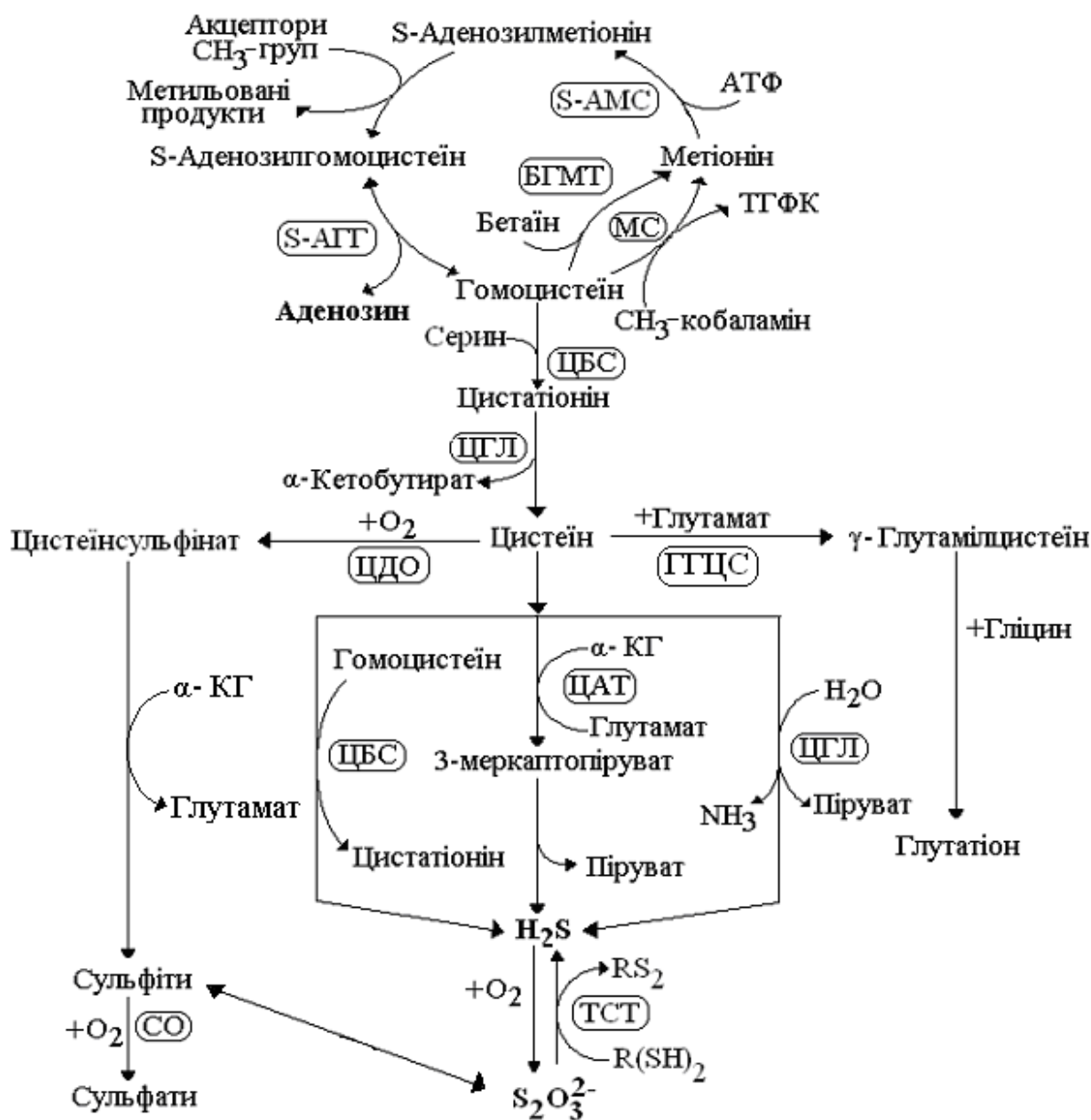


Схема 1. Шляхи деградації сірковмісних амінокислот.

Примітки:

1. Ферменти шляху метилювання: S-AMC – S-аденозилметіонінсинтетаза (КФ 2.5.1.6); S-AHG – S-аденозилгомоцистеїнгідролаза (КФ 3.3.1.1); БГМТ – бетаїнгомоцистеїнметилтрансфераза (КФ 2.1.1.5); МС – метіонінсинтетаза (КФ 2.1.1.13).

2. Ферменти шляху транссульфування: ЦБС – цистатіонін-β-синтаза (КФ 4.2.1.22); ЦГЛ – цистатіонін-γ-ліаза (КФ 4.4.1.1); ЦАТ – цистеїнамінотрансфераза (КФ 2.6.1.3).

3. Ферменти окиснювального та кон'югаційного шляхів: ЦДО – цистеїндіоксигеназа (КФ 1.13.11.20); ГГЦС – γ-глутамілцистеїнсинтетаза (КФ 6.3.2.2); ТСТ – тіосульфатдитіолсульфуртрансфераза (КФ 2.8.1.5); СО – сульфітоксидаза (КФ 1.8.3.1).

У таблиці 1 наведено склад інкубаційних середовищ, використаний для оцінки активності ферментів метаболізму сірковмісних АК. Концентрацію компонентів інкубаційних середовищ та оптимальні умови дослідження було підбрано завчасно. Десульфуразну активність

цистатіонін-β-синтази – ЦБС (КФ 4.2.1.22), цистатіонін-γ-ліази – ЦГЛ (КФ 4.4.1.1), цистеїнамінотрансферази – ЦАТ (КФ 2.6.1.3) та активність тіосульфатдитіолсульфуртрансферази (КФ 2.8.1.5) оцінювали за утворенням H<sub>2</sub>S, який визначали за реакцією з N,N-диметил-пара-

Таблиця 1 – Склад інкубаційних середовищ для визначення активності ферментів обміну сірковмісних амінокислот

Фермент	Склад інкубаційних середовищ (кінцеві концентрації)
ЦГЛ, десульфуразна активність	Піридоксальфосфат 0,67 мМ, L-цистеїн 3,3 мМ, трис-буфер 0,083 М (рН 8,5)
ЦГЛ, цистатіоназна активність	Піридоксальфосфат 0,25 мМ, цистатіонін 4 мМ, трис-буфер 0,01 М (рН 7,4)
Сумарна десульфуразна активність ЦГЛ + ЦБС	Піридоксальфосфат 0,67 мМ, L-цистеїн 3,3 мМ, трис-буфер 0,083 М (рН 8,5), D,L-гомоцистеїн 3,3 мМ
ЦБС, десульфуразна активність (конденсація гомоцистеїну із цистеїном)	Різниця між сумарною десульфуразною активністю ЦГЛ і ЦБС та індивідуальною десульфуразною активністю ЦГЛ
ЦБС, цистатіонінсинтазна активність (конденсація гомоцистеїну із серином)	Піридоксальфосфат 0,578 мМ, D,L-гомоцистеїн 2,1 мМ, серин 8,16 мМ, трис-буфер 0,077 М (рН 8,6)
Сумарна десульфуразна активність ЦГЛ та ЦАТ	Піридоксальфосфат 0,67 мМ, L-цистеїн 3,3 мМ, трис-буфер 0,083 М (рН 8,5), $\alpha$ -кетоглутарат 0,825 мМ
ЦАТ, індивідуальна десульфуразна активність	Різниця між сумарною десульфуразною активністю ЦГЛ і ЦАТ та індивідуальною десульфуразною активністю ЦГЛ
Тіосульфатдитіол-сульфуртрансфераза	Тіосульфат натрію 0,2 мМ, дитіотреїтол 2,3 мМ, трис-буфер 0,09 М (рН 8,5)
Цистеїндіоксигеназа	L-цистеїн 0,5 мМ, дитіотреїтол 40 мкМ, трис-буфер 0,47 мМ (рН 7,4)

Примітки:

1. До 1 мл інкубаційного середовища додавали 0,1 мл гомогенату органа.
2. Інкубували при 37 °С.
3. Час інкубації для оцінки синтезу H<sub>2</sub>S ЦГЛ, ЦБС, ЦАТ в печінці та нирках становив 30 хв, у мозку – 120 хв, для ТСТ – 10 хв для всіх органів, для інших ферментів – 30 хв для всіх органів.

фенілендіаміном [14]. Цистатіоназну активність ЦГЛ визначали за утворенням цистеїну в реакції розщеплення цистатіоніну, активність ЦБС у реакції конденсації гомоцистеїну із серином – за утворенням цистатіоніну (вміст цистатіоніну визначали методом тонкошарової хроматографії на целюлозі [8]), активність цистеїндіоксигенази (КФ 1.13.11.20) – за зниженням вмісту цистеїну (вміст цистеїну визначали з нінгідриним реактивом у кислому середовищі [7]), активність S-аденозилгомоцистеїнгідролази (КФ 3.3.1.1) – в реакції вивільнення гомоцистеїну з S-аденозилгомоцистеїну за приростом SH-груп [10], активність сульфітоксидази (КФ 1.8.3.1) – за швидкістю окиснення сульфіт-аніона за присутності гексоціаноферрату калію [5].

Активність S-аденозилметіонінсинтетази (КФ 2.5.1.6), бетаїноцистеїнметилтрансферази (КФ 2.1.1.5),  $\gamma$ -глутамілцистеїнсинтетази (КФ 6.3.2.2) визначали, як описано [4, 6, 13], загальний рівень гомоцистеїну в сироватці крові – імуноферментним методом з використанням набору фірми "Axis-Shield" (Англія), вміст SH-груп – за відомою реакцією з реактивом Елмана.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою стандартних статистичних програм "MS Excel XP". Вірогідність відмінностей оцінювали за t-критерієм Стьюдента.

У роботі використано L-цистеїн, D,L-гомоцистеїн, L-метіонін, L-цистатіонін, аденозин,

бетаїн, АТФ фірми "Sigma" (США), а також L-серин,  $\alpha$ -кетоглутарат, дитіотреїтол, піридоксальфосфат фірми "Fluka" (Німеччина). Тіосульфат натрію, сульфід натрію, N,N-диметилпара-фенілендіамін та інші реактиви були вітчизняного виробництва.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Введення тваринам L-цистеїну в дозі 250 мг/кг протягом 28 днів викликало помірне підвищення рівня цистеїну в сироватці крові (на 36 %,  $p < 0,05$ ) – з  $(125,0 \pm 4,77)$  до  $(169,9 \pm 6,76)$  мкмоль/л, але спричинило деяке зменшення вмісту гомоцистеїну в сироватці крові – з  $(6,34 \pm 0,14)$  до  $(4,73 \pm 0,15)$  мкмоль/л (на 25,4 %,  $p < 0,05$ ). Механізми індукованого цистеїном зниження рівня гомоцистеїну не з'ясовано. Висловлюється думка, що за умов надлишку цистеїну гомоцистеїн витісняється зі змішаних дисульфідів (типу білок-гомоцистеїн), а замість нього інкорпорується цистеїн. Витіснений з білків гомоцистеїн, очевидно, піддається швидкій деградації, що і зумовлює зниження його рівня в сироватці крові. Антагоністичні співвідношення між гомоцистеїном та цистеїном деякою мірою підтверджуються встановленням достовірного оберненого кореляційного зв'язку ( $r = -0,58$ ) між рівнями цих АК у тварин, які отримували навантаження цистеїном. На користь того факту, що при гіперцистеїнемії в білках відбувається заміна однієї

сірковмісної АК на іншу, свідчить те, що загальний рівень вільних білкових SH-груп в сироватці крові щурів з навантаженням цистеїном практично не змінився (з  $(7,69 \pm 0,38)$  до  $(7,86 \pm 0,32)$  мкмоль/л).

Тривале навантаження щурів цистеїном викликало зміни активності ферментів, що брали участь в перетворенні цистеїну з утворенням  $H_2S$  (табл. 2). Було виявлено, що в печінці десульфуразна активність ЦБС та ЦАТ достовірно зростала (на 31,7 та 38,1 %), а активність ЦГЛ, навпаки, зменшувалась (на 19,0 %). У мозку щурів відбувалось помірне збільшення активності ЦБС (на 35,1 %), тоді як активність ЦГЛ та ЦАТ практично не змінювалась. Разом із тим, у нирках активність ЦГЛ, ЦБС та ЦАТ достовірно знижувалась (на 25,9, 19,7 та 20,2 %). Аналіз активності ферментів, які забезпечували транссульфування сірковмісних АК в органах щурів, показав, що в печінці навантаження цистеїном викликало помірне підвищення цистатіонінсинтазної активності ЦБС (на 17,9 %) і зниження цистатіоназної активності ЦГЛ (на

18,3 %). У мозку тварин на рівні тенденції зростала цистатіонінсинтазна активність ЦБС. У нирках щурів з навантаженням цистеїном достовірно знижувалась активність вказаних ферментів (на 19,5 та 34,5 %).

Отже, ферментні системи деградації сірковмісних амінокислот в печінці, мозку, з одного боку, та в нирках – з іншого по-різному реагують на навантаження цистеїном. Як пояснити ці відмінності? Цілком очевидно, що підвищення активності зазначених ферментів у печінці та мозку є наслідком посилення їх експресії для забезпечення утилізації надлишкової кількості цистеїну. Разом із тим, пригнічення їх активності в нирках, імовірно, пов'язане з особливостями метаболічних процесів у цьому органі.

По-перше, рівень цистеїну в нирках був вищим, ніж у печінці та мозку, а за умов тривалого навантаження цистеїном ця різниця ставала ще більш помітною. Зокрема, вміст цистеїну в нирках інтактних тварин складав  $5,38 \pm 0,29$ , а після навантаження зростав до  $(7,65 \pm 0,39)$  нмоль на 1 мг білка (на 42,2 %, 18,3 %).

Таблиця 2 – Вплив хронічного навантаження цистеїном на активність ферментів метаболізму сірковмісних амінокислот в органах щурів ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

Фермент	Група щурів	Активність ферментів, нмоль/хв на 1 мг білка		
		печінка	нирки	мозок
Десульфуразна активність ЦГЛ	Контроль	$3,10 \pm 0,18$	$1,62 \pm 0,07$	$0,26 \pm 0,021$
	Цистеїн	$2,51 \pm 0,15^*$	$1,20 \pm 0,09^*$	$0,23 \pm 0,032$
Цистатіоназна активність ЦГЛ	Контроль	$16,4 \pm 0,59$	$15,9 \pm 0,96$	$2,19 \pm 0,14$
	Цистеїн	$13,4 \pm 0,75^*$	$10,4 \pm 1,19^*$	$2,06 \pm 0,19$
Десульфуразна активність ЦБС	Контроль	$2,74 \pm 0,17$	$2,18 \pm 0,16$	$0,37 \pm 0,035$
	Цистеїн	$3,61 \pm 0,26^*$	$1,75 \pm 0,11^*$	$0,50 \pm 0,031^*$
Цистатіонінсинтазна активність ЦБС	Контроль	$11,7 \pm 0,36$	$11,4 \pm 0,61$	$2,45 \pm 0,14$
	Цистеїн	$13,8 \pm 0,41^*$	$9,18 \pm 0,33^*$	$2,73 \pm 0,09$
Десульфуразна активність ЦАТ	Контроль	$2,44 \pm 0,15$	$2,57 \pm 0,21$	$0,034 \pm 0,011$
	Цистеїн	$3,37 \pm 0,19^*$	$2,05 \pm 0,10^*$	$0,037 \pm 0,008$
Тіосульфатдитіолсульфуртрансфераза	Контроль	$10,4 \pm 0,68$	$3,16 \pm 0,18$	$1,29 \pm 0,05$
	Цистеїн	$6,95 \pm 0,32^*$	$2,93 \pm 0,21$	$1,39 \pm 0,08$
Цистеїндіоксигеназа <sup>1</sup>	Контроль	$2,02 \pm 0,07$	$1,51 \pm 0,13$	$1,02 \pm 0,10$
	Цистеїн	$3,06 \pm 0,17^*$	$2,35 \pm 0,07^*$	$1,43 \pm 0,12^*$
Сульфітоксидаза	Контроль	$11,1 \pm 0,68$	$7,56 \pm 0,24$	$2,21 \pm 0,07$
	Цистеїн	$7,10 \pm 0,28^*$	$5,90 \pm 0,45^*$	$2,25 \pm 0,08$
$\gamma$ -Глутамілцистеїнсинтетаза	Контроль	$3,54 \pm 0,21$	$2,57 \pm 0,22$	$2,17 \pm 0,26$
	Цистеїн	$6,20 \pm 0,52^*$	$4,13 \pm 0,39^*$	$3,10 \pm 0,23^*$
S-Аденозилметіонінсинтетаза	Контроль	$2,94 \pm 0,31$	$3,04 \pm 0,12$	$2,56 \pm 0,21$
	Цистеїн	$1,46 \pm 0,25^*$	$2,34 \pm 0,25^*$	$1,83 \pm 0,20^*$
Бетаінгомоцистеїн-метилтрансфераза	Контроль	$3,73 \pm 0,25$	$3,72 \pm 0,21$	$1,96 \pm 0,09$
	Цистеїн	$3,01 \pm 0,13^*$	$2,78 \pm 0,28^*$	$1,64 \pm 0,10^*$
S-Аденозилгомоцистеїн-гідролаза	Контроль	$3,69 \pm 0,18$	$5,20 \pm 0,38$	$1,96 \pm 0,16$
	Цистеїн	$3,17 \pm 0,13^*$	$3,83 \pm 0,26^*$	$1,52 \pm 0,10^*$

Примітки:

1. Активність цистеїндіоксигенази наведено в мкмоль/хв на 1 мг білка.

2. \* –  $p < 0,05$  відносно активності ферментів у контрольних щурів.

$p < 0,05$ ). У печінці його рівень був нижчим і підвищувався менш помітно – з  $(3,87 \pm 0,17)$  до  $(4,33 \pm 0,18)$  нмоль на 1 мг білка (на 11,8 %,  $p < 0,1$ ), а в мозку зростав недостовірно –  $(2,21 \pm 0,16)$  та  $(2,60 \pm 0,21)$  нмоль на 1 мг білка. По-друге, відомо, що нирки, порівняно з печінкою та мозком, більш здатні до концентрування різних сполук у процесі їх реабсорбції в каналцях. Тому в ниркових каналцях можуть створюватись токсичні концентрації цистеїну. Про зростання транзиту цистеїну через нирки свідчить також і підвищення в 2,3 раза (з  $(6,42 \pm 0,66)$  до  $(14,9 \pm 1,09)$  ммоль/моль креатиніну) екскреції цистеїну із сечею після навантаження цією АК. По-третє, в нирках більшою мірою, ніж в інших органах, експресувалась низка ферментів, які каталізували метаболічну активацію сполук цистеїну до реакційноздатних метаболітів (нестабільних епісульфонієвих іонів, сульфоксидів, тіолат-аніонів та ін.). До таких ферментів належать бета-ліаза цистеїнових кон'югатів, флавінзалежна S-оксидаза цистеїнових кон'югатів, L-оксидази АК тощо [3]. Утворення за умов перевантаження цистеїном підвищеної кількості реактивних метаболітів, які здатні ковалентно модифікувати білки, можливо, і є причиною значного зниження активності ЦГЛ та ЦБС у нирках.

Введення цистеїну викликало зниження в печінці активності тіосульфатдитіолсульфуртрансферази – ферменту, який каталізував утворення  $H_2S$  за рахунок відновлення тіосульфат-аніона (на 33,2 %), хоча практично не впливало на активність цього ферменту в нирках та мозку.

Навантаження цистеїном спричинило зміни активності інших ферментів обміну сірковмісних АК. Зокрема, в печінці, нирках та мозку щурів відбувалось достовірне зростання (на 51,4, 55,6 та 40,2 %) активності цистеїндіоксигенази – ферменту, який започатковує шлях деградації цистеїну до сульфату та утворення таурину, каталізуючи окиснення цієї АК до цистеїнсульфінату [15]. Цілком очевидно, що підвищення активності цистеїндіоксигенази має адаптивний характер і спрямоване на посилення утилізації надлишку цистеїну. Відомо, що цей фермент здатен ефективно метаболізувати цистеїн як у низьких, так і у високих концентраціях [15]. Разом із тим, за умов перевантаження цистеїном сповільнювалась деградація сульфат-аніона ( $SO_3^{2-}$ ) – одного з проміжних метаболітів цистеїндіоксигеназного шляху утилізації цистеїну. Зокрема, активність сульфатоксидази в печінці та нирках щурів з гіперцистеїнемією достовірно зменшувалась на 36,0 та 21,9 %.

Додатковим шляхом утилізації цистеїну є синтез з нього глутатіону. Ця реакція започатковується  $\gamma$ -глутамілцистеїнсинтетазою, яка каталізує конденсацію цистеїну з глутаматом з участю АТФ. За умов гіперцистеїнемії активність ферменту достовірно зростала (на 75,1, 60,7 та 42,8 %) в печінці, нирках та мозку щурів.

Ферменти циклу реметилювання гомоцистеїну реагували на навантаження цистеїном зниженням активності. Зокрема, активність S-аденозилметіонінсинтетази, бетаїногмоцистеїнметилтрансферази та S-аденозилгмоцистеїнгідролази в печінці щурів знизилась на 50,3, 19,3 та 14,1 %, в нирках – на 29,9, 25,2 та 26,3 %, а в мозку – на 28,5, 16,3 та 22,4 % відповідно.

Таким чином, хронічне навантаження цистеїном викликало підвищення рівня цистеїну та зменшення вмісту гомоцистеїну в сироватці крові. Також значно змінювалась активність ферментів метаболізму сірковмісних АК. Зростання активності ферментів транссульфування сірковмісних АК (ЦБС і ЦАТ) в печінці, а також збільшення активності цистеїндіоксигенази та  $\gamma$ -глутамілцистеїнсинтетази в усіх досліджених органах, без сумніву, мають характер адаптивної реакції організму, яка спрямована на усунення надлишку цистеїну. Менші зміни активності ферментів деградації сірковмісних АК в мозку можна пояснити відносною ізольованістю метаболічної системи цього органа завдяки існуванню гематоенцефалічного бар'єру. Зниження активності ферментів транссульфування (ЦБС, ЦГЛ, ЦАТ) в нирках, можливо, є наслідком їх інактивації під впливом реакційноздатних метаболітів, які за умов перевантаження цистеїном та його концентрування утворюються в підвищеній кількості через існування в цьому органі спеціального набору ферментів, що забезпечує метаболічну активацію сполук цистеїну. Ці дані показують, що серед досліджених нами органів найбільш чутливими до несприятливої дії надлишку цистеїну є нирки.

Спільним для печінки та нирок механізмом токсичної дії надлишку цистеїну є порушення в циклі метилування, адже активність S-аденозилметіонінсинтетази і бетаїногмоцистеїнметилтрансферази вірогідно знижувалась в усіх досліджених нами органах. Перший фермент каталізує синтез S-аденозилметіоніну, який забезпечує необхідні для організму процеси метилування білків, нуклеїнових кислот та низькомолекулярних речовин, а другий фермент бере участь в утворенні метіоніну (з гомоцистеїну), необхідного для синтезу S-аденозилметіоніну.Dodatkowym чинником послаблення процесів метилування є зниження активності

S-аденозилгомоцистеїнгідролази. А це, у свою чергу, призведе до накопичення токсичного S-аденозилгомоцистеїну, що, як відомо, є потужним алостеричним інгібітором усіх метилтрансфераз [2]. Ще одним механізмом несприятливої дії надлишку цистеїну може стати гальмування активності сульфітоксидази, яка знешкоджує токсичний сульфід-аніон. Відомо, що накопичення сульфїту за умов уродженого дефіциту сульфітоксидази супроводжується тяжкими ураженнями мозку [9], зниженням чутливості судин до дії вазодилаторів [12].

Цілком очевидно, що несприятливий вплив на організм перевантаження цистеїном не обмежується обговорюваними вище механізмами. Надлишок цистеїну, що, як і інші тіоли, має відновні властивості, може ініціювати розвиток оксидативного стресу. Цистеїн як відновник забезпечує підтримання іонів заліза та інших перехідних металів у відновленому стані, необхідному для утворення активних форм кисню. Ще один механізм несприятливої дії надлишку цистеїну може бути пов'язаний з цистеїнуванням білків, тобто з приєднанням цистеїну до SH-груп білків з утворенням змішаних дисульфідів, зміною редокс-статусу білків та їх функціональної активності. По-

дальші дослідження в цих напрямках дозволили б детальніше з'ясувати патогенетичні механізми гіперцистеїнемії.

**ВИСНОВКИ.** 1. Навантаження щурів L-цистеїном в дозі 250 мг/кг протягом 28 діб викликає зростання рівня цистеїну (на 36 %) при одночасному зниженні вмісту гомоцистеїну (на 25,4 %). Між рівнями гомоцистеїну та цистеїну в щурів з навантаженням цистеїном встановлюється обернений кореляційний зв'язок.

2. Введення цистеїну індукує зміни активності ферментів деградації сірковмісних АК в органах щурів. У печінці, нирках та мозку зростає активність цистеїндіоксигенази та  $\gamma$ -глутамілцистеїнсинтетази, знижується активність сульфітоксидази і цистатіонін- $\gamma$ -ліази. Активність ферменту транссульфування сірковмісних АК – цистатіонін- $\beta$ -синтази підвищується в печінці й мозку щурів, тоді як в нирках, навпаки, зменшується.

3. На тлі гіперцистеїнемії в печінці, нирках та мозку щурів знижується активність ферментів циклу метилування сірковмісних АК – S-аденозилметіонінсинтетази, бетаїнгомоцистеїнметилтрансферази, S-аденозилгомоцистеїнгідролази.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андрушко І.І. Вміст цистеїну у практично здорових осіб та пацієнтів з ішемічною хворобою серця // Укр. кардіол. журн. – 2007. – № 3. – С. 43-47.
2. Пентюк О.О., Луцюк М.Б., Поставітенко К.П. Гіпергомоцистеїнемія: моделювання та вплив на стан судинної системи в експерименті // Досягнення біології та медицини. – 2004. – № 1 (3). – С. 35-38.
3. Anders M.W. Chemical toxicology of reactive intermediates formed by the glutathione-dependent bioactivation of halogen-containing compounds // Chem. Res. Toxicol. – 2008. – **21**, № 1. – P. 145-159.
4. Chiang P.K., Cantoni G.L. Activation of methionine for transmethylation. Purification of the S-adenosylmethionine synthetase of bakers' yeast and its separation into two forms. // J. Biol. Chem. – 1977. – **252**, № 13. – P. 4506-4513.
5. Cohen H.J., Fridovich I. Hepatic sulfite oxidase. Purification and properties // J. Biol. Chem. – 1971. – **246**, № 2. – P. 359-366.
6. Ericson L.E. Betaine-homocysteine methyltransferases. III. The methyl donor specificity of the transferase isolated from pig liver // Acta Chem. Scand. – 1960. – **14**. – P. 2127-2134.
7. Gaitonde M.K. A spectrophotometric method for direct determination of cysteine in the presence of other

naturally occurring amino acid // Biochem. J.– 1967. – **104**, № 2. – P. 627-633.

8. Goldstein J.L., Campbell B.K., Gartler S.M. Cystathionine synthase activity in human lymphocytes: induction by phytohemagglutinin // J. Clin. Invest. – 1972. – **51**, № 4. – P. 1034-1037.

9. Hobson E.E., Thomas S., Crofton P.M. et al. Isolated sulphite oxidase deficiency mimics the features of hypoxic ischaemic encephalopathy // Eur. J. Pediatr. – 2005. – **164**, № 11. – P. 655-659.

10. Isa Y., Tsuge H., Hayakawa T. Effect of vitamin B6 deficiency on S-adenosylhomocysteine hydrolase activity as a target point for methionine metabolic regulation // J. Nutr. Sci. Vitaminol. – 2006. – **52**, № 5. – P. 302-306.

11. Li L., Moore P.K. An overview of the biological significance of endogenous gases: new roles for old molecules // Biochem. Soc. Trans. – 2007. – **35**, № 5. – P. 1138-1141.

12. Nacitarhan C., Kucukatay V., Sadan G. et al. Effects of sulphite supplementation on vascular responsiveness in sulphite oxidase-deficient rats // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2008. – **35**, № 3. – P. 268-272.

13. Orłowski M., Meister A. Partial reactions catalyzed by  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase and evidence for an



activated glutamate intermediate // J. Biol. Chem.– 1971. – **246**, № 23. – P. 7095-7105.

14. Stipanuk M.H., Beck P.W. Characterization of the enzymic capacity for cysteine desulphhydration in liver and kidney of the rat // Biochem. J. – 1982. – **206**, № 2. – P. 267-277.

15. Stipanuk M.H., Dominy J.E., Lee J.I., Coloso R.M. Mammalian cysteine metabolism: new insights into regulation of cysteine metabolism // J. Nutr. – 2006. – **136**, № 6. – P. 1652-1659.

**Н.В. Заїчко<sup>1,2</sup>, А.А. Пентюк<sup>2</sup>, А.В. Мельник<sup>2</sup>, Е.И. Штатко<sup>2</sup>**  
НИИ РЕАБИЛИТАЦИИ ИНВАЛИДОВ ВИННИЦКОГО НАЦИОНАЛЬНОГО МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА  
ИМЕНИ Н.И. ПИРОГОВА<sup>1</sup>  
ВИННИЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.И. ПИРОГОВА<sup>2</sup>

## **ВЛИЯНИЕ НАГРУЗКИ ЦИСТЕИНОМ НА ФЕРМЕНТНЫЕ СИСТЕМЫ МЕТАБОЛИЗМА СЕРОСОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТ В ПЕЧЕНИ, ПОЧКАХ И МОЗГЕ КРЫС**

### **Резюме**

Исследовано влияние 4-недельной нагрузки цистеином (250 мг/кг) на ферментные системы метаболизма серосодержащих аминокислот в печени, почках и мозге крыс. Установлено, что нагрузка цистеином вызывает уменьшение содержания гомоцистеина в сыворотке крови и влияет на активность ферментов деградации серосодержащих аминокислот в органах крыс: повышает активность цистеиндиоксигеназы и  $\gamma$ -глутамилцистеинсинтетазы, снижает активность сульфитоксидазы, S-аденозилметионинсинтетазы, бетаингомоцистеинметилтрансферазы, S-аденозилгомоцистеингидролазы, цистатионин- $\gamma$ -лиазы. Активность цистатионин- $\beta$ -синтазы и цистеинаминотрансферазы увеличивается в печени и уменьшается в почках крыс с гиперцистеинемией.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **цистеин, ферменты, печень, почки, мозг.**

**N.V. Zaichko<sup>1,2</sup>, O.O. Pentiuk<sup>2</sup>, A.V. Melnik<sup>2</sup>, O.I. Shtatko<sup>2</sup>**  
M.I. PIROGOV SCIENTIFIC RESEARCH INSTITUTE OF INVALID REHABILITATION OF  
VINNYTSIA NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY<sup>1</sup>  
M.I. PIROGOV VINNYTSIA NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY<sup>2</sup>

## **INFLUENCE OF CYSTEINE LOADING ON ENZYME SYSTEMS OF SULFUR AMINOACIDS METABOLISM IN RAT LIVER, KIDNEY AND BRAIN**

### **Summary**

It was investigated influence of cysteine loading (250 mg/kg) within 4 weeks on enzyme systems of sulfur aminoacids metabolism in rat liver, kidney and brain. It was established that cysteine loading decreased homocysteine level in blood serum and changed enzyme activity of sulfur aminoacids cleavage in rat organs: increased activity of cysteine dioxygenase and  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase; decreased activity of sulfite oxidase, S-adenosylmethionine synthetase, betaine-homocysteine methyltransferase, S-adenosylhomocysteine hydrolase, cystathionine  $\gamma$ -lyase. Activity of cystathionine  $\beta$ -synthase and cysteine aminotransferase increased in liver and decreased in kidney of rats with hypercysteinemia.

KEY WORDS: **cysteine, enzymes, liver, kidney, brain.**

Отримано 13.08.09

Адреса для листування: Н.В. Заїчко, НДІ реабілітації інвалідів Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова, Хмельницьке шосе, 104, Вінниця, 21029, Україна.

## ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ПЛЮМБУМУ В КРОВІ З ВИКОРИСТАННЯМ КОНЦЕНТРУВАННЯ НА МОДИФІКОВАНОМУ КЛИНОПТИЛОЛІТІ

*Вивчено оптимальні умови сорбції та десорбції іонів Pb (II) з використанням Н-модифікованого клиноптилоліту. Досліджено вплив іонів Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> на процеси сорбції та десорбції іонів Pb (II) із сорбенту. Розроблено оптимальні умови кількісного визначення Pb (II) в крові шляхом концентрування на модифікованому клиноптилоліті, що дозволяє визначити в середньому 83,3 % плюмбуму в цій біологічній рідині.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: клиноптилоліт, сорбція, десорбція, плюмбум, кров.

ВСТУП. За масштабами викиду в навколишнє середовище свинець (плюмбум займає перше місце і є одним з найтоксичніших металів. Тому його вміст підлягає обов'язковому контролю при оцінці якості харчових продуктів і сировини, питної води, лікарських препаратів.

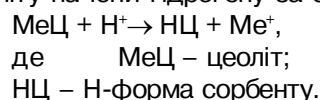
Потрапивши в організм людини через органи дихання, шлунок або шкіру, сполуки свинцю дуже швидко накопичуються в ньому і надто повільно виводяться. У крові вони можуть затримуватися до 27-36 діб [5]. Метаболізуючись у кістках, свинець заміщує кальцій і викликає порушення опорно-рухової системи. Сполуки свинцю негативно впливають на центральну нервову та серцево-судинну системи, шлунок [4].

Для визначення низького вмісту свинцю в біологічних рідинах необхідно проводити його попереднє концентрування. В останні роки все частіше для концентрування слідової кількості металів застосовують природні цеоліти, до яких належить клиноптилоліт.

Склад клиноптилоліту можна подати у вигляді ідеалізованої формули: (Na,K)<sub>4</sub>CaAl<sub>6</sub>Si<sub>30</sub>O<sub>72</sub>·24H<sub>2</sub>O [2]. У будові каркаса цеоліту кремній-алюмінієві тетраедри зв'язані між собою атомами кисню, які утворюють 8- та 10-членні кільця, так звані вхідні "вікна" в канали. У них містяться вода у зв'язаному і вільному стані та одно- і двозарядні іони металів, які компенсують негативний заряд каркаса. Відносний розмір вхідних "вікон" клиноптилоліту становить 0,39-0,54 нм. Така будова сорбенту дозволяє відсіювати різні за розмірами іони з розчинів і проявляє різко виражену селективність відносно великих за роз-

мірами катіонів одно- і двозарядних металів, особливо NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, Cs<sup>+</sup>, Rb<sup>+</sup>, Ba<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup> [7]. Іонний обмін на цеоліті проходить без зміни кристалічної структури завдяки слабким іонним зв'язкам обмінних катіонів з алюмокремнієвим каркасом.

Клиноптилоліту притаманні висока термічна (до 700 °С) та хімічна (рН руйнування 1) стійкість, здатність зберігати свої адсорбційні характеристики після процесів активації. Для регулювання молекулярно-ситових та іонообмінних властивостей цеоліти піддають термічний обробці або хімічній модифікації [6]. Найчастіше для переведення сорбенту в Н-форму використовують мінеральні кислоти, зокрема HCl. Обробка цеоліту кислотою покращує його сорбційні властивості внаслідок зміни розміру його вхідних каналів і пор. Також проходить заміщення обмінних катіонів клиноптилоліту на іони гідрогену за схемою [8]:



Мета нашої роботи полягала у вивченні процесів сорбції та десорбції іонів плюмбуму на кислотномодифікованому закарпатському клиноптилоліті залежно від рН середовища за присутності іонів K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> і впровадженні методики для концентрування іонів Pb<sup>2+</sup> при визначенні його в крові.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У роботі використано клиноптилоліт з родовища с. Сокирниця Хустського р-ну Закарпатської обл., який було розмелено на кульовому млині, й відібрано фракцію розміром зерен – 0,2 мм. Н-форму сорбенту отримували шляхом обробки клиноптилоліту 1 М HCl протягом 24 год з наступним

© М.Б. Калитовська, І.Й. Галькевич, 2010.

промиванням і висушуванням при 40 °С та зберіганням в екзикаторі.

Стандартний розчин із вмістом 207,2 мкг/мл іонів плюмбуму готували з точної наважки 0,0325 г плюмбуму (II) ацетату, яку розчиняли у дистильованій воді в колбі ємністю 100 мл.

Модельні 0,1 М розчини іонів  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  та 1 М розчин іонів  $Na^+$  готували з точних наважок відповідних хлоридів. Модельну суміш (4 мл) готували шляхом змішування по 0,2 мл модельних розчинів іонів  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ , до неї додавали 3,6 мл стандартного розчину іонів  $Pb^{2+}$ .

Для приготування розчинів використовували реактиви марки "х. ч." та "ч. д. а."

Для кількісного визначення іонів плюмбуму застосовували 0,05 % розчин сульфарсазону, який готували шляхом розчинення 50 мг барвника у дистильованій воді за присутності 1,01 г натрію тетраборату.

При розчиненні 750 мг амонію хлориду, 5 мл 25 % розчину амонію гідроксиду та додаванні дистильованої води до 100 мл одержували аміачний буферний розчин із рН 9,8. Для створення рН, необхідного для дослідження процесів сорбції і десорбції, використовували 0,1 М та 1 М розчини нітратної кислоти та натрію гідроксиду. рН розчинів контролювали на рН-метрі ОР-110 (Угорщина, Radelkilis).

Сорбційні властивості вивчали у динамічних умовах, для чого готували патрони, що містили по 0,6 г підготовленого клиноптилоліту. Через сорбент пропускали 1 мл стандартного розчину плюмбуму (II) ацетату зі швидкістю 5 крапель за хвилину.

Десорбцію проводили у статичних умовах, для чого сорбент кількісно переносили у конічну колбу і настоювали при збовтуванні з 10 мл відповідного елюенту. Час контакту становив 10 хв.

Кількісне визначення сорбованих та десорбованих іонів  $Pb^{2+}$  здійснювали фотометрично за реакцією із сульфарсазеном ( $C_{18}H_{14}O_8N_6SAsNa$ ) при рН 9,8, яке створювали аміачним буферним розчином [3]. Вимірювання оптичної густини проводили на приладі КФК-2МП (світлофільтр з ефективною довжиною хвилі  $(490 \pm 10)$  нм, товщина робочого шару кювети – 10 мм). Лінійна залежність оптичної густини розчину від концентрації іонів металу перебувала в межах 5-60 мкг іонів  $Pb^{2+}$  в 10 мл кінцевого об'єму.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Проводили дослідження з визначення оптимальних умов сорбції іонів плюмбуму з модельних водних розчинів залежно від рН середовища. Ек-

спериментально встановлено, що в інтервалі рН 2-4 сорбується менше 70 % іонів  $Pb^{2+}$ , при рН 5,2 вилучається з розчину до 95 % іонів  $Pb^{2+}$ . Такий характер сорбції може бути зумовлений особливостями поверхні цеоліту і формами знаходження іонів металу у водних розчинах при різних рН. При низьких значеннях рН дисоціація поверхневих гідроксильних груп мінералу майже повністю пригнічена, тому величина сорбції не є високою. Зі збільшенням рН (2-4) дисоціація поверхневих ОН-груп зростає і, відповідно, збільшується величина адсорбції [1].

Найоптимальнішим виявилось рН 8,5, при якому сорбція становила 100 %, ймовірно, за рахунок утворення гідросокомплексів плюмбуму. При значенні рН > 9 ступінь вилучення іонів  $Pb^{2+}$  сорбентом із водних розчинів знижувався, оскільки утворювались малорозчинні гідроксиди.

При елююванні сорбованих цеолітом іонів плюмбуму розчинами електролітів (1 М NaCl, 1 М KCl) ступінь вилучення становив 75-85 % за рахунок спорідненості однозарядних іонів до  $H^+$ -іона в процесі іонного обміну. Зі збільшенням та зменшенням концентрації елюенту відсоток десорбції знижувався.

Отже, з водних розчинів іони плюмбуму максимально сорбуються на модифікованому клиноптилоліті при рН 8,5. Для десорбції доцільно застосовувати 1 М розчин калію хлориду.

У подальших дослідженнях ми вивчали вплив іонів  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  на процеси сорбції та десорбції іонів  $Pb^{2+}$  цеолітом. Ці мікроелементи є основними складниками крові. У модельну суміш, окрім іонів  $Pb^{2+}$ , вводили іони  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  у кількості, близькій до їх вмісту в крові. Модельна суміш містила 780 мкг іонів  $K^+$ , 4600 мкг іонів  $Na^+$ , 800 мкг іонів  $Ca^{2+}$ , 480 мкг іонів  $Mg^{2+}$ , а також 704 мкг іонів  $Pb^{2+}$  в 4 мл модельної суміші. Через сорбційний патрон, заповнений модифікованим клиноптилолітом, пропускали модельну суміш з рН 8,5. Ступінь вилучення іонів  $Pb^{2+}$  із розчину сорбентом за присутності іонів  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  знизився до 90 %. Відсоток сорбції іонів  $Pb^{2+}$  модифікованим клиноптилолітом у модельних розчинах зростав до 100 % лише при додатковій обробці цеоліту універсальною буферною сумішшю Бріттона-Робінсона з рН 8,5. Через патрон, заповнений модифікованим сорбентом, пропускали 1 мл цієї суміші. Під впливом суміші кислот незначно змінювались у розмірах вхідні канали сорбенту, що дало можливість ефективніше вилучати іони плюмбуму із суміші.

Експериментальні дані показали, що за наявності мікроелементів крові десорбція іонів  $Pb^{2+}$  з клиноптилоліту значно погіршувалась, порівняно з водними розчинами, у статичних умовах.

Результати десорбції іонів  $Pb^{2+}$  з клиноптилоліту за присутності іонів  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  в модельній суміші наведено на рисунку 1.

З рисунка 1 випливає, що 0,1 М і 1 М розчини калію хлориду та натрію хлориду не є ефективними елюентами. Розчинами нітратної кислоти також десорбується незначна

кількість іонів  $Pb^{2+}$  із цеоліту. В подальших дослідженнях як елюент ми використовували 0,1 М розчин амонію хлориду, яким вдається десорбувати до 50 % іонів плумбуму в динамічних умовах. Можливо, частина сорбованих іонів  $Pb^{2+}$  залишається заблокованою в глибині каналів сорбенту.

Вплив часу контакту сорбенту та елюенту на десорбцію іонів  $Pb^{2+}$  з клиноптилоліту за присутності іонів  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  наведено в таблиці 1.

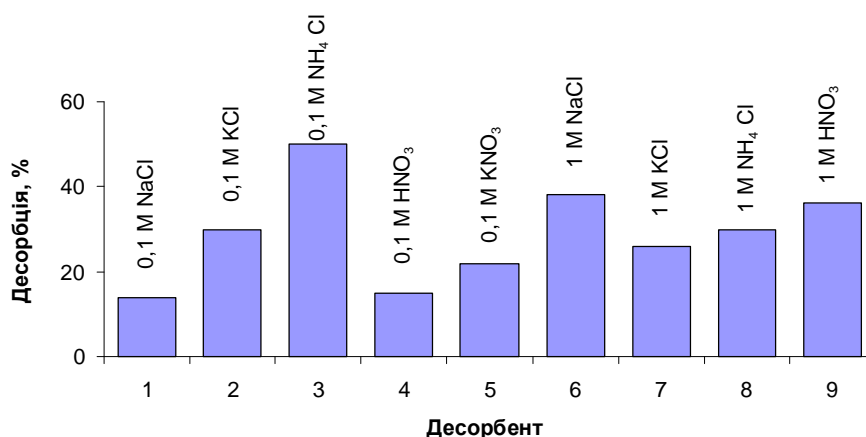


Рис. 1. Десорбція іонів плумбуму з цеоліту за присутності іонів калію, натрію, кальцію та магнію.

Таблиця 1 – Вплив часу контакту сорбенту та елюенту на десорбцію іонів  $Pb^{2+}$  з клиноптилоліту за присутності іонів  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$

Час контакту, хв	Десорбція іонів $Pb^{2+}$ , %
10	$50 \pm 2$
15	$44 \pm 3$
20	$40 \pm 4$
30	$32 \pm 2$
60	$25 \pm 4$

Зі збільшенням часу контакту елюенту і сорбенту понад 10 хв ступінь вилучення іонів плумбуму із цеоліту знижувався, ймовірно, за рахунок зворотної сорбції іонів  $Pb^{2+}$  клиноптилолітом.

При десорбції іонів  $Pb^{2+}$  із клиноптилоліту за присутності іонів  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  в статичних умовах десорбувалось до 42 % іонів плумбуму з клиноптилоліту.

Оскільки на процеси десорбції впливає рН досліджуваних розчинів, то ми вивчали вплив рН суміші на величину десорбції іонів  $Pb^{2+}$  з цеоліту. Залежність десорбції іонів  $Pb^{2+}$  від рН наведено на рисунку 2.

Змінюючи кислотність елюенту (амонію хлориду), нам вдалося десорбувати 60 % іонів  $Pb^{2+}$  із модифікованого клиноптилоліту при рН 4.

На основі цих даних нами запропонована така методика для визначення свинцю в

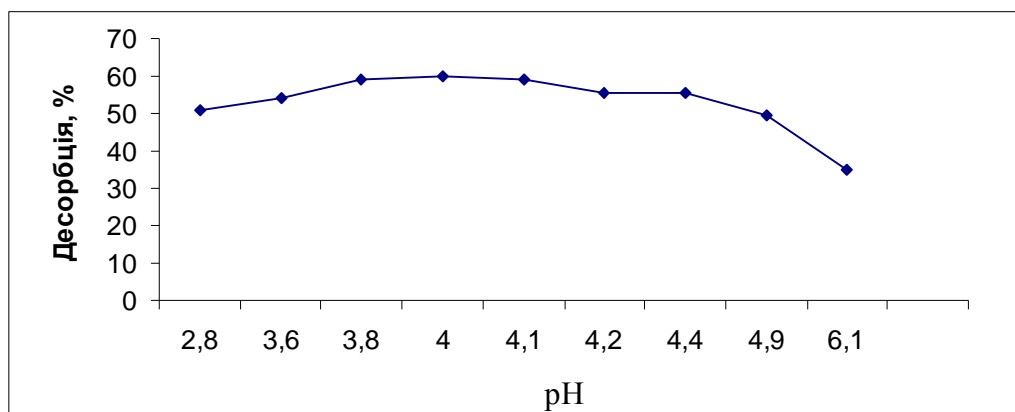


Рис. 2. Залежність десорбції іонів плумбуму від рН.

крові. Оскільки свинець у крові міститься у вигляді колоїдного дифосфату, дифосфоргліцерату, органічних комплексів з білками, то для його кількісного визначення необхідно проводити озолення досліджуваних зразків крові. У фарфорові тиглі вносять по 2 мл досліджуваних зразків крові й холосту пробу, додають у кожену пробу по 0,5 г амонію нітрату та озолують в муфельній печі при 400 °С протягом 5 год.

Залишок золи розчиняють в 3,5 мл 0,1 М розчину нітратної кислоти, доводять до рН 8,5 за допомогою 0,1 М розчину натрію гідроксиду.

Відбирають по 1 мл з кожної проби і пропускають через сорбційний патрон, попередньо промитий 1 мл універсальної буферної суміші з рН

8,5, зі швидкістю 5 крапель за хвилину. Для десорбції заливають сорбент 10 мл 0,1 М  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (при необхідності додають  $\text{HNO}_3$  до рН 4), збовтують колбу 10 хв, відфільтровують. В аликвоті елюату визначають кількість десорбованого плюмбуму. До 2 мл елюату додають 0,5 мл 0,05 % розчину сульфарсазону, 5 мл аміачної буферної суміші (рН 9,8) та 2,5 мл дистильованої води. Вимірюють оптичну густину розчину на приладі КФК-2МП (світлофільтр з ефективною довжиною хвилі 490 нм, товщина робочого шару кювети – 10 мм). Для розрахунку кількості визначеного плюмбуму в зразках крові використовували коефіцієнт поправки на десорбцію ( $\alpha_d$ ) – 0,6. Результати експерименту наведено в таблиці 2.

Таблиця 2 – Результати визначення кадмію в крові

$m_{\text{Pb}^{2+}}$ , визначеного в крові, мкг	$m_{\text{Pb}^{2+}}$ , внесеного в кров, мкг	Метрологічні характеристики				$m_{\text{Pb}^{2+}}$ , визначеного в крові, %
		$\bar{x} \pm \Delta x$	$S_x$	$S^2$	$\epsilon$	
640	525,5	524,4±1,2	1,0	1,0	0,23	81,9
	523,7					
	525,5					
	523,5					
	523,8					
620	518,9	516,7±2,2	1,8	3,24	0,43	83,3
	514,6					
	515,8					
	518,3					
	515,8					
207	173,5	173,5±1,4	1,1	1,21	0,81	83,8
	175,0					
	172,3					
	172,5					
	174,2					
103	86,9	86,7±0,5	0,3	0,09	0,58	84,2
	86,4					
	86,3					
	86,9					
	87,0					
52	43,6	43,4±0,4	0,3	0,09	0,92	83,5
	43,0					
	43,5					
	43,3					
	43,6					

Отже, експериментально визначено в середньому 83,3 % іонів  $\text{Pb}^{2+}$  в крові.

**ВИСНОВКИ.** 1. Досліджено умови сорбції та десорбції іонів  $\text{Pb}^{2+}$  на модифікованому кліноптилоліті з водних розчинів. Встановлено, що при рН 8,5 сорбція іонів плюмбуму становить 100 %. Ефективним десорбентом є 1 М розчин калію хлориду.

2. Вивчено процеси сорбції та десорбції іонів  $\text{Pb}^{2+}$  за присутності іонів  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ . Оптимальними умовами сорбції є рН досліджуваної суміші 8,5. Як десорбент доцільно застосовувати 0,1 М розчин амонію хлориду з рН 4, десорбується до 60 % іонів  $\text{Pb}^{2+}$ .

3. Розроблено методику визначення іонів плюмбуму в зразках крові. Визначено в середньому 83,3 % іонів  $\text{Pb}^{2+}$  в крові.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Василечко В.О., Гришук Г.В., Дерев'яненко М.М. Адсорбція Європію на Закарпатському клиноптилоліті // Вісник Львівського університету. Серія: Хімія. – 2008. – Вип. 49, ч. 1. – С. 170-179.
2. Гафанова Л.И., Сараев Д.В., Лунев И.В. и др. Диэлектрическая дисперсность воды в ионзамещенном клиноптилолите // Структура и динамика молекулярных систем. – 2003. – Вып. 10, ч. 1. – С. 354-357.
3. Ляпунов С.М., Сергина И.Ф. Аналитический комплекс для определения свинца в объектах окружающей среды и биологических объектах // Проблемы окружающей среды и природных ресурсов: Обзор информ. – 1998. – № 11. – С. 112-126.
4. Нариси вікової токсикології / За ред. І.М. Трахтенберга. – К.: Авіцена, 2005. – 256 с.
5. Трахтенберг И.М. Тяжелые металлы как химические загрязнители производственной и окружающей среды // Довкілля та здоров'я. – 1997. – № 2. – С. 48-51.
6. Ягольник С.Г., Кочубей В.В., Троцький В.І. та ін. Дереватографічне та ІЧ-дослідження термічно-активних зразків Закарпатського клиноптилоліту // Журнал агробіології та екології. – 2007. – **3**, № 1-2. – С. 111-117.
7. Korkuna O.Ya., Vrublevska T.Ya. Static conditions of palladium (II) sorption by transcarpathian clinoptilolite // Book of abstracts VIII Polish-Ukrainian symposium theoretical and experimental studies of interfacial phenomena and their technological application : SCSRIO. – Odessa, 2004. – P. 138-142.
8. Vasylechko V.O., Gryshouk G.V., Kuz'ma Yu.B. et al. Adsorption of Cadmium on acid-modified Transcarpatian clinoptilolite // Micropor. Mesopor. Mater. – 2003. – **60**. – P. 183-196.

**М.Б. Калитовская, И.И. Галькевич**

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ СВИНЦА В КРОВИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ НА МОДИФИЦИРОВАННОМ КЛИНОПТИЛОЛИТЕ

#### Резюме

*Изучены оптимальные условия сорбции и десорбции ионов Pb (II) с использованием H-модифицированного клиноптилолита. Исследовано влияние ионов Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> на процессы сорбции и десорбции ионов Pb (II) с сорбента. Разработаны оптимальные условия количественного определения ионов Pb (II) в крови путём концентрирования на модифицированном клиноптилолите, что позволяет определить в среднем 83,3 % свинца в этой биологической жидкости.*

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: клиноптилолит, сорбция, десорбция, свинец, кровь.

**M.B. Kalytovska, I.J. Halkevych**

DANYLO HALYTSKY LVIV STATE MEDIKAL UNIVERSITY

### DETERMINATION OF LEAD (II) IN BLOOD BY CONCENTRATION ON MODIFIED KLILOPTILOLIT.

#### Summary

*The optimal conditions of sorption and desorption of Pb (II) ions on H-modified klinoptilolit are studied. Influence of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> ions on sorption and desorption of Pb (II) ions processes from sorbent is studied. The optimal conditions of quantitative determination of Pb (II) in blood by concentration on modified klinoptilolit are developed. It allows to determine at 83,3 % of lead in this biological liquid.*

KEY WORDS: klinoptilolit, sorption, desorption, lead, blood.

Отримано 20.01.10

Адреса для листування: М.Б. Калитовська, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, вул. Пекарська, 69, Львів, 79010, Україна.

## ВИКОРИСТАННЯ ПРИНЦИПІВ ДОКАЗОВОЇ МЕДИЦИНИ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ ОСТЕОАРТРОЗУ

*Об'єктом дослідження були показники метаболізму глікопротеїнів та глікозаміногліканів у сироватці крові й добовій сечі хворих на остеоартроз великих суглобів.*

*Проведено дослідження показників обміну сполучної тканини, активності маркерних ферментів та екскреції макромолекул матриксу сполучної тканини у сироватці крові 120 хворих з I-IV стадіями остеоартрозу великих суглобів. Встановлено особливості змін, характерних для його стадій, проведено оцінку діагностичної чутливості вивчених показників.*

*Найбільш інформативними були такі показники: вміст у сироватці крові фракцій кератансульфатів, хондроїтин-6-сульфату, хондроїтин-4-сульфату, суми глікозаміногліканів, загальних хондроїтинсульфатів, сероглікоїдів та сіалових кислот, активність лужної та кислоти фосфатаз, коефіцієнт відношення екскреції уронових кислот до екскреції гідроксипроліну.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** біохімія, дослідження, остеоартроз, діагностична чутливість.

**ВСТУП.** У діагностиці остеоартрозу велике значення має дослідження біохімічних показників метаболізму сполучної тканини, зокрема макромолекул матриксу та активності маркерних ферментів [7].

Одним із складних завдань практичного лікаря є обрати серед багатьох існуючих біохімічних показників помірну кількість таких, які доцільно використати в кожному конкретному випадку. При цьому слід мати на увазі їх корисність для діагностичних цілей, що характеризується з позицій доказової медицини. Найбільш важливим критерієм для лабораторних показників вважають діагностичну чутливість (ДЧ), яку розуміють як вірогідність одержання у хворого результату тесту, що виходить за межі референтної норми, і вираховують за

такую формулою: 
$$ДЧ = \frac{ДП}{ДП + НН} \times 100 \%,$$

де ДП – дійсно позитивні результати тесту;  
НН – несправжньонегативні результати тесту [3].

Підбір показників з урахуванням такого критерію дозволяє не тільки проводити диференційну діагностику між близькими діагнозами, але й діагностувати стадійність та особливості перебігу хвороби [4]. З огляду на вищенаведене, нами був розроблений новий

комплекс біохімічних методів дослідження системи макромолекул матриксу сполучної тканини, що, за даними літератури та наших попередніх досліджень, достатньо корисні для поліпшення діагностики остеоартрозу великих суглобів. До комплексу було введено визначення метаболітів агрекану в сироватці крові (вмісту хондроїтин-6-сульфату, хондроїтин-4-сульфату, кератансульфатів, сероглікоїдів, сіалових кислот, церулоплазміну), дослідження екскреції із сечею уронових кислот, гідроксипроліну. Запропоновані параметри характеризують метаболізм основних компонентів органічного матриксу сполучної тканини – протеогліканів, колагену, інших глікопротеїнів. Також пропонується досліджувати активність кислоти і лужної фосфатаз – ферментів, локалізованих, відповідно, в остеокластах і остеобластах [8, 9].

Метою роботи було з позиції доказової медицини визначити діагностичну значущість показників обміну глікозаміногліканів та глікопротеїнів у хворих на остеоартроз великих суглобів.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Новий комплекс біохімічних методів обстеження хворих на остеоартроз великих суглобів I-IV стадій було апробовано за участю 120 хворих клінік та амбулаторного відділення Інституту патології хребта та суглобів імені проф. М.І. Ситенка АМН України, 58 з яких – чоловіки та 62 – жінки

віком від 28 до 68 років. За класифікацією Келегрена–Лоуренса [7], всіх хворих поділили на 4 групи: 1-ша – хворі з I стадією захворювання (28 осіб – 12 чоловіків та 16 жінок); 2-га – хворі з II стадією (25 осіб – 11 чоловіків та 14 жінок); 3-тя – хворі з III стадією (57 осіб – 32 чоловіки та 25 жінок); 4-та – хворі з IV стадією (10 осіб – 3 чоловіки та 7 жінок). При прийнятті в інститут у всіх них було проведено забір крові з ліктьової вени натще. Крім того, пацієнти збирали добову сечу.

У сироватці крові хворих визначали фракційний склад глікозаміноглікансульфатів (ГАГс), де до I фракції надходили легкорозчинні ГАГс із переважанням хондроїтин-6-сульфату, до II – середньорозчинні ГАГс із переважанням хондроїтин-4-сульфату, до III – переважно кератансульфати, дерматансульфат, гепарансульфат та ін. [4]; вміст сероглікоїдів, церулоплазміну; активність кислоти і лужної фосфатази – ферментів, локалізованих, відповідно, в остеокластах і остеобластах [5], сіалових кислот [6], суми хондроїтинсульфатів [1].

Запропоновані параметри характеризують метаболізм основних компонентів органічного матриксу сполучної тканини – протеогліканів, колагену, інших глікопротеїнів. Також проводили дослідження екскреції із сечею уронових кислот [6], гідроксипроліну [10] і вираховували коефіцієнт відношення величини екскреції уронових кислот до екскреції оксипроліну.

Статистичний аналіз даних було здійснено за допомогою програмних пакетів Microsoft Excel XP та Statsoft Statistica 6.0. Порівнювали групи за параметричним критерієм Стюдента [2].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** При біохімічному дослідженні біологічних рідин хворих на остеоартроз різних стадій виявлено, що за умов I стадії остеоартрозу вміст сіалових кислот, сероглікоїдів, гаптоглобіну та церулоплазміну (компонентів, що входять до складу глікопротеїнів) вірогідно не відрізнявся від аналогічних показників у контрольній групі (табл. 1). Це свідчить про відсутність значної запальної реакції. Разом із тим, вміст компонентів протеогліканів, зокрема загальних хондроїтинсульфатів і фракцій сироваткових ГАГ, вірогідно змінювався.

Концентрація загальних хондроїтинсульфатів упродовж I стадії остеоартрозу підвищувалася на 87 %, рівень хондроїтин-6-сульфату – на 14 %, тоді як вміст хондроїтин-4-сульфату і кератансульфатів зменшувався на 26 і 15 % відповідно. Це вказує на наявність дистрофічного процесу в тканинах суглобів.

За умов II стадії остеоартрозу одночасно підвищувалася концентрація як глікопротеїнів, так і протеогліканів, що свідчить про значні альтеративні зміни у суглобах, наявність і запального, і деструктивного процесів. Рівень сіалових кислот зростав на 49 %, сероглікоїдів – на 44 %, гаптоглобіну – на 30 %, церулоплазміну – на 45 %, гексоз, пов'язаних з білком, – на 56 %. Загальний вміст глікозаміногліканів майже не змінювався. Проте аналіз фракційного складу ГАГ дозволив побачити, що за умов II стадії остеоартрозу спостерігався перерозподіл фракцій ГАГ: вміст хондроїтин-6-сульфату помітно збільшувався на 37 %, тоді як концентрація хондроїтин-4-сульфату і кератансульфатів, навпаки, зменшувалася, на 46 та 44 %. Концентрація загальних гексозамінів підвищувалася в 2,1 раза. Таким чином, спостерігалось кількісно рівномірне відхилення від показників контрольної групи майже всіх біохімічних тестів, за винятком гексозамінів, рівень яких зростав значно більше порівняно з рештою метаболітів. Це, найімовірніше, пов'язано з тим, що гексозаміни входять до складу як глікопротеїнів, так і глікозаміногліканів.

За умов III стадії остеоартрозу вміст сіалових кислот, сероглікоїдів, гаптоглобіну та церулоплазміну (компонентів, що входять до складу глікопротеїнів) був достовірно вищим за показники контрольної групи. Це свідчить про наявність вираженої запальної реакції на цій стадії остеоартрозу. Вміст компонентів протеогліканів, зокрема загальних хондроїтинсульфатів, також достовірно збільшувався.

Концентрація гексозамінів та гексоз, пов'язаних з білком, істотно зростала (у 2,5 раза) порівняно з контрольною групою. Рівень хондроїтин-6-сульфату та хондроїтин-4-сульфату був також вищим, ніж у контрольній групі, а кератансульфатів, навпаки, зниженим, що є ознакою посилення як запального, так і дегенеративних процесів у тканинах суглобів на цій стадії розвитку захворювання.

За умов IV стадії остеоартрозу майже всі показники суттєво відрізнялися від контролю з високим ступенем статистичної достовірності. Одночасно підвищувалася концентрація сіалових кислот, глікопротеїнів, гаптоглобіну, церулоплазміну, гексозамінів та гексоз, пов'язаних з білком, а також хондроїтинсульфатів як компонентів протеогліканів, що притаманно альтеративним змінам деструктивного характеру.

Показник суми фракцій глікозаміногліканів майже не змінювався. Проте аналіз фракційного складу глікозаміногліканів дозволив побачити, що за умов IV стадії остеоартрозу спо-



Таблиця 1 – Порівняння значень біохімічних показників сироватки крові хворих із I-IV стадіями остеоартрозу

Біохімічний показник		Контроль-на група	I стадія	II стадія	III стадія	IV стадія
Сіалові кислоти	n	30	42	96	76	63
	M±m, ммоль/л	1,91±0,17	2,23±0,04	2,86±0,09 <sup>1)</sup>	2,62±0,11	4,42±0,21 <sup>1)</sup>
	Різниця з контролем, %	–	+16,76	+49,74	+37,20	+131,50
Сероглікоїди	n	30	42	96	76	63
	M±m, г/л	0,38±0,06	0,41±0,06	0,55±0,03 <sup>1)</sup>	0,58±0,04 <sup>1)</sup>	0,74±0,09 <sup>1)</sup>
	Різниця з контролем, %	–	+7,90	+44,74	+52,70	+94,80
Гаптоглобін	n	30	18	33	41	38
	M±m, г/л	0,70±0,02	0,76±0,09	0,91±0,05	1,07±0,07	1,54±0,11 <sup>1)</sup>
	Різниця з контролем, %	–	+8,58	+30,00	+52,90	+120,00
Церулоп-лазмін	n	30	15	35	32	31
	M±m, г/л	0,22±0,01	0,24±0,04	0,32±0,03 <sup>1)</sup>	0,45±0,05 <sup>1)</sup>	0,68±0,04 <sup>1)</sup>
	Різниця з контролем, %	–	+9,09	+45,46	+104,60	+209,10
Загальні хондроїтин-сульфати	n	30	20	30	76	63
	M±m, г/л	0,08±0,01	0,15±0,04	0,27±0,02 <sup>2)</sup>	0,31±0,03 <sup>3)</sup>	0,38±0,05 <sup>3)</sup>
	Різниця з контролем, %	–	+87,50	+237,50	+287,50	+375,00
Сума глікоза-міногліканів	n	30	42	30	27	29
	M±m, ум. од.	12,1±0,96	12,00±0,25	11,72±0,32	12,67±0,81	14,31±0,74
	Різниця з контролем, %	–	-0,90	-3,20	+4,80	-18,30
Хондроїтин-6-сульфат	n	30	20	30	27	29
	M±m, ум. од.	5,85±0,27	6,67±0,11 <sup>1)</sup>	8,02±0,21 <sup>1)</sup>	8,12±0,30	9,72±0,31 <sup>1)</sup>
	Різниця з контролем, %	–	+14,02	+37,10	+38,80	+66,20
Хондроїтин-4-сульфат	n	30	20	30	27	29
	M±m, ум. од.	3,90±0,44	2,88±0,23 <sup>1)</sup>	2,13±0,18 <sup>1)</sup>	2,61±0,11	1,90±0,21 <sup>1)</sup>
	Різниця з контролем, %	–	-26,20	-45,40	-33,10	-51,30
Кератансульфати	n	30	20	30	27	29
	M±m, ум. од.	2,80±0,28	1,77±0,09 <sup>1)</sup>	1,57±0,10	1,95±0,12	2,71±0,23 <sup>1)</sup>
	Різниця з контролем, %	–	-36,80	-44,00	-30,40	-3,30
Гексозаміни	n	30	20	30	27	29
	M±m, г/л	1,15±0,12	1,85±0,14 <sup>1)</sup>	2,46±0,13 <sup>1)</sup>	3,02±0,21 <sup>1)</sup>	3,86±0,18 <sup>1)</sup>
	Різниця з контролем, %	–	+60,87	+113,92	+162,60	+235,70
Гексози, пов'язані з білком	n	30	20	30	27	29
	M±m, г/л	1,40±0,14	1,62±0,12 <sup>1)</sup>	2,19±0,16 <sup>1)</sup>	3,00±0,22 <sup>1)</sup>	3,90±0,26 <sup>1)</sup>
	Різниця з контролем, %	–	+15,72	+56,43	+114,30	+178,60

Примітка. <sup>1)</sup> – показники, що достовірно відрізняються від відповідних показників попередньої стадії захворювання.

стерігався їх перерозподіл: вміст фракції I (хондроїтин-6-сульфат) значно збільшувався (на 66 %), тоді як концентрація II фракції (хондроїтин-4-сульфат), навпаки, зменшувалася на 52 %. Таким чином, спостерігалось значне відхилення від показників контрольної групи майже всіх біохімічних тестів.

Апробація діагностичного комплексу показала високу ДЧ таких показників, як вміст у сироватці й крові хондроїтин-6-сульфату, хондроїтин-4-сульфату, кератансульфатів, сероглікоїдів, активність кислоти і лужної фосфатази, сіалових кислот, суми хондроїтинсульфатів, екскреції із сечею уронових кислот та гідроксипроліну (табл. 2). Запропонований комплекс

дозволив отримати суттєву додаткову інформацію про метаболічні процеси при остеоартрозі великих суглобів для оцінки стадійності й особливостей перебігу даного захворювання. Так, відхилення метаболізму ГАГс та колагену за допомогою використаних методів можуть бути зафіксовані ще на I стадії остеоартрозу за Келегреном та Лоуренсом при відсутності виражених клінічних та рентгенологічних проявів захворювання.

Для пацієнтів із I стадією остеоартрозу великих суглобів ознаками захворювання були зменшення рівня загальних ГАГс (ДЧ=67 %) та вмісту хондроїтин-4-сульфату і кератансульфатів (ДЧ=52 та 62 % відповідно), підвищен-

Таблиця 2 – **Діагностична чутливість деяких біохімічних показників обміну сполучної тканини для поетапного діагностування остеоартрозу, %**

Показник	Стадія остеоартрозу			
	I	II	III	IV
Вміст суми глікозаміноглікансульфатів	67	45	95	80
Вміст хондроїтин-6-сульфату	71	85	95	80
Вміст хондроїтин-4-сульфату	52	67	95	80
Вміст кератансульфатів	62	85	95	96
Вміст суми хондроїтинсульфатів	62	87	до 100	100
Вміст сіалових кислот	22	54	до 100	65
Вміст сероглікоїдів	17	34	до 100	74
Вміст церулоплазміну	16	41	86	48
Активність лужної фосфатази	15	68	до 100	100
Активність кислої фосфатази	17	59	до 100	76
Екскреція уронових кислот	53	65	51	65
Екскреція гідроксипроліну	33	56	69	45
Коефіцієнт відношення екскреції уронових кислот до екскреції гідроксипроліну	34	86	95	100

ня вмісту хондроїтин-6-сульфату (ДЧ=71 %), загальних хондроїтинсульфатів (ДЧ=62 %), незначне збільшення екскреції уронових кислот (ДЧ=53 %) та гідроксипроліну (ДЧ=33 %). Коефіцієнт відношення екскреції уронових кислот до екскреції гідроксипроліну зменшувався у 34 % хворих.

Вміст показників запалення мав незначні відхилення від норми. ДЧ вмісту сіалових кислот складала 22 %, сероглікоїдів – 17 %, церулоплазміну – 16 %. Активність лужної та кислої фосфатаз суттєво не змінювалася (ДЧ становила, відповідно, 15 і 17 %).

Для пацієнтів із II стадією остеоартрозу було характерне несуттєве підвищення вмісту суми ГАГс (ДЧ=45 %) за рахунок збільшення кількості хондроїтин-6-сульфату (ДЧ=85 %) зі зменшенням вмісту хондроїтин-4-сульфату та кератансульфатів (ДЧ=67 та 85 % відповідно). Зафіксовано також зростання вмісту суми хондроїтинсульфатів (ДЧ=87 %), що в сукупності свідчить про те, що при остеоартрозі збільшення вмісту ГАГс має місце, головним чином, за рахунок хондроїтин-6-сульфату, що, з одного боку, посилено вивільняється з матриксу хрящової тканини, а з іншого – всі наново синтезовані молекули не можуть міцно прикріпитися до існуючого хряща. Також можна припустити компенсаторне підвищення біосинтезу зазначених макромолекул. Спостерігалася невелика гіперекскреція уронових кислот (ДЧ=65 %) та гідроксипроліну (ДЧ=56 %). Підвищення екскреції макромолекул було характерне більшим чином для молодих пацієнтів та осіб середнього віку. В осіб стар-

шого віку зазначені показники перебували на рівні верхніх меж норми. Зі збільшенням стадійності перебігу остеоартрозу зменшувався коефіцієнт відношення екскреції уронових кислот до екскреції гідроксипроліну (ДЧ=86 %). Зі зростанням деструктивних змін та розвитком синовіту підвищувалася активність лужної (ДЧ=68 %) та кислої (ДЧ=59 %) фосфатаз. Вираження показників запалення було помірним. ДЧ сіалових кислот складала 54 %, сероглікоїдів – 34 % та церулоплазміну – 41 %.

III стадія остеоартрозу відзначилася маніфестацією наведених вище змін фракційного складу ГАГс сироватки крові пацієнтів (ДЧ до 95 %) та вмісту загальних хондроїтинсульфатів (ДЧ до 100 %). У пацієнтів маніфестував запальний процес, що характеризувався збільшенням вмісту сіалових кислот та сероглікоїдів (ДЧ близько 100 %), а також церулоплазміну (ДЧ=86 %). Активність лужної та кислої фосфатаз підвищувалася також майже в 100 % випадків через перебудову підлягаючої кісткової тканини. Серед екскретованих макромолекул за інформативністю переважав гідроксипролін (ДЧ=69 %) над уроновими кислотами (ДЧ=51 %). Коефіцієнт відношення екскреції уронових кислот до екскреції оксипроліну був зменшений порівняно з контролем (ДЧ близько 95 %).

IV стадія остеоартрозу (виражене захворювання) призводила до збільшення вмісту в сироватці крові суми ГАГс (ДЧ=80 %) за рахунок хондроїтин-6-сульфату (ДЧ=100 %). Вміст хондроїтин-4-сульфату і кератансульфатів був знижений у 80 та 96 % випадків відповідно.

При цьому спостерігалось підвищення вмісту загальних хондроїтинсульфатів (ДЧ=100 %). Збільшувалась екскреція оксипроліну (ДЧ=45 %). Екскреція уронових кислот, навпаки, була знижена у 65 % пацієнтів. Коефіцієнт відношення екскреції уронових кислот до екскреції гідроксипроліну мав ДЧ 100 %. Також у 100 % випадків була підвищена активність лужної фосфатази та у 76 % випадків – кислоти. Разом із тим, спостерігалось зменшення інформативності показників, що характеризують запальний процес. Так, ДЧ церулоплазміну знизилась до 48 %, сіалових кислот – до 65 %, а сероглікоїдів – до 74 %.

Запропонований комплекс методів може бути застосований у лабораторіях біохімії закладів практичної охорони здоров'я. Його використання має високу діагностичну цінність і може сприяти більш точному та ранньому встановленню діагнозу, що дозволить вчасно застосувати оптимальну лікувальну тактику.

**ВИСНОВКИ.** 1. Кожна стадія остеоартрозу характеризується комплексом специфічних

порушень метаболізму глікопротеїнів та глікозаміногліканів. Ці порушення знаходять відображення у складі біологічних рідин.

2. Інформативність окремих біохімічних показників змінюється залежно від стадії захворювання, тому доцільно використовувати їх у межах запропонованого комплексу, що збільшує їх сумарну діагностичну цінність.

3. Найбільшу діагностичну чутливість виявлено для вмісту в сироватці крові фракцій кератансульфатів, хондроїтин-6-сульфату, хондроїтин-4-сульфату, суми глікозаміногліканів, загальних хондроїтинсульфатів, сероглікоїдів та сіалових кислот, активності лужної та кислоти фосфатази, коефіцієнта відношення екскреції уронових кислот до екскреції гідроксипроліну.

4. В міру прогресування остеоартритичного процесу зростала як загальна активність лужної фосфатази, так і частка її кісткового ізоферменту.

5. Дослідження метаболітів глікопротеїнів та глікозаміногліканів у біологічних рідинах можуть сприяти вдосконаленню діагностики різних стадій остеоартрозу.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Біохімічні методи дослідження крові хворих : методичні рекомендації для лікарів хіміко-токсикологічних відділів державних лабораторій ветеринарної медицини України / [В.І. Левченко, Ю.М. Ножовитська, В.В. Сахнюк та ін.]. – К., 2004. – 104 с.

2. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц ; пер. с англ. – М. : Практика, 1998. – 459 с.

3. Дядык А.И. Современные подходы к диагностике и лечению остеоартроза / А.И. Дядык, Н.И. Шпилевая, И.И. Здоховская. – Донецк, 2005. – 32 с.

4. Казимирко В.К. Первичный (возрастзависимый, инволюционный) остеоартроз / В.К. Казимирко, В.Н. Коваленко, В.И. Мальцев. – К. : Морион, 2006. – 175 с.

5. Камышников В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика : справочник : в 2 т. / В.С. Камышников. – Минск : Интерсервис, 2003. – Т. 1. – 495 с.

6. Медицинские лабораторные технологии и диагностика : справочник / Под ред. А.И. Карпищенко. – СПб. : Интермедика, 1999. – Т. 2. – С. 307.

7. Остеоартроз. Консервативная терапия / [Н.А. Корж, А.Н. Хвисьок, Н.В. Дедух и др.] ; под ред.

Н.А. Коржа, Н.В. Дедух, И.А. Зупанца. – Х. : Золотые страницы, 2007. – 424 с.

8. Пат. на корисну модель 29198 Україна. МПК<sup>7</sup> G 01N 33/48. Спосіб визначення фракцій сульфатованих гексозаміногліканів / Леонтьєва Ф.С., Філіпенко В.А., Тимошенко О.П., Карташов М.І., Кібкало Д.В., Туляков В.О., Рябкова Л.П.; заявник і патентовласник ДУ "Інститут патології хребта та суглобів імені проф. М.І. Ситенка АМН України; Харківська державна зооветеринарна академія. – № у 200708505; заявл. 24.07.07; опубл. 10.01.08, Бюл. № 1.

9. Пат. на корисну модель 35984 Україна. МПК (2006) A61B5/00, G 01N 33/53. Спосіб диференційної діагностики ранніх стадій остеоартрозу великих суглобів / Філіпенко В.А., Леонтьєва Ф.С., Туляков В.О., Корж І.В., Іванова І.В.; заявник та патентовласник ДУ "Інститут патології хребта та суглобів імені проф. М.І. Ситенка АМН України". – № у 200805921; заявл. 07.05.08; опубл. 10.10.08, Бюл. № 19.

10. Шараев П.Н. Метод определения свободного и связанного оксипролина в сыворотке крови / П.Н. Шараев // Лаб. дело. – 1981. – № 5. – С. 283-285.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРИНЦИПОВ ДОКАЗАТЕЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ОСТЕОАРТРОЗА

### Резюме

Объектом исследования были показатели метаболизма гликопротеинов и гликозаминогликанов в сыворотке крови и суточной моче больных остеоартрозом крупных суставов.

Проведено исследование показателей обмена соединительной ткани, активности маркерных ферментов, экскреции макромолекул матрикса соединительной ткани в сыворотке крови 120 больных с I-IV стадиями остеоартроза крупных суставов. Установлены особенности изменений, характерных для его стадий, проведена оценка диагностической чувствительности изученных показателей.

Наиболее информативными были следующие показатели: содержание в сыворотке крови фракций кератансульфатов, хондроитин-6-сульфата, хондроитин-4-сульфата, суммы гликозаминогликанов, общих хондроитинсульфатов, серогликоидов и сиаловых кислот, активность щелочной и кислой фосфатаз, коэффициент отношения экскреции уроновых кислот к экскреции гидроксипролина.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **биохимия, исследование, остеоартроз, диагностическая чувствительность.**

F.S. Leontjeva, V.O. Tuljakov

M.I. SYTENKO INSTITUTE OF SPINE AND JOINT PATHOLOGY OF AMSU, KHARKIV

## USE OF PRINCIPLES OF EVIDENTIAL MEDICINE FOR LABORATORY DIAGNOSTICS OF OSTEOARTHRISIS

### Summary

The object of research is a glycoproteines and glycosaminoglycanes metabolism parameters in blood serum and urine patients with osteoarthritis of the great joints.

The researches connective tissue metabolism parameters, marker enzyme activity, excretion matrix macromolecules in the blood serum of the 120 patients with I-IV stages of osteoarthritis of the great joints are made. The changes peculiarities which are a characteristic for these stages, the appraisal of a diagnostic sensitivity of the studied parameters.

The following indexes found out most informing: table of contents in the blood serum of fractions of the keratansulfates, chondroitin-6-sulfate, chondroitin-4-sulfate, sum of the glycosaminoglycansulfates, the base and acid phosphatases activities and coefficient of relation of egestion of uronic acids to the egestion of hydroxyproline.

KEY WORDS: **biochemistry, research, osteoarthritis, diagnostic sensitivity.**

Отримано 29.12.09.

Адреса для листування: Ф.С. Леонтьева, Інститут патології хребта та суглобів імені проф. М.І. Ситенка АМН України, вул. Пушкінська, 80, Харків, 61002, Україна.

## ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДУ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ ДЛЯ АНАЛІЗУ МАГНІТНОГО ЛІКАРСЬКОГО ПРЕПАРАТУ У ФОРМІ МАЗІ З МАГНЕТИТОМ

*Визначено оптимальні умови кількісного аналізу діоксидину, метилурацилу та тримекаїну в розробленій лікарській формі – мазі з магнетитом з магнітними властивостями для лікування запальних захворювань глотки і мигдаликів. Кількісне визначення діючих речовин запропоновано проводити методом вискоелективної рідинної хроматографії.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: кількісний аналіз, рідинна хроматографія.

**ВСТУП.** Хронічний тонзиліт є широко розповсюдженим захворюванням, яке часто супроводжується патологічними змінами в мигдаликах, що порушує імунологічну функцію організму [4, 6]. Було розроблено магнітну мазь з магнетитом на основі поліетиленоксидів з діоксидином, метилурацилом та тримекаїном для місцевого лікування запальних захворювань глотки і мигдаликів при фіксуванні засобу в зоні запалення магнітом зовні [1].

Нині накопичено значний досвід щодо використання магнітного поля при лікуванні цілого ряду захворювань [5, 7, 10]. Новим кроком у подальшому розвитку магнітотерапії є застосування лікарських препаратів, які у своєму складі містять магнітний компонент [8, 9, 11].

Для здійснення контролю якості магнітного засобу необхідно розробити селективні методики аналізу. При цьому важливо врахувати присутність магнітного компонента в складі засобу та віддавати перевагу більш селективним і відтворювальним методикам з використанням сучасного обладнання, які дозволяють одночасно визначити всі діючі речовини якісно та кількісно.

Метою дослідження стала розробка методики кількісного визначення діючих речовин мазі з урахуванням наявності магнетитового компонента з використанням методу вискоелективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Кількісне визначення дослідних компонентів проводили на рідинному хроматографі з діодно-матричним детектором згідно з Державною Фармакопеєю

України (доповнення 1, 2.2.29) [2, 3] за спеціальних умов: колонка розміром 250×4,6 мм, заповнена октадецилсилікагелем (Symmetry C18, Waters), із розміром частинок 5 мкм; детектування здійснювали за довжини хвилі 215 нм; швидкість рухомої фази – 0,9 мл/хв; температура термостата колонки – 30 °С.

Для скорочення часу дослідження застосували режим градієнтного елюювання (табл.1). Рухома фаза 1 – ацетонітрил; рухома фаза 2 – буферний розчин із рН 3,0 (водний розчин LiClO<sub>4</sub>), дегазацію проводили з використанням вакууму. Це дозволило розділити дослідні компоненти та проводити аналіз компонентів з максимальною ефективністю за час одного дослідження. Використання селективного методу розділення компонентів зводить пробопідготовку до приготування істинних розчинів аналітичних речовин і подальшого повного перенесення проби в хроматографічну систему.

Для приготування випробовуваного розчину (ВР) відбирали 0,5 г мазі (точна наважка), переносили кількісно в мірну колбу на 25 мл, об'єм колби до позначки доводили розчином метанолу у воді (50:50). Витримували суміш протягом 10 хв на ультразвуковій бані, охолоджували та перемішували її на магнітній мішалці ще 10 хв. Одержану суміш фільтрували крізь паперовий фільтр (синя стрічка) та шприцевий тефлоновий фільтр 0,45 мкм. Шляхом фільтрування розчину видаляли частинки магнетиту для запобігання потраплянню частинки в інжектор та колонку.

Для приготування розчину порівняння (РП) 0,02 г (точна наважка) ФСЗ ДФУ діоксидину, 0,08 г (точна наважка) ФСЗ ДФУ метилураци-

Таблиця 1 – Програма градієнтного елювання

№	Час, хв	Потік, мл/хв	Вміст рухомої фази 1, %	Вміст рухомої фази 2, %	Режим елювання
1	0	0,8	100	0	ізократичний
2	5	0,8	100	0	ізократичний
3	15	0,8	40	60	лінійний градієнт
4	25	1	40	60	ізократичний
5	27	1	100	0	лінійний градієнт
6	35	1	100	0	ізократичний

лу та 0,06 г (точна наважка) ФСЗ ДФУ тримекаїну перенесли в мірну колбу на 100 мл, додавали 50 мл метанолу і витримували протягом 10 хв на ультразвуковій бані. Одержаний розчин охолоджували, доводили об'єм розчину водою до позначки, знову витримували на ультразвуковій бані 10 хв та фільтрували крізь ПОР 16, відкидаючи перші 10 мл фільтрату.

Хроматографували 20 мкл розчину порівняння, одержуючи від 2 до 6 хроматограм. За площами піків діоксидину, метилурацилу і тримекаїну з отриманих хроматограм розраховували значення відносного стандартного відхилення (RSD). Одержання серій паралельних хроматограм припиняли при досягненні умов, вказаних у таблиці 2.

Вміст діоксидину в 1 г препарату повинен становити від 0,9 до 1,1 %, метилурацилу – від 3,6 до 4,4 %, тримекаїну – від 2,7 до 3,3 %.

Результати аналізу вважають вірогідними, якщо виконуються вимоги тесту “Перевірка придатності хроматографічної системи” [2, 3].

Хроматографічну систему вважають придатною, якщо виконуються такі умови:

- ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком діоксидину, метилурацилу і тримекаїну, на хроматограмі розчину порівняння повинна бути не меншою 1000 теоретичних тарілок;

- коефіцієнт симетрії піку, розрахований за піком діоксидину, метилурацилу і тримекаїну, розрахований із хроматограм розчину порівняння, повинен бути не більшим 2,5.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Хроматограми випробовуваного розчину та розчину порівняння наведено на рисунку 1.

Терміни затримки піків діоксидину, метилурацилу і тримекаїну ВР магнетитової мазі повністю збігаються з термінами затримки піків РП, що є якісною характеристикою тотожності даних речовин. При цьому високий ступінь розділення піків вказує на селективність та специфічність методики, відсутність інших зон затримки піків на хроматографі, інформує про

Таблиця 2 – Вимоги до RSD при хроматографуванні розчину порівняння

Кількість хроматограм в серії	2	3	4	5	6
Для допуску вмісту $\pm 10\%$	RSD(%)<				
	0,51	1,34	1,92	2,37	2,75

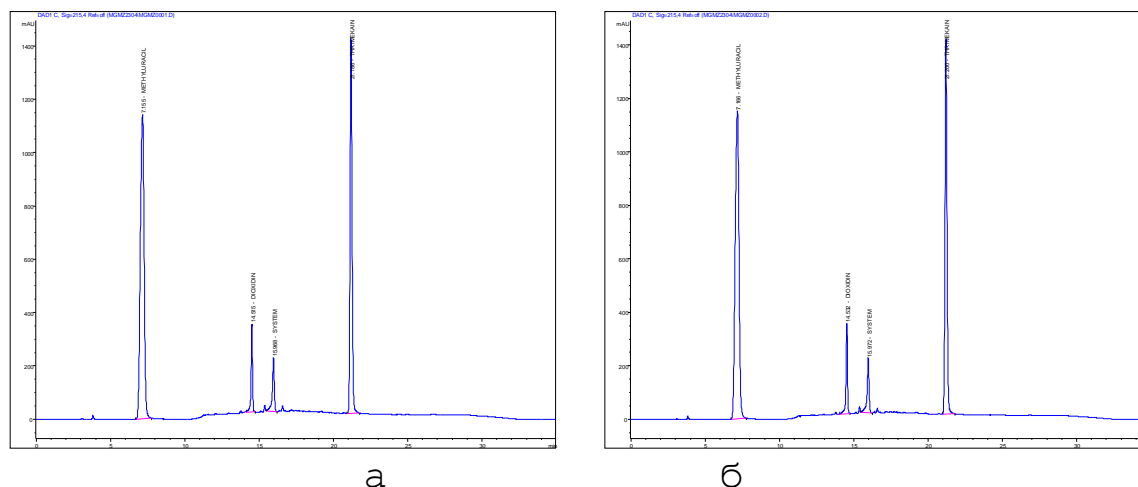


Рис. 1. Хроматограми випробовуваного розчину (а) та розчину порівняння (б).

відсутність супутніх домішок у дослідному зразку мазі.

Вміст діоксидину, метилурацилу і тримекаїну (X) в препараті визначали за відношенням середніх значень площ піків із хроматограм ВР ( $S_1$ ) та РП ( $S_0$ ) з урахуванням маси наважки мазі ( $m_0$ ), маси діоксидину, метилурацилу і тримекаїну в РП (m) та коефіцієнтом розведення (P) за формулою:

$$X = P \frac{S_1 \times m_0 \times 25 \times P \times 100}{S_0 \times m \times 100 \times 100}$$

Попередні розрахунки невизначеності пробопідготовки, невизначеності кінцевої аналітичної операції та максимальної невизначеності аналітичної методики дозволяють встановити припуски вмісту діючих речовин  $\pm 10$  %. Таким чином, кількісний вміст діючих речовин мазі, який було розраховано, становить: діоксидину – (1,0 $\pm$ 0,1) мг/г, метилурацилу – (4,0 $\pm$ 0,4) мг/г, тримекаїну – (3,0 $\pm$ 0,3) мг/г, що повністю збігається з рецептурними даними.

Підібрані параметри тесту “Перевірка придатності хроматографічної системи” забезпечують виконання всіх умов, які дозволяють одержати високий ступінь розділення піків діоксидину, метилурацилу і тримекаїну, низьке значення відносного стандартного відхилення для площ піків.

**ВИСНОВКИ.** 1. Для стандартизації та оцінки якості розробленої мазі з магнетитом визначено методику кількісного аналізу діоксидину, метилурацилу і тримекаїну без їх попереднього розділення з водно-спиртової витяжки з використанням градієнтного методу високоефективної рідинної хроматографії.

2. Застосування розробленого методу значно скорочує час аналізу, дозволяє визначити якість магнітного засобу за декількома показниками одночасно – ідентифікація, кількісне визначення.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ведерникова І.О., Дмитрієвський Д.І., Левітін Є.Я. Розробка складу магнітного засобу для лікування запалень глотки та мигдаликів // Фармаком. – 2009. – № 3 (59). – С. 38-40.
2. Державна Фармакопея України / Під ред. В.П. Георгієвського, О.І. Гризодуба, М.Г. Левіна та ін. – 1-ше вид. – Х.: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
3. Державна Фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”. – 1-ше вид. – Доповнення 2. – Харків: Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”, 2008. – 620 с.
4. Филатова С.В. Иммуный статус больных хроническим тонзиллитом // Вестник оториноларингологии. – 2002. – № 1. – С. 18-21.
5. Amirfazli A. // Nature Nanotechnology. – 2007. – № 22. – P. 1-2.
6. Brandtzaeg P. Immunocompetent cells of the upper airway: function in normal and diseased mucosa // Eur. Arch. Otorhinolaryng. – 1995. – **252**, Suppl. 1. – P. 8-21.
7. Han L., Li S., Yang Y. Comparison of magnetite nanocrystal formed by biomineralization and chemosynthesis // Journal of magnetism and magnetic materials. – 2007. – № 313. – P. 236-242.
8. Maynard Andrew D., Pui David Y.H. Nanoparticles and Occupational Health // Journal of nanoparticle research. – 2007. – № 9 (1) – P. 186-192.
9. Tuan Vo-Din. Nanotechnology in biology and medicine. – CRC Press, 2007. – 792 p.
10. Vereda F., Vicente J., Hidalgo-Alvarez R. // Langmuir. – 2007. – № 23. – P. 3581-3590.
11. Wilfried Andra and Hannes Nowak. Magnetism in medicine. – Berlin: Wiley-VCH, 2006. – 631 p.

## **ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ АНАЛИЗА МАГНИТНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА В ФОРМЕ МАЗИ С МАГНЕТИТОМ**

### **Резюме**

*Определены оптимальные условия количественного анализа диоксидина, метилурацила и тримекаина в разработанной лекарственной форме – мази с магнетитом с магнитными свойствами для лечения воспалительных заболеваний глотки и миндалин. Количественное определение действующих веществ предложено проводить методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** количественный анализ, жидкостная хроматография.

**I.O. Vedernikova**  
NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

## **APPLICATION OF HIGHLY-EFFECTIVE LIQUID CHROMATOGRAPHY IN PERFORMING ANALYSIS OF MAGNETIC MEAN IN FORM OF OINTMENT WITH MAGNETITE**

### **Summary**

*The optimal conditions of quantitative analysis of dioxidinum, metyluracile and trimecain in the developed medicinal form - ointment with magnetite with magnetic properties for medical treatment of inflammatory diseases of throat and almonds has been worked out. The quantitative determination of main compounds was offered to carry out with the help of high qualitative liquid chromatography method.*

**KEY WORDS:** quantitative analysis, liquid chromatography.

Отримано 19.03.10

**Адреса для листування:** I.O. Ведерникова, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна.



**АНАЛІЗ ЛІПОФІЛЬНИХ ФРАКЦІЙ НАДЗЕМНОЇ ЧАСТИНИ ДЕЯКИХ  
ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ *HYPERICUM L.***

У статті наведено результати аналізу ліпофільних фракцій надземної частини 5 представників роду *Hypericum L.*, визначено числові показники – вологу, кислотне число, кількісний вміст похідних хлорофілу, а також досліджено ранозагоювальну дію та антимікробну активність ліпофільних фракцій, які вивчають.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** рід *Hypericum L.*, хлорофіли, кислотне число, ранозагоювальна дія, антимікробна активність.

ВСТУП. Рослини роду *Hypericum L.* широко застосовують у народній та науковій медицині багатьох країн світу [8-10].

Одним з активних компонентів є звіробій-на олія, яка використовується народною медициною зовнішньо в дерматології, стоматології, гінекології, а також як протипухлинний засіб [1, 2].

Сучасні виробники лікарських та парфумерно-косметичних засобів приділяють велику увагу розробці лікарських засобів, до складу яких входять біологічно активні речовини ліпофільної природи, тому вивчення сполук ліпофільних фракцій деяких видів роду *Hypericum L.* ми вважаємо актуальним.

Продовжуючи роботи з вивчення надземної частини 5 представників роду *Hypericum L.* [3, 4], нами була поставлена мета – визначити відсотковий вміст похідних хлорофілу, вологу, кислотне число та фармакологічну дію ліпофільних фракцій.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Об'єктом наших досліджень була надземна частина 5 видів роду *Hypericum L.* – звіробою звичайного, звіробою плямистого, звіробою жорстковоло-сого, звіробою стрункого та звіробою великого, зібраних у різні роки на території Харківської, Курської, Ярославської областей, Хабаровського краю, а також отриманих з Державної науково-дослідної станції лікарських рослин (Крим).

Визначення хімічних числових показників ліпофільних фракцій, отриманих з надземної частини 5 видів роду *Hypericum L.*, проводили за допомогою загальновідомих методик [5-7].

© В.П. Гапоненко, О.Л. Левашова, А.Г. Сербін, 2010.

Оптичну густину отриманих розчинів визначали на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 654 нм у кюветах при товщині поглинаючого шару 10 мм. Як розчин порівняння використовували етиловий спирт [11].

Для визначення ранозагоювальної дії ліпофільних фракцій у білих щурів обох статей масою 150-180 г, яких утримували на раціоні віварію, на зстриженій частині спини розрізали шкіру до м'язів довжиною 4 см та робили 3 шви. Про ранозагоювальну дію судили за величиною вантажу, необхідного для розриву рубцевої тканини, який проводили на 7 добу після нанесення рани. Ліпофільний комплекс випробовували у вигляді 1 % розчину в соняшниковій олії, яким покривали рани кожного дня протягом 7 дб.

При виконанні роботи дотримувалися основних вимог Ванкуверської конвенції (1979, 1994) про біомедичні експерименти. Усі маніпуляції проводили під ефірним наркозом.

Антимікробну активність ліпофільних фракцій вивчали із застосуванням методу дифузії у поживний агар відносно таких тест-мікроорганізмів: *Bacillus cereus* NCTC 8035, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, *Escherichia coli* M-17, *Pseudomonas aeruginosa* "Тесаков", *Streptococcus pyogenes* DICK-1, *Proteus vulgaris* HX 19 № 222, *Candida albicans* NCTC 885-653.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Проведено визначення хімічних числових показників ліпофільних фракцій, отриманих з надземної частини 5 видів роду *Hypericum L.* Результати наведено в таблиці 1.

Аналіз даних показав, що значення кислотного числа для ліпофільних фракцій усіх досліджуваних видів коливалося в межах від

Таблиця 1 – Числові показники ліпофільного комплексу звіробою (ЛКЗ) в досліджуваних видах

Назва об'єкта	Місце збору	Волога, (%)	Кислотне число, мг/г	Вміст похідних хлорофілу, %
Звіробій звичайний ( <i>Hypericum perforatum</i> L.)	Харківська область	20,02	8,54	1,57
Звіробій плямистий ( <i>H. maculatum</i> Grants.)	Курська область	21,03	8,58	1,54
Звіробій жорстковолосий ( <i>H. hirsutum</i> L.)	Куська область	21,04	8,18	1,51
Звіробій стрункий ( <i>H. elegans</i> Steph.)	Крим	20,18	8,27	1,52
Звіробій великий ( <i>H. ascyron</i> L.)	Хабарівський край	22,14	8,31	1,46

8,18 до 8,58 мг/г, вологи – від 20,02 до 22,14 %. Найбільше значення кислотного числа було характерне для звіробою плямистого (8,58 мг/г), найменше – для звіробою стрункого (8,27 мг/г).

Максимальний кількісний вміст хлорофілів склав у ліпофільній фракції звіробою звичайного 1,57 %. Вміст хлорофілів у ліпофільній фракції звіробою великого мав мінімальне значення – 1,46 %, що пов'язано з наявністю у досліджуваній надземній частині великої кількості квіток відносно листків та стебел. Кількісний вміст хлорофілів у ліпофільних фракціях звіробою плямистого, звіробою жорстковолосого, звіробою стрункого та звіробою великого склав 1,54; 1,51; 1,52 % відповідно.

Як показали проведені фармакологічні дослідження, використання ліпофільного комплексу звіробою звичайного у вигляді 1 % розчину в соняшниковій олії збільшило міцність рубця на 18,4 %, а дія 1 % розчину ліпофільного комплексу звіробою плямистого, звіробою жорстковолосого, звіробою стрункого та звіробою великого характеризувалась збільшенням міцності рубця на 18,2; 16,3; 18,1 та 17,8 % відповідно.

Визначено антимікробну активність 5 ліпофільних фракцій відносно 7 штамів мікроорганізмів. Виражену антимікробну дію відносно *Staphylococcus aureus* та споруутворюючої палички *Bacillus cereus* проявили ліпофільні

екстракти звіробою звичайного, звіробою плямистого, звіробою жорстковолосого та звіробою стрункого.

**ВИСНОВКИ.** 1. Визначено кількісний вміст хлорофілів у ліпофільних фракціях звіробою плямистого, звіробою жорстковолосого, звіробою стрункого та звіробою великого.

2. Визначено хімічний числовий показник ліпофільних фракцій – кислотне число ліпофільних фракцій звіробою плямистого, звіробою жорстковолосого, звіробою стрункого та звіробою великого.

3. Встановлено наявність ранозагоювальної дії ліпофільних фракцій звіробою звичайного, звіробою плямистого, звіробою жорстковолосого, звіробою стрункого та звіробою великого.

4. Виражену антимікробну дію відносно *Staphylococcus aureus* та споруутворюючої палички *Bacillus cereus* проявили ліпофільні екстракти звіробою звичайного, звіробою плямистого, звіробою жорстковолосого, звіробою стрункого.

5. Отримані дані можуть мати практичне значення для створення нових лікарських препаратів на основі ліпофільних комплексів звіробою звичайного, звіробою плямистого, звіробою жорстковолосого, звіробою стрункого та звіробою великого.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Айзенман В.Е., Дербенцева Н.А. Антимікробные препараты из зверобоя. – К.: Наукова думка, 1976. – 176 с.

2. Балицкий К.П., Воронцова А.А. Лекарственные растения и рак. – К.: Наукова думка, 1982. – 376 с.

3. Гапоненко В.П., Левашова И.Г., Сербин А.Г. Изучение возможностей рационального использования представителей рода *Hypericum* L. в Украине // Запорожский мед. журн. – 2008. – № 2. – С. 45-47.

4. Гапоненко В.П., Левашова И.Г., Сербин А.Г. Исследование липофильного комплекса зверобоя продырявленного и четырехгранного //Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики: Зб. наук. статей. – Запоріжжя, 2006 – Вип. 15, Т. 1. – С. 235.

5. Государственная Фармакопея СССР / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1987. – Вып. 1: Общие методы анализа. – 336 с.

6. Державна Фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”. – 1-ше вид. – Х.: РІРЕГ, 2001. – 556 с.

7. Державна Фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний

центр”. – 1-ше вид. – Доповнення 1. – Х.: РІРЕГ, 2004. – 494 с.

8. Кесев П.А. Полный справочник лекарственных растений. – М.: ЭКСМО-Пресс, 2001. – 992 с.

9. Маковецька О.Ю., Громов Л.О., Пішель В.Я. та ін. Порівняльне дослідження спектра антидепресантної активності сухого екстракту трави звіробою // Клінічна фармація. – 2001. – 5, № 1. – С. 73-77.

10. Носаль І.М. Від рослини – до людини: Розповіді про лікувальні та лікарські рослини України. – К.: Веселка, 1995. – 606 с.

11. Технология и стандартизация лекарств / Под ред. В.П. Георгиевского. – Х. ООО Ригер, 1996. – 784 с.

**В.П. Гапоненко, О.Л. Левашова, А.Г. Сербин**  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

## АНАЛИЗ ЛИПОФИЛЬНЫХ ФРАКЦИЙ НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *HYPERICUM L.*

### Резюме

*В статье приведены результаты анализа липофильных фракций надземной части 5 представителей рода *Hypericum L.*, определены числовые показатели – влага, кислотное число, количественное содержание производных хлорофилла, а также исследованы ранозаживляющее действие и антимикробная активность изучаемых липофильных фракций.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** род *Hypericum L.*, хлорофиллы, кислотное число, ранозаживляющее действие, антимикробная активность.

**V.P. Haponenko, O.L. Levashova, A.H. Serbin**  
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

## ANALYSIS OF LYPOPHILIC FRACTION OVERGROUND PART FROM SOME SPECIES OF *HYPERICUM L.* GENUS

### Summary

*The work presents the results of the study of lipophilic fraction from five species of *Hypericum L.* genus. The quantitative contents of lipophilic fraction has been determined in the raw material. We have established the quantitative content of chlorophylls in lipophilic fraction from five species of *Hypericum L.* genus and acid number. We have studied the pharmacological activity of lipophilic fraction.*

**KEY WORDS:** genus *Hypericum*, chlorophylls, acid number, antimicrobial activity.

Отримано 23.11.09

Адреса для листування: В.П. Гапоненко, вул. Грицевця, 52-А, кв. 21, Харків, 62172, Україна.

**І.В. Українець, О.В. Моспанова<sup>1</sup>, Л.О. Гріневич, О.В. Колісник**  
 НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ  
 ІНСТИТУТ ХІМІЧНИХ ТЕХНОЛОГІЙ СХІДНОУКРАЇНСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ  
 ІМЕНІ ВОЛОДИМИРА ДАЛЯ<sup>1</sup>, РУБІЖНЕ

## КРИСТАЛІЧНА БУДОВА ПІРИМІДИН-2-ІЛАМІДІВ 1-R-4-ГІДРОКСИ-2-ОКСО-1,2-ДИГІДРОХІНОЛІН-3-КАРБОНОВИХ КИСЛОТ ЯК ФАКТОР, ЩО ВИЗНАЧАЄ ЇХ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНУ АКТИВНІСТЬ

Проведено порівняльний аналіз рентгенодифракційних даних піримідин-2-іламідів 1-етил- та 1-гексил-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот. Висловлено припущення, що однією з причин посилення протитуберкульозних властивостей, яке спостерігається при подовженні 1-N-алкільного замісника, може бути перебудова системи міжмолекулярних водневих зв'язків та кристалічної упаковки.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: аміди, 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонові кислоти, піримідини, протитуберкульозна активність, PCA.

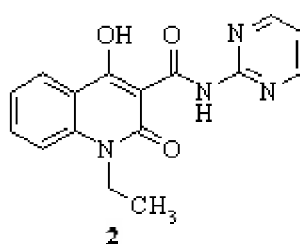
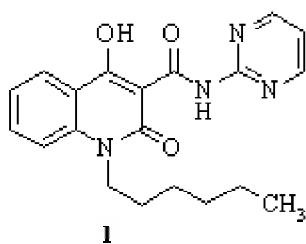
ВСТУП. Розширене вивчення біологічних властивостей N-R-амідів 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот дозволило неодноразово констатувати той факт, що протитуберкульозні властивості таких сполук визначаються перш за все будовою алкільного замісника при атомі нітрогену хінолонового ядра. Як правило, здатність активно стримувати розмноження *Mycobacterium tuberculosis* з'являється в 1-N-бутильних похідних. З подовженням вуглеводного ланцюжка активність поступово зростає, досягаючи максимуму в 1-N-гексил- чи гептилзаміщених хінолонів [10-12].

З іншого боку, на силу протитуберкульозної дії 1-R-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбоксамідів значно впливають також амідні фрагменти. Причому вибір тут значно ширший – позитивно визнано присутність найрізноманітніших молекулярних угруповань: анілідного [12], 3-фтор- [1] чи 4-бромфенільного [12], тіазольного [5], бензтіазольного [2], 2-, 3- або 4-піридинового [6], піримідинового [11], піразинового [10] та багатьох інших. Цікаво, що, крім однотипного біологічного впливу, означені замісники поєднує ще одна спільна особливість – всі вони без винятку є ароматичними. Це дозволяє вважати їх певною мірою біоізостерними, тобто схожими не стільки за розмірами чи об'ємом, скільки такими, що проявляють аналогічні фізико-хімічні властивості й тому індують близький фармакологічний ефект [8]. Іншими словами, будо-

ва амідного фрагмента може варіюватись у досить широких межах без помітної втрати протитуберкульозних властивостей 1-R-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбоксамідами в цілому. І навпаки, навіть незначна трансформація 1-N-алкільного замісника призводить до суттєвих змін в біологічній активності. Здатність органічної речовини так чи інакше взаємодіяти з біологічними мішенями і тим самим проявляти притаманну їй фармакологічну дію значною мірою визначається просторовою будовою, характером між- та внутрішньомолекулярних водневих зв'язків, а також кристалічною упаковкою [3]. Звідси логічно припустити, що зі значними змінами саме цих параметрів і пов'язана вища чутливість протитуберкульозних властивостей досліджуваної нами групи сполук до введення декількох додаткових метиленових ланок в 1-N-алкільний замісник, ніж до модифікації амідного залишку. Що ж насправді відбувається в структурі 1-R-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбоксамідів при збільшенні лінійних розмірів їх 1-N-алкільних замісників, ми й спробували з'ясувати в даному дослідженні.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Однозначне вирішення поставленого завдання можливе за умови застосування одного з найбільш досконалих методів дослідження будови органічних речовин – рентгеноструктурного аналізу (РСА). Цей метод ми і використали для вивчення кристалічної будови піримідин-2-іламиду 1-гексил-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонової кислоти (1):

© І.В. Українець, О.В. Моспанова, Л.О. Гріневич, О.В. Колісник, 2010.



Зазначимо, що як об'єкт дослідження цю сполуку обрано не випадково. По-перше, вона проявляє високу активність відносно мікобактерій туберкульозу. По-друге, раніше [11] нами вже були вивчені особливості просторової будови біологічно інертного прямого структурного аналога з тим же гетероциклом в амідній частині молекули – піримідин-2-іламіді 1-етил-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонової кислоти (2), що дозволяє провести коректний порівняльний аналіз і прослідкувати характер структурних змін, викликаних хімічною модифікацією лише 1-N-алкільного замісника.

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.** Синтез, спектральні характеристики та протитуберкульозні властивості піримідин-2-іламідів 1-гексил- та 1-етил-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот (1 та 2) наведено у роботі [11].

**Рентгеноструктурне дослідження.** Кристали піримідин-2-іламіді 1-гексил-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонової кислоти (1) моноклінні (ДМФА), при 20 °С  $a=12.314(1)$ ,  $b=9.770(1)$ ,  $c=15.399(1)$  А,  $\beta=94.19(1)^\circ$ ,  $V=1847.7(1)$  А<sup>3</sup>,  $M_r=366.42$ ,  $Z=4$ , просторова група  $P2_1/c$ ,  $d_{\text{вир.}}=1.317$  г/см<sup>3</sup>,  $\mu(\text{MoK}\alpha)=0.091$  мм<sup>-1</sup>,  $F(000)=776$ . Параметри елементарної комірки та інтенсивності 20 499 відображень (4207 незалежних,  $R_{\text{int}}=0.024$ ) виміряно на дифрактометрі Xcalibur-3 (MoK $\alpha$  випромінювання, CCD-детектор, графітовий монохроматор,  $\omega$ -сканування,  $2\theta_{\text{макс}}=55^\circ$ ). Структуру розшифровано прямим методом за комплексом програм SHELXTL [9]. При уточненні структури наклали обмеження на довжини зв'язків в алкільному заміснику ( $\text{Csp}^3\text{-Csp}^3$  1.53 А). Положення атомів водню виявлено із синтезу електронної густини й уточнено на моделі "наїзника" с  $U_{\text{ізо}}=n U_{\text{екв}}$  ( $n=1.5$  для метильної групи і  $n=1.2$  для інших атомів водню). Атоми водню, які беруть участь в утворенні водневих зв'язків, уточнювали в ізотропному наближенні. Структуру уточнено за  $F^2$  повноматричним МНК в анізотропному наближенні для неводневих атомів до  $wR_2=0.248$  за 4046 відображеннями ( $R_1=0.078$  за 2501 відображенням з  $F>4\sigma$  ( $F$ ),  $S=0.975$ ). Повну кристалографічну інформацію депоновано в Кембриджському банку струк-

турних даних – депонент № CCDC 773611. Міжатомні відстані й валентні кути наведено в таблицях 1 і 2 відповідно.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Згідно з даними проведеного PCA (рис. 1, табл. 1 і 2), біциклічний фрагмент, карбамідна, гідроксильна, 2-карбонільна групи й атом С(15) піримідин-2-іламіді 1-гексил-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонової кислоти (1) лежать в одній площині з точністю 0.04 А, чому сприяє утворення внутрішньомолекулярних водневих зв'язків O(2)-H(2O)...O(3) [H...O 1.54 А, O-H...O 139°] та N(2)-H(2N)...O(1) [H...O 1.90 А, N-H...O 139°]. Слід підкреслити, що 1-N-етильне похідне (2) має аналогічну систему внутрішньомолекулярних водневих зв'язків, причому набагато міцніших [11]. Утворенням означених водневих зв'язків пояснюється також і типовий для первинних N-R-амідів 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот перерозподіл електронної густини в хінолоновому ядрі, який проявляється подовженням зв'язків O(1)-C(9) 1.241(3) А, O(3)-C(10) 1.249(2) А і C(7)-C(8) 1.393(3) А порівняно з їх середніми значеннями 1.210 та 1.322 А [7], а також скороченням зв'язків O(2)-C(7) 1.320(2) А і C(8)-C(9) 1.446(2) А (середні значення 1.333 та 1.455 А відповідно).

Піримідиновий цикл амідного фрагмента перебуває в *ар*-конформації відносно зв'язку C(8)-C(10) і дещо повернутий відносно зв'язку C(10)-N(2) [торсійні кути C(11)-N(2)-C(10)-C(8) -179.4(2)°, C(10)-N(2)-C(11)-N(3) 6.6(4)°], що, ймовірно, пояснюється відштовхуванням між атомами карбамідної групи та ароматичним кільцем (скорочений внутрішньомолекулярний контакт N(3)...O(3) 2.75 А, сума ван-дер-ваальсових радіусів [4] 2.79 А). Напевно, це ж відштовхування зумовлює і подовження зв'язку N(2)-C(11) до 1.399(3) А порівняно з його середнім значенням 1.380 А. Цікаво, що в 1-N-етилзаміщеного аналога (2) піримідиновий цикл повернутий у протилежний бік [11], щоправда кут розвороту в обох випадках невеликий.

Відштовхування між зближеними у просторі атомами 1-N-гексильного замісника та хінолонового ядра [скорочені внутрішньомолекулярні контакти H(2)...C(15) 2.56 А (2.87 А),

H(2)...H(15a) 2.06 Å (2.34 Å), H(15a)...C(2) 2.59 Å (2.87 Å) та H(15b)...O(1) 2.25 Å (2.46 Å)] призводить до подовження зв'язків N(1)-C(9) 1.377(2) Å та N(1)-C(1) 1.397(3) Å порівняно з їх середніми значеннями 1.353 і 1.371 Å відповідно. Гексильний замісник розміщений таким чином, що зв'язок C(15)-C(16) практично перпендикулярний площині біциклічного фрагмента [торсійний кут C(9)-N(1)-C(15)-C(16) складає 96.9(2)°] і перебуває в *ap* – *+sc* – *ap* – *-sc*-конформації [торсійні кути N(1)-C(15)-C(16)-C(17) 175.4(2)°, C(15)-C(16)-C(17)-C(18) 73.6(5)°, C(16)-C(17)-C(18)-C(19) -171.8(4)°, C(17)-C(18)-C(19)-C(20) -56.6(8)°]. При цьому в 1-N-алкільному заміснику виникають скорочені внутрішньомолекулярні контакти H(15b)...H(18b) 2.22 Å (2.34 Å) та H(18b)...C(15) 2.77 Å (2.87 Å).

Однак найбільш суттєві зміни після подовження 1-N-алкільного замісника відбуваються в кристалічній упаковці молекул піримідин-2-іламідів 4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонових кислот. Так зокрема,

молекули 1-N-гексильного похідного (1) в кристалі утворюють чітко виражені шари (рис. 2). При цьому молекули в сусідніх шарах розміщені практично одна над одною за типом “голова до хвоста”, а відстань між хінолоновим циклом однієї молекули та піримідиновим ядром іншої складає 3.34 Å, що дозволяє припустити наявність стекінг-взаємодії. Крім того, в кристалі виявлено один слабкий міжмолекулярний водневий зв'язок: C(13)-H(13)...N(3)' (2-x, -0.5+y, 1.5-z) H...N 2.45 Å, C-H...N 166°.

Зовсім інша картина спостерігається щодо 1-N-етилзаміщеного продукту (2). В кристалі молекули цієї сполуки утворюють два різні шари, паралельні двом окремим кристалографічним площинам: (1 1 0) та (-1 1 1). В результаті спостерігається так звана “паркетна” кристалічна упаковка, наочно представлена на рисунку 2. В середині кожного шару окремі молекули, як і в попередньому прикладі, також поєднані між собою слабким міжмолекулярним водневим зв'язком, але вже дещо іншого типу: C(12)-H(12)...O(3)' (1-x, -y, -z) H...O 2.43 Å, C-H...O 159°.

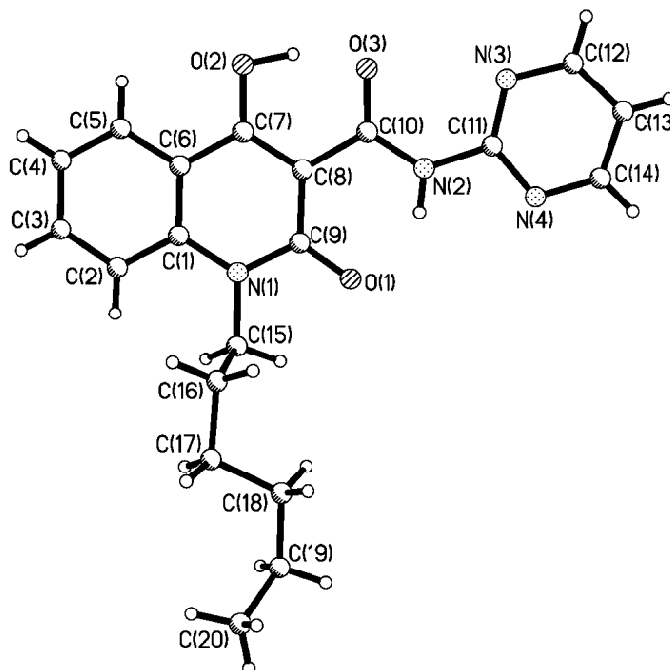


Рис. 1. Будова молекули аміду 1 з нумерацією атомів.

Таблиця 1 – Довжини зв'язків у структурі аміду 1

Зв'язок	<i>l</i> , Å	Зв'язок	<i>l</i> , Å	Зв'язок	<i>l</i> , Å
N(1)–C(9)	1.377(2)	C(8)–C(9)	1.446(2)	O(3)–C(10)	1.249(2)
N(1)–C(15)	1.471(2)	C(12)–C(13)	1.362(3)	C(1)–C(2)	1.405(3)
N(2)–C(11)	1.399(3)	C(15)–C(16)	1.530(1)	C(3)–C(4)	1.380(4)
N(3)–C(12)	1.335(3)	C(17)–C(18)	1.529(1)	C(5)–C(6)	1.409(3)
N(4)–C(11)	1.337(3)	C(19)–C(20)	1.529(1)	C(7)–C(8)	1.393(3)
O(2)–C(7)	1.320(2)	N(1)–C(1)	1.397(3)	C(8)–C(10)	1.476(3)
C(1)–C(6)	1.392(3)	N(2)–C(10)	1.335(3)	C(13)–C(14)	1.375(3)
C(2)–C(3)	1.374(4)	N(3)–C(11)	1.320(3)	C(16)–C(17)	1.529(1)
C(4)–C(5)	1.363(3)	N(4)–C(14)	1.327(3)	C(18)–C(19)	1.530(1)
C(6)–C(7)	1.435(3)	O(1)–C(9)	1.241(3)		

Таблиця 2 – Валентні кути в структурі амідів 1

Валентний кут	$\omega$ , град.	Валентний кут	$\omega$ , град.	Валентний кут	$\omega$ , град.
C(9)–N(1)–C(1)	122.9(2)	O(3)–C(10)–C(8)	119.7(2)	C(1)–C(6)–C(5)	120.0(2)
C(1)–N(1)–C(15)	120.8(2)	N(3)–C(11)–N(4)	127.3(2)	C(5)–C(6)–C(7)	120.9(2)
C(11)–N(3)–C(12)	114.9(2)	N(4)–C(11)–N(2)	112.6(2)	O(2)–C(7)–C(6)	117.8(2)
C(6)–C(1)–N(1)	120.0(2)	C(12)–C(13)–C(14)	115.8(2)	C(7)–C(8)–C(9)	120.1(2)
N(1)–C(1)–C(2)	121.4(2)	N(1)–C(15)–C(16)	112.2(2)	C(9)–C(8)–C(10)	122.3(2)
C(2)–C(3)–C(4)	122.5(2)	C(18)–C(17)–C(16)	112.0(3)	O(1)–C(9)–C(8)	122.8(2)
C(4)–C(5)–C(6)	121.0(2)	C(20)–C(19)–C(18)	118.8(4)	O(3)–C(10)–N(2)	122.8(2)
C(1)–C(6)–C(7)	119.0(2)	C(9)–N(1)–C(15)	116.4(2)	N(2)–C(10)–C(8)	117.6(2)
O(2)–C(7)–C(8)	122.1(2)	C(10)–N(2)–C(11)	129.2(2)	N(3)–C(11)–N(2)	120.1(2)
C(8)–C(7)–C(6)	120.2(2)	C(14)–N(4)–C(11)	115.0(2)	N(3)–C(12)–C(13)	123.6(2)
C(7)–C(8)–C(10)	117.6(2)	C(6)–C(1)–C(2)	118.6(2)	N(4)–C(14)–C(13)	123.3(2)
O(1)–C(9)–N(1)	119.4(2)	C(3)–C(2)–C(1)	119.4(2)	C(17)–C(16)–C(15)	111.3(2)
N(1)–C(9)–C(8)	117.8(2)	C(5)–C(4)–C(3)	118.5(2)	C(17)–C(18)–C(19)	115.4(3)

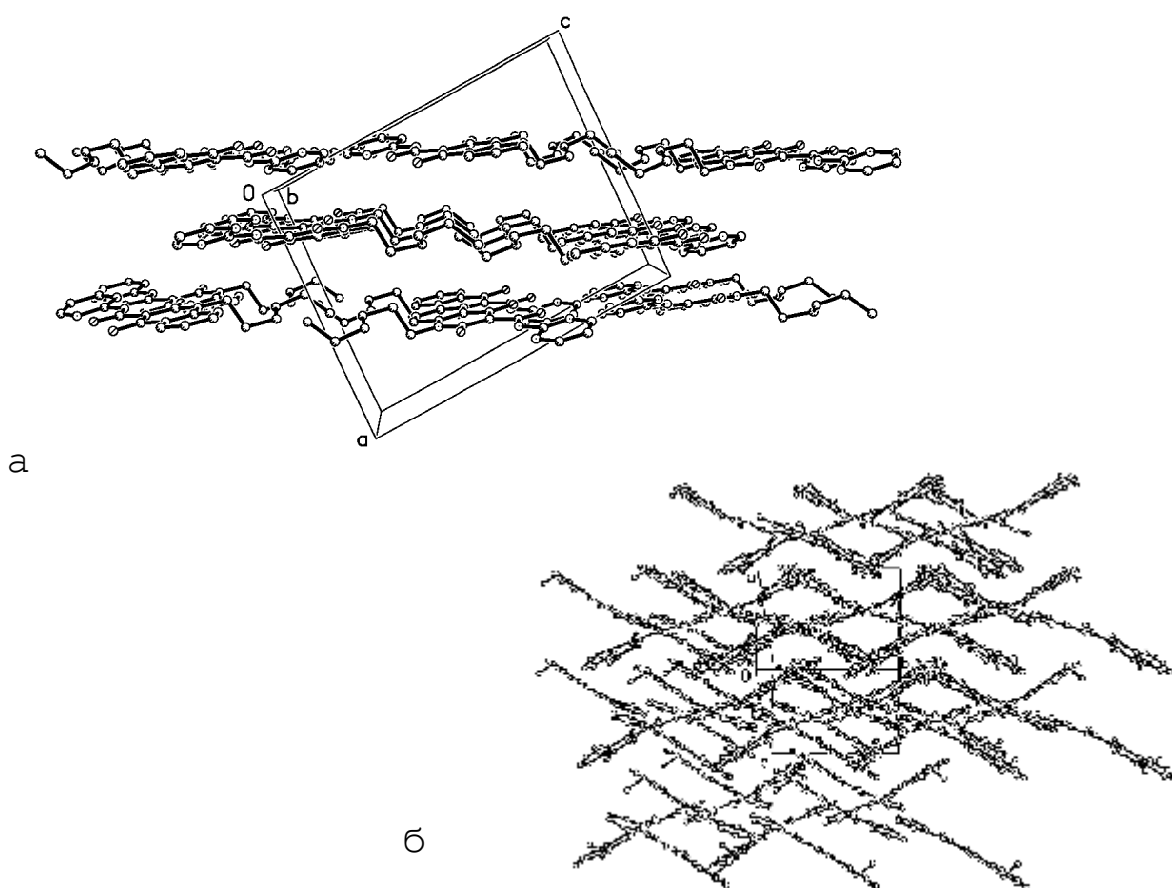


Рис. 2. Упаковка молекул у кристали: 1-N-гексилзаміщеного амідів 1 (а) та його 1-N-етильного аналога 2 б).

**ВИСНОВКИ.** Проведено рентгеноструктурне вивчення особливостей будови піримідин-2-іламідів 1-гексил-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонової кислоти. Порівняння одержаних при цьому даних з результатами попередніх досліджень показало, що подовження 1-N-алкільного замісника супроводжується зміною взаємної просторової орієнтації хінолонового та амідного фрагментів, повною

перебудовою системи міжмолекулярних водневих зв'язків і кристалічної упаковки. Оскільки ці параметри здатні активно впливати на біодоступність будь-якої речовини, то, очевидно, можна припустити, що саме вони значною мірою визначають чітку залежність протитуберкульозних властивостей 1-R-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбоксамідів від лінійних розмірів 1-N-алкільних замісників.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Абдель Насер Дакках. Синтез, будова та протитуберкульозна активність фторзаміщених амідів 1-R-2-оксо-4-гідроксигінолін-3-карбонових кислот: Дис. ... канд. фармац. наук. – Харків, 2003. – 129 с.
2. Амжад І.М. Абу Шарх. Синтез, фізико-хімічні та протитуберкульозні властивості бензгіазоліл-2-амідів 1-R-2-оксо-4-гідроксигінолін-3-карбонових кислот: Дис. ... канд. фармац. наук. – Харків, 2003. – 138 с.
3. Бернштейн Дж. Полиморфизм молекулярных кристаллов. – М.: Наука, 2007. – 500 с.
4. Зефирюв Ю.В. Сокращенные межмолекулярные контакты и специфические взаимодействия в молекулярных кристаллах // Кристаллография. – 1997. – **42**, № 5. – С. 936-958.
5. Петрушова Л.О. Синтез, хімічні та біологічні властивості тiazоліл-2-амідів 1-R-2-оксо-4-гідроксигінолін-3-карбонових кислот: Дис. ... канд. фармац. наук. – Харків, 2006. – 121 с.
6. Українець І.В., Ель Каяль С.А., Горохова О.В. та ін. Піридиламіди 1-R-2-оксо-4-гідроксигінолін-3-карбонових кислот. Синтез, фізико-хімічні та протитуберкульозні властивості // Вісник фармації. – 2004. – № 1 (37). – С. 12-19.
7. Burgi H.-B., Dunitz J.D. Structure correlation. – Weinheim: VCH, 1994. – Vol. 2. – 926 p.
8. Medicinal Chemistry: Principles and Practice / Ed. by F.D. King. – Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2003. – 400 p.
9. Sheldrick G.M. SHELXTL PLUS. PC Version. A system of computer programs for the determination of crystal structure from X-ray diffraction data. – University of Göttingen. – Germany. – Rev. 5.1. – 1998.
10. Ukrainets I.V., Grinevich L.A., Tkach A.A. et al. 4-Hydroxy-2-quinolones. 168. Synthesis, chemical and antitubercular properties of 1-R-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acid pyrazin-2-ylamides // Chem. Heterocycl. Comp. – 2009. – **45**, № 9. – P. 1058-1068.
11. Ukrainets I.V., Tkach A.A., Grinevich L.A. et al. 4-Hydroxy-2-quinolones. 154. Pyrimidin-2-ylamides of 1-R-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acids. Synthesis, structure, and properties // Chem. Heterocycl. Comp. – 2009. – **45**, № 5. – P. 567-579.
12. Ukrainets I.V., Tkach A.A., Sidorenko L.V., Gorokhova O.V. 4-Hydroxy-2-quinolones. 110. Bromination of 1-R-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acids anilides // Chem. Heterocycl. Comp. – 2006. – **42**, № 10. – P. 1301-1307.

**И.В. Украинец, Е.В. Моспанова<sup>1</sup>, Л.А. Гриневиц, Е.В. Колесник**  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ  
ИНСТИТУТ ХИМИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ ВОСТОЧНОУКРАИНСКОГО НАЦИОНАЛЬНОГО УНИВЕРСИТЕТА  
ИМЕНИ ВЛАДИМИРА ДАЛЯ<sup>1</sup>, РУБЕЖНОЕ

### КРИСТАЛЛИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ПИРИМИДИН-2-ИЛАМИДОВ 1-R-4-ГИДРОКСИ-2-ОКСО-1,2-ДИГИДРОХИНОЛИН-3-КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ КАК ФАКТОР, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЙ ИХ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНУЮ АКТИВНОСТЬ

#### Резюме

Проведен сравнительный анализ рентгенодифракционных данных пириимидин-2-иламидов 1-этил- и 1-гексил-4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновых кислот. Высказано предположение, что одной из причин наблюдаемого при удлинении 1-N-алкильного заместителя усиления противотуберкулезных свойств может быть перестройка системы межмолекулярных водородных связей и кристаллической упаковки.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: амиды, 4-гидрокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновые кислоты, пириимидины, противотуберкулезная активность, PCA.

**I.V. Ukrainets, O.V. Mospanova<sup>1</sup>, L.O. Hrinevich, O.V. Kolisnyk**  
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV  
CHEMICAL TECHNOLOGIES INSTITUTE OF THE VOLODYMYR DAL  
EASTERN-UKRAINIAN NATIONAL UNIVERSITY<sup>1</sup>, RUBIZHNE

### THE CRYSTALLINE STRUCTURE OF 1-R-4-HYDROXY-2-OXO-1,2-DIHYDROQUINOLIN-3-CARBOXYLIC ACID PYRIMIDINE-2-YLAMIDES AS THE FACTOR THAT DETERMINES THEIR ANTITUBERCULAR ACTIVITY

#### Summary

The comparative analysis of X-ray structural analysis data of pyrimidine-2-ylamides of 1-ethyl- and 1-hexyl-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic has been carried out. The assumption has been made that one of the cause of the antitubercular properties intensification while extending 1-N-alkyl substituent can be the reorganization of the system of intermolecular hydrogen bonds and crystalline packing.

KEY WORDS: amides, 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acids, pyrimidines, antitubercular activity, X-ray structural analysis.

Отримано 15.03.10

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



## ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ЙОДУ В НАДЗЕМНІЙ ЧАСТИНІ НЕТРЕБИ ЗВИЧАЙНОЇ

*Методом інверсійної вольтамперометрії проведено кількісне визначення йоду в стеблах, листі, плодах і траві нетреби звичайної. Встановлено, що найбільший вміст йоду визначено в плодах рослини.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: нетреба звичайна, вольтамперометрія, патології щитоподібної залози.

ВСТУП. Захворювання щитоподібної залози останнім часом стали об'єктом підвищеної уваги лікарів та вчених у зв'язку з їх поширеністю. Особливо хвилює ендокринологів зростання захворюваності в післяаварійний період (дифузна гіперплазія щитоподібної залози, аутоімунний тиреоїдит, гіпотиреоз, змішаний та вузловий зоби, новоутворення щитоподібної залози тощо), визначене впливом радіації та нестачею мікроелементів у раціонах харчування, особливо це стосується йоду та селену [1, 3, 6].

Для профілактики та лікування даних захворювань поряд з лікарськими препаратами широко застосовують йодовмісні рослини. Серед рослин з доведено високим вмістом йоду відомі ламінарія цукрова, фукус пухирчатий. Крім того, деякі рослини використовують як йодовмісні імуномодулятори, які, крім йоду, містять цілий спектр біологічно активних речовин, що за своїми фармакологічними властивостями не поступаються йоду [1, 7-9].

У цьому аспекті слід відзначити нетребу звичайну (*Xanthium strumarium* L.) – однорічну трав'янисту рослину родини айстрових (*Asteraceae*). У дикому вигляді поширена на території Європи, Північної Америки, в деяких районах Азії. Росте як бур'ян на берегах річок, вигонах, засмічених місцях і пустирях, у канавах, біля доріг [2, 5, 12].

З лікувальною метою в народній медицині використовують усю рослину – траву з листям, квітками та плодами, іноді коріння. У насінні та плодах нетреби містяться жирна олія, смоли, ксантострумарин і сапоніни, в

листі – вітамін С (31,8 мг%), алкалоїди (0,11-0,13 %) та йод. Саме цей елемент і визначив пріоритетне застосування нетреби звичайної при патологіях щитоподібної залози, зокрема зобі, вузлах, пухлинах тощо [1, 7].

Відвар трави приймають всередину при проносах, захворюваннях суглобів, шкіри, відвар насіння та коренів – при проносах і хворобі сечового міхура. Водний відвар рослини, свіжовичавлений з неї сік або мазь з плодів застосовують зовнішньо при золотусі, раку шкіри, лишаях, екземі, вуграх, висипах, дитячій кропив'янці та грибкових захворюваннях шкіри. У китайській медицині рослина популярна при зобі, хронічному нефриті, простудних захворюваннях, а також як потогінний, жарознижувальний та заспокійливий засіб (разова доза для приймання всередину у вигляді водного настою – 5-20 г). Призначають при ревматизмі та простудних захворюваннях [2, 7, 11, 13, 14].

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Об'єктами дослідження були стебла, листя, плоди і трава нетреби звичайної, заготовлені в Харківській обл. у 2009 р.

Експериментальні дослідження проводили на базі відділу аналітичної хімії функціональних матеріалів та об'єктів навколишнього середовища ім. А.Б. Бланка під керівництвом завідувача лабораторії канд. хім. наук К.М. Белікова і канд. хім. наук, наукового співробітника О.П. Кісіль.

Визначали йод вольтамперометричним методом, який ґрунтується на переведенні всіх форм йоду в форму I<sup>-</sup>-іонів з подальшим їх визначенням методом інверсійної вольтам-

© І.М. Владимирова, Л.І. Філіпович, 2010.

перометрії (ІВА) [4]. Мінералізація зразків нетреби полягала у переведенні всіх хімічних форм йоду, представлених в рослині, у форму I<sup>-</sup>-іонів шляхом лужного окиснювального плавлення з подальшою нейтралізацією розчину і відновленням аскорбіновою кислотою окиснених форм йоду до йодиду.

ІВА-вимірювання концентрації I<sup>-</sup>-іонів було проведено на спеціалізованому лабораторному полярографі (ПЛС, виробник "ПО Измеритель", Білорусь) після попереднього накопичення Hg<sub>2</sub>I<sub>2</sub> на РЕКТ [10] при потенціалі +0,10 В (відносно хлоридсрібного електрода порівняння) і відновлення отриманого осаду при лінійній зміні потенціалу від +0,10 В до -0,95 В. До того ж на вольтамперограмі зареєстровано катодний пік при потенціалі -(0,15+0,05) В, який слугував аналітичним сигналом йодид-іонів (рис. 1). Вплив розчиненого кисню усували деаеруванням аналізованого розчину струмом азоту. Як фоновий електроліт використовували розчин кислот: 0,01 моль/дм<sup>3</sup> азотної і 0,5 % аскорбінової.

Впливу бромідів та хлоридів, що можуть бути присутні в досліджуваному зразку, на аналітичний сигнал йодиду запобігали раціональним вибором потенціалу накопичення. Проведення накопичення при потенціалі +0,10 В та розгортання потенціалу від +0,10 В дозволяє визначати йодид-іони за присутності 25 000-кратного надлишку хлоридів та 2500-кратного надлишку бромідів.

У вибраних оптимальних умовах ІВА-вимірювань, що наведені в таблиці 1, концентраційні залежності йодид-іонів в аналізованому розчині прямолінійні в діапазоні 6·10<sup>-8</sup>–3·10<sup>-5</sup> моль/дм<sup>3</sup>, це дало можливість застосовувати метод стандартних добавок для розрахунку масової концентрації I<sup>-</sup>-іонів у пробі. Усі використані в роботі реагенти були кваліфікації "ос. ч." або "х. ч."

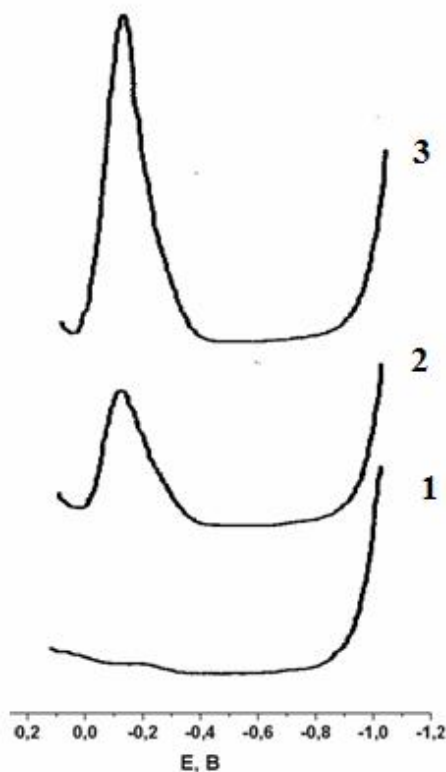


Рис. 1. Вольтамперограми йодид-іонів у фоні (0,01 моль/дм<sup>3</sup> HNO<sub>3</sub>, 0,5 % аскорбінової кислоти) (1), пробі (2), пробі з добавкою I<sup>-</sup>-іонів (0,4 мкг/дм<sup>3</sup>) (3) при визначенні вмісту йоду в зразках нетреби звичайної.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Визначений вміст йоду в зразках, які досліджували, наведено в таблиці 2. Отримані дані свідчать про те, що найбільше йоду серед наведених зразків міститься у плодах та листі нетреби звичайної – (16±2) та (13±4) мг/кг відповідно. Показник вмісту елемента у траві складав (9±1 мг/кг), слід зазначити, що значення може дещо коливатись, що буде залежати від переважного вмісту тієї чи іншої частини рослини, тобто листя, стебел чи плодів, під час заготівлі

Таблиця 1 – Параметри реєстрації аналітичного сигналу йодиду методом ІВА

Параметри вимірювань	Значення
Трьохелектродна система вимірювань з індикаторним електродом – РЕКТ, порівняння – ЕВЛ-1М4, допоміжним – платиновим	Забезпечується засобом вимірювання
Зміннотоківий режим з прямокутною формою поляризувальної напруги	Забезпечується засобом вимірювання
Потенціал накопичення, В	+0,10
Час накопичення, с	30-180
Потенціал початку реєстрації вольтамперної кривої, В	+0,10
Амплітуда розгортки напруги, В	-1,05
Амплітуда зміннотоківий поляризувальної напруги, мВ	-20
Швидкість розгортки напруги, мВ/с	10
Час формування ртутної краплі, мс	25×10

Таблиця 2 – Результати аналізу зразків на вміст йоду методом ІВА

Об'єкт дослідження	Вміст йоду, мг/кг
Стебла нетреби	8±1
Листя нетреби	13±4
Плоди нетреби	16±2
Трава нетреби	9±1

рослинної сировини. Найменший вміст спостерігався у стеблах нетреби – (8±1) мг/кг.

З отриманих експериментальних даних можна зробити попереднє припущення щодо оптимальних термінів заготівлі нетреби, а саме для отримання більш високого вмісту йоду рослинну сировину слід заготовляти у фазі формування плодів, причому під час їх дозрівання та в лікувальних цілях використовують всю надземну частину рослини.

**ВИСНОВКИ.** 1. Методом інверсійної вольтамперометрії проведено кількісне визначення йоду в стеблах, листі, плодах та траві нетреби звичайної. Найбільший вміст визначено у плодах рослини.

2. Отримані дані можна враховувати як один з показників визначення оптимальних термінів заготівлі та вмісту максимальної кількості біологічно активних речовин, в даному випадку йоду.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Алефиров А.Н. Супрессивная терапия опухолей щитовидной железы. Перспективы применения лекарственных растений // Материалы Международного съезда фитотерапевтов. – М., 2006.
2. Артохин К.С. Сорные растения. – Ростов-на-Дону, 2004. – 144 с.
3. Валдина Е.А. Заболевания щитовидной железы. – Изд. 2-е, перераб. и доп. – СПб.: Питер, 2001.
4. Выдра Ф., Штулик К., Юлакова Э. Инверсионная вольтамперометрия. – М.: Мир, 1980. – 278 с.
5. Губанов И.А., Киселёва К.В., Новиков В.С., Тихомиров В.Н. Иллюстрированный определитель растений Средней России. – М.: Изд-во научных изданий КМК, Ин-т технологических исследований, 2003. – Т. 3: Покрытосеменные (двудольные: раздельнолепестные). – 520 с.
6. Книжников В.А. Радиационная безопасность на территориях, загрязненных в результате Чернобыльской аварии: порочный круг проблем // Мед. радиология. – 1992. – № 1. – С. 4-8.
7. Лесюк М. Траволікування захворювань щитовидної залози. – Львів: СП “Бак”, 1999. – 32 с.
8. Николайчук Л.В. Растения исцеляют. Болезни щитовидной железы и ожирение. – Мн.: Універсітэцкае, 1998. – 269 с.
9. Пастушенков Л.В., Пастушенков А.Л., Пастушенков В.Л. Лекарственные растения: Использование в народной медицине и быту. – Л.: Лениздат, 1990. – 384 с.
10. Салихджанова Р.М.-Ф., Гинзбург Г.И. Полярографы и их эксплуатация в практическом анализе и исследованиях. – М.: Химия, 1988. – 186 с.
11. Стекольников Л.И., Мухор В.И. Целебные кладовые природы. – Мн.: Ураджай, 1981. – 271 с.
12. Флора СССР: В 30 т. / Редактор тома Б.К. Шишкин. – М.-Л.: Изд-во Академии наук СССР, 1959. – Т. 25. – С. 524-525.
13. Radovic B., Schmutzler C., Kohrle J. Xanthohumol stimulates iodide uptake in rat thyroid-derived FRTL-5 cells // Mol. Nutr. Food Res. – 2005. 49 (9). – P. 832-836.
14. Stuart B.P. Cocklebur (*Xanthium strumarium*) intoxication in swine: review and redefinition of the toxic principle // Veterinary Pathology. – 1981. – 18 (3). – P. 368-383.

**И.Н. Владимирова, Л.И. Филиппович<sup>1</sup>**  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ  
НАУЧНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС "ИНСТИТУТ МОНОКРИСТАЛЛОВ" НАН УКРАИНЫ<sup>1</sup>

## ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЙОДА В НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ ДУРНИШНИКА ОБЫКНОВЕННОГО

### Резюме

Методом инверсионной вольтамперометрии проведено количественное определение йода в стеблях, листьях, плодах и траве дурнишника обыкновенного. Установлено, что наибольшее содержание йода определено в плодах растения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **дурнишник обыкновенный, вольтамперометрия, патологии щитовидной железы.**

**I.M. Vladimirova, L.I. Filippovich<sup>1</sup>**  
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV  
SCIENTIFICALLY-TECHNOLOGICAL COMPLEX "INSTITUTE MONOKRISTALLOV" NAN UKRAINES<sup>1</sup>

## VOLITAMPEROMETRIC DETERMINATION OF CONTENT OF IODINE IN ELEVATED PART OF COCKLEBUR

### Summary

The quantitative determination of the iodine in the stems, leaves, fruit and herb of Cocklebur by method of inversion voltamperometric has been determined. The fruit has the most content of the iodine.

KEY WORDS: **Cocklebur, voltamperometric, pathology of the thyroid gland.**

Отримано 10.11.09.

Адреса для листування: *І.М. Владимирова, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61002, Україна.*

М.М. Корда, С.Р. Підручна, О.О. Кулянда, І.С. Кулянда, О.І. Острівка,  
У.М. Захарчук, І.Р. Копитчак  
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

## ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АКТИВНОСТІ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ НА ТЛІ КОМБІНОВАНОЇ ТРАВМИ

*У статті наведено зміни показників перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в динаміці тяжкої травми. Додаткове механічне і термічне травмування 10 % площі шкіри суттєво погіршує її перебіг. Застосування розробленої експериментальної моделі дає можливість провести скринінгове вивчення різноманітних засобів корекції механічних і термічних уражень.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** політравма, опік, скальпована рана, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантна система.

**ВСТУП.** Сучасний етап розвитку суспільства характеризується значним зростанням травматичних пошкоджень. Цьому сприяють інтенсивний розвиток промисловості, збільшення кількості транспортних засобів, висотне містобудування, прискорений темп і розвиток життя людей, стихійні явища. Протягом останніх десятиріч травми перебувають на третьому місці за частотою смерті в усьому світі й займають перше місце серед осіб молодого віку. Особливістю травматичних пошкоджень є постійна тенденція до зростання числа і тяжкості ускладнень, переважання поєднаної і множинної травм, збільшення термінів початку надання першої медичної і спеціалізованої допомоги.

Частим супутником тяжкої травми є механічне і термічне пошкодження шкірних покривів, летальність при яких досягає 40 % і більше [6, 7, 12]. Такі рани небезпечні через наявність значної крововтрати, шоку, можливість подальшого змертвіння шкірних клаптів, розвиток ранової інфекції, дегідратації організму.

Метаболічні реакції організму постраждалих з політравмою характеризуються розвитком гіперферментемії, збільшенням рівня гліколітичних процесів, активацією процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) [1]. На сьогодні встановлено, що при політравмі активуються вільнорадикальні процеси, які супроводжуються інтенсифікацією процесів ПОЛ [3], а це, у свою чергу, призводить до розвитку ендотоксикозу, виникнення токсиніндукованого цитолітичного ефекту та поліорган-

ної недостатності [13]. Деякі автори [7, 8] розглядають синдром поліорганної недостатності як клінічно кінцеву стадію системної метаболічної відповіді організму на травму з розвитком печінкової та ниркової дисфункції [13]. З одного боку, ендотоксикоз при політравмі є причиною порушень функцій більшості органів і систем та формування поліорганної недостатності, з іншого – саме порушення функцій життєво важливих органів (печінка, нирки, серце) призводять до пригнічення процесів детоксикації з розвитком явищ ендотоксикозу [11]. Необхідно взяти до уваги вплив на скоротливу функцію міокарда при політравмі явищ ендотоксикозу, викликаного як розпадом білків у зоні компресії тканин, так і порушенням функції нирок [5], яке відображається на кровопостачанні міокарда і, як наслідок, на його скоротливій функції. Проте донині не з'ясовано роль процесів ліпопероксидації та антиоксидантної системи захисту в патогенезі системних відхилень при тяжкій травмі, ускладненій механічним і термічним чинником.

Метою дослідження було з'ясувати патогенетичні особливості перебігу ПОЛ та антиоксидантного захисту (АОЗ) при тяжкій травмі з додатковим нанесенням механічної і термічної травми.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** В експерименті використано 60 нелінійних білих щурів масою 180-200 г. У 1-й дослідній групі в асептичних умовах під легким ефірним наркозом моделювали тяжку травму, яка передбачала перелом стегнової кістки, кровотечу зі стегнової вени і введення автокрові у паранефральну

клітковину з розрахунку 1 мл на 100 г маси тварини [14]. У 2-й дослідній групі додатково на депільованій поверхні спини викроювали шкірний клапоть площею близько 10 % поверхні шкіри. На рану накладали стерильну пов'язку. З третьої доби рану вели відкритим способом. У тварин 3-ї групи моделювали опік на аналогічній ділянці депільованої спини III А ступеня за методикою [15] в нашій модифікації, відповідно до якої за умов ефірного знеболювання до депільованої поверхні спини приклали мідну пластинку площею 28 см<sup>2</sup>, попередньо занурену в киплячу воду не менше як на 10 хв. Тварин утримували ізольовано одна від одної. Контрольну групу склали інтактні щури, яких утримували в стандартних умовах виварію. Декапітацію тварин проводили під легким ефірним наркозом на 1, 3 та 7 доби експерименту, дотримуючись принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових

цілей (Страсбург, 1986). Для дослідження використовували сироватку крові, гомогенати печінки, нирок та серця. Про активність процесів ліпопероксидації судили за вмістом ТБК-активних продуктів [2], гідроперекисів ліпідів (ГПЛ) у гептан-ізопропанолову фазу з максимумом поглинання при 254 та 280 нм [4]. Для оцінки стану АОЗ у крові визначали активність каталази [10] і вміст церулоплазміну [9].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Політравматичне ураження щурів на тлі механічного і термічного травмування призводило до глибоких метаболічних порушень в їх організмі, зумовлених активацією вільнорадикальних процесів, а також порушень захисних систем організму. Про це свідчило значне підвищення вмісту ТБК-активних продуктів у сироватці крові та гомогенатах печінки, нирок і серця всіх піддослідних тварин у всі терміни експерименту (табл. 1). Найвиразніші зміни ми за-

Таблиця 1 – Показники вмісту продуктів ліпоперекиснення у плазмі, печінці, нирках і серці щурів з політравмою на тлі механічного ураження та опіку (M±m)

Модель досліджу	Показник	Об'єкт дослідження	Група тварин			
			інтактні n=18	травмовані		
				1 доба n=18	3 доба n=18	7 доба n=18
Політравма	ГПЛ	плазма, ум. од./мл	1,68±0,11	2,20±0,12*	2,24±0,11*	2,06±0,12*
		печінка, ум. од./г	1,08±0,06	1,16±0,03	1,24±0,12	1,35±0,07
		нирки, ум. од./г	1,15±0,05	1,31±0,09	1,42±0,11*	1,48±0,08
		серце, ум. од./г	1,12±0,07	1,25±0,06	1,36±0,12*	1,39±0,10*
	ТБК-активні продукти	плазма, ммоль/л	1,79±0,14	2,48±0,09*	2,32±0,09*	2,14±0,14
		печінка, ммоль/г	3,11±0,13	3,20±0,22	3,60±0,15*	3,72±0,21*
		нирки, ммоль/г	2,96±0,19	3,46±0,24*	3,78±0,20*	3,62±0,18*
		серце, ммоль/г	2,44±0,18	5,71±0,29*	4,18±0,18*	3,29±0,19*
Політравма + скальпована рана	ГПЛ	плазма, ум. од./мл	2,03±0,07	4,96±0,25*	3,18±0,08*	2,33±0,06*
		печінка, ум. од./г	1,55±0,08	2,36±0,15*	2,18±0,15*	2,32±0,18*
		нирки, ум. од./г	1,76±0,09	2,05±0,14*	2,43±0,17*	2,88±0,16*
		серце, ум. од./г	1,67±0,06	2,12±0,09	2,46±0,12*	2,54±0,14
	ТБК-активні продукти	плазма, ммоль/л	2,19±0,12	3,37±0,09*	2,58±0,11*	2,07±0,19
		печінка, ммоль/г	3,53±0,14	4,58±0,26*	4,22±0,19*	3,95±0,24
		нирки, ммоль/г	3,27±0,09	4,21±0,23*	4,43±0,21*	4,39±0,19*
		серце, ммоль/г	3,35±0,12	3,98±0,22*	4,36±0,23*	4,17±0,18*
Політравма + опік	ГПЛ	плазма, ум. од./мл	2,22±0,08	5,16±0,36*	4,21±0,19*	3,23±0,06*
		печінка, ум. од./г	1,65±0,05	2,92±0,16*	2,71±0,18*	2,65±0,08*
		нирки, ум. од./г	1,86±0,16	3,37±0,24*	2,83±0,24*	2,12±0,17*
		серце, ум. од./г	2,51±0,17	3,26±0,21*	3,13±0,11*	2,93±0,15
	ТБК-активні продукти	плазма, ммоль/л	2,09±0,17	3,99±0,24*	3,37±0,09*	2,97±0,19*
		печінка, ммоль/г	3,76±0,28	5,56±0,30*	4,47±0,24*	4,59±0,31*
		нирки, ммоль/г	3,93±0,28	4,87±0,22*	4,59±0,26*	4,18±0,17
		серце, ммоль/г	3,79±0,23	4,72±0,14*	4,68±0,27*	4,44±0,24*

Примітка. Тут і в наступній таблиці: \* – різниця достовірна між травмованими та інтактними тваринами в усіх моделях досліджу (p<0,05).

фіксували в щурів, у яких на тлі політравми моделювали опік III А ступеня. Так, уже на 1 добу експерименту вміст як початкових продуктів ПОЛ (гідроперекисів ліпідів), так і проміжних (ТБК-активних) у плазмі крові цих тварин перевищував рівень інтактних майже у 2-2,5 раза. На 3 і 7 доби дослідження спостерігалось досить незначне зниження їх вмісту. В решта моделях експерименту прослідковувались аналогічні зміни. Усі відхилення від контролю

були статистично достовірними. Істотних відмінностей у ці терміни спостереження між дослідними групами не виявлено.

Результати експерименту свідчать про те, що внаслідок травмування спостерігалась значна інтенсифікація ПОЛ. Дані дослідження показників антиоксидантного захисту у тварин означених груп наведено в таблиці 2, з яких видно, що компенсаторно збільшувався вміст церулоплазміну (ЦП) і каталази.

Таблиця 2 – **Зміна активності ферментів антиоксидантного захисту в плазмі крові щурів з політравмою на тлі механічного ураження та опіку (M±m)**

Модель досліджу	Показник	Об'єкт дослідження	Група тварин			
			інтактні, n=18	травмовані		
				1 доба n=18	3 доба n=18	7 доба n=18
Політравма	каталаза	плазма, мкат/л	15,42±0,49	20,78±1,25*	18,41±2,14	21,37±1,11*
	церулоплазмін	плазма, мг/л	216,2±6,4	239,7±4,3*	265,8±5,2*	198,0±8,2
Політравма + скальпована рана	каталаза	плазма, мкат/л	14,88±0,33	23,90±1,33*	21,42±0,98*	20,84±0,76*
	церулоплазмін	плазма, мг/л	248,2±12,9	316,6±6,02*	284,4±5,8*	226,2±16,7
Політравма + опік	каталаза	плазма, мкат/л	18,53±0,76	28,65±0,75*	24,64±1,21*	25,30±0,48*
	церулоплазмін	плазма, мг/л	241,4±8,9	303,6±5,7	294,4±4,8*	228,8±13,7

Так, через 24 год після травмування активність каталази була найвищою в щурів, у яких на тлі політравми моделювали опік III А ступеня (154,6 % від рівня інтактних). Оскільки каталаза є інтрацелюлярним ферментом еритроцитів, зростання її активності у плазмі можна трактувати як наслідок порушення цілісності чи проникності еритроцитарних мембран і виходу ферменту в плазму. Значно меншим був рівень каталазної активності у плазмі щурів з політравмою, які додатково зазнавали механічного і термічного впливу. На 3 добу експерименту активність ензиму суттєво знижувалась у всіх серіях досліджу. До 7 доби у травмованих тварин, в яких додатково на депільованій поверхні спини викривали шкірний клапоть, спостерігалось подальше зниження каталазної активності, й лише в щурів 1-ї та 2-ї груп активність ферменту зростала. Концентрація ЦП на 1 добу експерименту також підвищувалась, причому співвідношення були аналогічними до активності каталази, що можна розглядати як компенсаторну реакцію на надходження у плазму значної кількості продуктів ліпопероксидації. До 7 доби нами зафіксовано зниження концентрації ЦП порівняно з інтактними щурами, що можна вважати результатом пригнічення синтезу ферменту в печінці.

Як свідчать результати дослідження, активація вільнорадикальних процесів відбувалась відразу після травми і була максимальною на 1 добу. Досить високі значення показників ПОЛ на 3 та 7 доби експерименту дозволяють розглядати їх як найближчі й віддалені адаптаційні наслідки травми. Пошкоджувальна дія вільних радикалів дестабілізувала ліпіди клітинних мембран, на що вказував високий вміст ГПЛ та ТБК-активних продуктів як у плазмі крові, так і в гомогенатах печінки, нирок, серця. Така неконтрольована активація ПОЛ при тяжкій травмі, зміна структурно-функціонального стану мембран з порушенням їх стабільності дозволяють вважати тяжку травму мембранною патологією, в основі якої лежить неспецифічний патогенетичний механізм. Короточасне підвищення (1 та 3 доби експерименту) активності антиоксидантних ферментів забезпечувало захист організму лише на ранніх етапах хвороби. У подальшому відбувалась руйнація антиоксидантних ферментів або пригнічувався їх синтез.

Додаткове ураження шкіри за умов тяжкої травми зумовлювало більш виражене погіршення показників ПОЛ, ніж сама травма. Зокрема, це відмічали за ступенем зростання вмісту ГПЛ та ТБК-активних продуктів у крові, печінці, нирках та серці у всі терміни спосте-

реження, особливо на 1 добу. Отже, можна припустити поглиблення порушення мембранозалежних функцій гепатоцитів, кардіоміоцитів та ниркових клітин.

**ВИСНОВКИ.** 1. Модельоване травматичне ураження чинить виражений негативний вплив на структурно-функціональний стан мембран гепатоцитів, кардіоміоцитів і ниркових клітин, що є наслідком активації процесів ліпопероксидації.

2. Додаткове нанесення механічної і термічної рани (скальпування та опік 10 % поверхні)

поглиблює ураження печінки, нирок і серця, що проявляється ще більшим вмістом початкових (ГПЛ) та проміжних (ТБК-активних) продуктів ПОЛ.

3. В усіх серіях експерименту компенсаторно підвищується активність ферментів АОЗ, що проявляється їх викидом у кров.

**ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.** Перспективним напрямком подальших досліджень є можливість застосування розробленої експериментальної моделі для скринінгового вивчення різноманітних засобів корекції механічних та термічних уражень організму.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Агаджанян В.В. Политравма: проблема и практические вопросы // Политравма. – 2006. – № 1. – С. 5-8.

2. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41-46.

3. Болгов Д.М., Савченкова Л.В., Лукьянчук В.Д. Патогенетические основы формирования синдрома длительного раздавливания // Украинский журнал экстремальной медицины им. Г.О. Можаява. – 2001. – 2, № 1. – С. 89-97.

4. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.Г. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33-35.

5. Ерохин И.А. Тяжелая сочетанная травма как форма экстремального состояния организма человека // Актуальные проблемы множественных сочетанных травм. – СПб., 1992. – С. 8-10.

6. Журавлев С.М. Травматизм и ортопедическая заболеваемость – приоритетная медицинская и демографическая проблема. Актовая речь. – М.: ЦИТО, 1997. – 48 с.

7. Калинин О.Г., Калинин А.О. К патогенезу травматической болезни // Проблемы военного здравоохранения. – К.: Янтар, 2002. – С. 34-43.

8. Картавенко В.И., Шабанов А.К. Применение шкалы АРАСНЕ – II для оценки тяжести пострадавших // Материалы научно-практической конферен-

ции, посвященной 70-летию со дня рождения проф. Ю.Н. Цибина, “Интегральная оценка и прогнозирование в экстренной медицине”. – СПб., 2001. – С. 18-25.

9. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск: Беларусь, 1982. – 311 с.

10. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.

11. Костиков Ю.П., Фесков А.Э., Гильбог Г.Н. Анализ летальности в отделении политравмы многопрофильной больницы // Проблемы военного здравоохранения. – К.: Янтар, 2002. – С. 170-175.

12. Лебедев В.В., Крылов В.В., Охотский В.П. и др. Классификация и хирургическое лечение черепно-мозговой травмы, сочетанной с травмой конечностей: Методические рекомендации. – М., 1998. – 19 с.

13. Лейдерман И.Н., Руднов В.А., Клейн А.В., Николаева Э.К. Синдром гиперметаболизма – универсальное звено патогенеза критических состояний // Вестник интенсивной терапии. – 1997. – № 3. – С. 17-23.

14. Пат. на корисну модель 30028 Україна МПК 2006 G 09B 23/00 Спосіб моделювання політравми / Т.Я. Секела, А.А. Гудима (Україна); Тернопільський медуніверситет. – № U 2007 10471; Заявл. 21.09.07; Опубл. 11.02.08; Бюл. № 3. – 4 с.

15. Regas F.C., Ehrlich H.P. Elucidating the vascular response to burns with a new rat model // J. Trauma. – 1992. – 32, № 5. – P. 557-563.



**М.М. Корда, С.Р. Пидручная, Е.О. Кулянда, И.С. Кулянда, О.И. Остривка, У.М. Захарчук,  
И.Р. Копытчак**  
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

## **ОСОБЕННОСТИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ НА ФОНЕ КОМБИНИРОВАННОЙ ТРАВМЫ**

### **Резюме**

*В статье приведены изменения показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в динамике тяжелой травмы. Дополнительное механическое и термическое травмирование 10 % площади кожи существенно ухудшает ее протекание. Применение разработанной экспериментальной модели дает возможность провести скрининговое изучение различных способов коррекции механических и термических поражений.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** политравма, ожог, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система.

**M.M. Korda, S.R. Pidruchna, O.O. Kulyanda, I.S. Kulyanda, O.I. Ostrivka, U.M. Zakcharchuk  
I.R. Kopytchak**  
I.YA. HORBACHEVSKY TERNOPII STATE MEDICAL UNIVERSITY

## **PECULARITIES OF LIPID PEROXIDATION AND ACTIVITY OF ANTIOXYDANT ENZYMES IN CASE OF COMBINE TRAUMA**

### **Summary**

*The results of lipid peroxidation and antioxidative systems indexes changes in the dynamic of heavy trauma are given in this article . Additional mechanical and thermal injuring of 10 % of skin area are substantially worsened prognosis. Application of developed experimental model gives a possibility of screening of different correction methods of mechanical and thermal lesion.*

**KEY WORDS:** polytrauma, burns, lipid peroxidation, antioxidative systems.

Отримано 11.03.10

**Адреса для листування:** С.Р. Пидручна, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

**КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ МЕФЕНАМІНОВОЇ КИСЛОТИ ТА НОВИХ  
БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ 3-ОКСАМОЇЛЗАМІЩЕНИХ  
N-ФЕНІЛАНТРАНІЛОВИХ КИСЛОТ МЕТОДОМ ДВОФАЗНОГО  
ТИТРУВАННЯ**

*Розроблено методику кількісного визначення мефенамінової кислоти та нових біологічно активних 3-оксамоїлзаміщених N-фенілантранілових кислот. Суть методу полягає у прямому титруванні розчином луку двофазної системи, яка складається з органічної фази, що містить аналізовану речовину, та водної фази, що містить індикатор. Кінцеву точку титрування визначають за зміною забарвлення водного шару. Результати кількісного визначення N-фенілантранілових кислот методом двофазного титрування характеризуються високою точністю та репрезентативністю порівняно з методом потенціометричного титрування, який використовували раніше.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **N-фенілантранілові кислоти, кількісне визначення.**

ВСТУП. Похідні заміщених N-фенілантранілових кислот (N-ФАК) зарекомендували себе як високоефективні біологічно активні речовини [2-5, 8-11]. N-ФАК відомі як засоби з протизапальною, анальгетичною активністю та широко застосовуються в медицині як індивідуальні лікарські засоби і в комплексі з іншими препаратами [2]. Серед них найбільш відомими є мефенамінова, меклофенамова, флуфенамова кислоти, дифторант та ін. Також N-ФАК та їх похідні використовують як вихідні речовини для синтезу сполук акридинового, фенатіазинового ряду, як аналітичні реагенти, індикатори [6]. Важливим аспектом у проведенні біофармацевтичних досліджень N-ФАК є розробка методів їх кількісного визначення. За даними ДФУ і наукової літератури, сполуки цього ряду кількісно визначають методом потенціометричного титрування в неводних і змішаних розчинниках, оскільки вони практично не розчинні у воді [1, 6, 7]. Вказані методики точні, але тривалі у виконанні. Тому питання розробки експресної, простої та надійної методики кількісного визначення N-ФАК є актуальним. Для неописаних 3-оксамоїлзаміщених N-ФАК методи кількісного аналізу в літературі відсутні.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. 3-оксамоїл-N-фенілантранілові кислоти (I-V) синтезовано за

© С.Г. Ісаєв, М.М. Сулейман, О.М. Свечнікова, В.Д. Яременко, 2010.

модифікованою нами реакцією Ульмана [8, 9], їх будову й індивідуальність підтверджено даними елементного аналізу, ІЧ,-ПМР-спектрів, зустрічним синтезом, методом хроматографії у тонкому шарі сорбенту. Синтезовані субстанції (I-V) проявляли протизапальну, анальгетичну, діуретичну активність ( $DL_{50}=2500-4500$  мг/кг – внутрішньошлунково).

Апаратура та реактиви для кількісного визначення 3-оксамоїл-N-ФАК та мефенамінової кислоти методом двофазного титрування: колба з притертою пробкою (місткість – 100 мл), мікробюретка (місткість – 5 мл), н-октанол, 0,1 % спиртовий розчин бромтимолового синього, 0,1 М розчин натрію гідроксиду.

Потенціометричне титрування проводили у змішаному розчиннику діоксан–вода (60 об'ємних відсотків діоксану) на іонімірі 1-160 з використанням індикаторного скляного (ЕСП-45-07) та хлорсрібного (ЕВЛ – ЛМЛ) електродів.

Методика кількісного визначення 3-(метиламінооксиамино)-2-о-толиламінобензойної кислоти (II)

Метод двофазного титрування. Точну навážку 3-(метиламінооксиамино)-2-о-толиламінобензойної кислоти (0,09-0,12 г) розчиняють у 20 мл н-октанолу в колбі з притертою пробкою. Додають 40 мл дистильованої води та 8-10 крапель 0,1 % спиртового розчину бромтимолового синього. Титрують 0,1 М розчином натрію гідроксиду при інтенсивному перемішуванні до появи синього забарвлен-

ня водного шару. Сполуки I-V та мефенамінову кислоту (VI) аналізують аналогічно.

Метод потенціометричного титрування. Точну наважку 3-(метиламінооксаміламіно)-2-о-толиламінобензойної кислоти (0,09-0,12 г) розчиняють у 20 мл змішаного розчинника діоксан-вода і титрують потенціометрично звільненим від карбонатів 0,1 М водним розчином натрію гідроксиду. Точку еквівалентності визначали за першою похідною залежності  $E(mV) - f(V_{NaOH})$ . Сполуки I-V та мефенамінову кислоту аналізували аналогічно.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Нами розроблено експресний метод кількісного визначення N-ФАК. За основу було взято метод двофазного титрування за присутності індикатора, що не екстрагується органічними розчинниками [6, 7]. Суть методу полягає у прямому титруванні стандартним водним розчином натрію гідроксиду двофазної системи, яка складається з н-октанольної фази, що містить аналізовану речовину, й водної фази, що містить

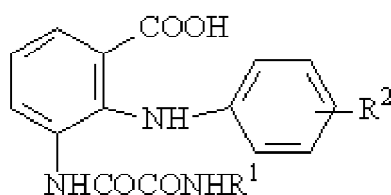
індикатор. Як неекстраговані індикатори використовували: 0,04 % спиртовий розчин м-крезолового пурпурного та 0,1 % спиртові розчини фенолфталеїну, бромтимолового синього, тимолфталеїну (табл. 1). Але, як показали дослідження, найбільш прийнятним індикатором є бромтимоловий синій. При титруванні розчином натрію гідроксиду порушується екстракційна рівновага і натрієва сіль N-ФАК переходить у водну фазу. Кінцеву точку титрування визначають за зміною забарвлення індикатора у водному шарі. Експериментально підібрано об'єми н-октанольної та водної фаз (1:2).

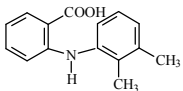
Порівняльні результати визначень 3-оксамоїлзаміщених N-ФАК (I-V) та мефенамінової кислоти (VI) методом двофазного титрування та відомим потенціометричним методом у водно-діоксановій суміші наведено в таблиці 2. Розроблена методика двофазного титрування характеризується точністю, репрезентативністю та простотою у виконанні, чим вигідно відрізняється від методу потенціометричного титрування.

Таблиця 1 – **Результати кількісного визначення 3-(метиламінооксаміламіно)-2-орто-толиламінобензойної кислоти методом двофазного титрування з різними кислотно-основними індикаторами**

Індикатор	Наважка, г	Знайдено, %	Метрологічні характеристики
0,1 % спиртовий розчин тимолфталеїну	0,1034	99,83	$\bar{X} = 99,59 \%$ $S = 0,216$ $S_{\bar{X}} = 0,097$ $\Delta \bar{X} = 0,27$ $\varepsilon = 0,27 \%$
	0,1139	99,44	
	0,1055	99,51	
	0,1071	99,38	
	0,1104	99,80	
0,1 % спиртовий розчин бромтимолового синього	0,1027	99,95	$\bar{X} = 100,06 \%$ $S = 0,1477$ $S_{\bar{X}} = 0,066$ $\Delta \bar{X} = 0,18$ $\varepsilon = 0,18 \%$
	0,1192	100,16	
	0,1547	99,87	
	0,1334	100,12	
	0,1224	100,26	
0,1 % спиртовий розчин фенолфталеїну	0,1330	99,00	$\bar{X} = 99,60 \%$ $S = 0,476$ $S_{\bar{X}} = 0,213$ $\Delta \bar{X} = 0,59$ $\varepsilon = 0,59 \%$
	0,1294	99,61	
	0,1278	99,81	
	0,1282	99,30	
	0,1304	100,27	
0,04 % спиртовий розчин м-крезолового пурпурного	0,1227	99,44	$\bar{X} = 99,58 \%$ $S = 0,615$ $S_{\bar{X}} = 0,275$ $\Delta \bar{X} = 0,76$ $\varepsilon = 0,76 \%$
	0,1194	99,20	
	0,1085	99,79	
	0,1137	99,92	
	0,1094	100,54	

Таблиця 2 – Результати кількісного визначення 3-оксамілізаміщених N-фенілантранілових, мефенамінової кислот методом двофазного та потенціометричного титрування



Сполука	R¹	R²	Метод двофазного титрування			Метод потенціометричного титрування		
			наважка, г	знайдено, %	метрологічні характеристики	наважка, г	знайдено, %	метрологічні характеристики
I	H	H	0,1172	99,33	$\bar{X} = 99,63 \%$	0,1205	99,30	$\bar{X} = 99,51 \%$
			0,1109	99,85	$S = 0,316$	0,1206	99,05	$S = 0,333$
			0,1095	99,31	$S \bar{X} = 0,141$	0,1175	99,72	$S \bar{X} = 0,149$
			0,1077	99,62	$\Delta \bar{X} = 0,39$	0,1154	99,81	$\Delta \bar{X} = 0,41$
			0,1054	100,06	$\varepsilon = 0,39 \%$	0,1218	99,66	$\varepsilon = 0,42 \%$
II	CH₃	2'-CH₃	0,1034	99,83	$\bar{X} = 99,59 \%$	0,1015	99,49	$\bar{X} = 99,78 \%$
			0,1139	99,44	$S = 0,216$	0,1024	100,30	$S = 0,284$
			0,1055	99,38	$S \bar{X} = 0,097$	0,1038	99,35	$S \bar{X} = 0,127$
			0,1071	99,51	$\Delta \bar{X} = 0,27$	0,0995	99,77	$\Delta \bar{X} = 0,35$
			0,1104	99,80	$\varepsilon = 0,27 \%$	0,1005	100,00	$\varepsilon = 0,35 \%$
III	(CH₂)₂OH	3'-CH₃	0,0994	100,05	$\bar{X} = 99,94 \%$	0,1038	99,35	$\bar{X} = 99,25 \%$
			0,1018	99,80	$S = 0,296$	0,1009	99,15	$S = 0,190$
			0,1024	100,04	$S \bar{X} = 0,132$	0,0998	99,05	$S \bar{X} = 0,085$
			0,1038	100,16	$\Delta \bar{X} = 0,37$	0,1037	99,32	$\Delta \bar{X} = 0,24$
			0,1034	99,65	$\varepsilon = 0,37 \%$	0,1012	99,38	$\varepsilon = 0,24 \%$
IV	C₃H₇-i	4'-CH₃	0,1025	99,77	$\bar{X} = 100,11 \%$	0,0985	99,37	$\bar{X} = 99,75 \%$
			0,1038	99,85	$S = 0,291$	0,982	98,81	$S = 0,284$
			0,1032	100,12	$S \bar{X} = 0,130$	0,1054	99,71	$S \bar{X} = 0,127$
			0,1022	100,49	$\Delta \bar{X} = 0,36$	0,1037	99,95	$\Delta \bar{X} = 0,35$
			0,0992	100,32	$\varepsilon = 0,36 \%$	0,1030	99,92	$\varepsilon = 0,35 \%$
V	C₄H₉-n	3,4'-(CH₃)₂	0,1044	99,90	$\bar{X} = 99,93 \%$	0,1025	99,08	$\bar{X} = 99,62 \%$
			0,0993	99,69	$S = 0,246$	0,1027	99,35	$S = 0,319$
			0,1023	99,82	$S \bar{X} = 0,110$	0,1033	99,49	$S \bar{X} = 0,143$
			0,1019	99,99	$\Delta \bar{X} = 0,31$	0,0984	99,41	$\Delta \bar{X} = 0,40$
			0,0995	100,35	$\varepsilon = 0,31 \%$	0,0992	99,89	$\varepsilon = 0,40 \%$
VI		Мефенамінова кислота	0,1033	99,85	$\bar{X} = 100,13 \%$	0,1052	99,99	$\bar{X} = 99,73 \%$
			0,1028	99,96	$S = 0,350$	0,1045	99,39	$S = 0,336$
			0,1018	100,04	$S \bar{X} = 0,156$	0,1034	99,72	$S \bar{X} = 0,150$
			0,1015	100,77	$\Delta \bar{X} = 0,43$	0,1022	99,84	$\Delta \bar{X} = 0,42$
			0,0996	100,04	$\varepsilon = 0,43 \%$	0,1014	99,73	$\varepsilon = 0,42 \%$

ВИСНОВКИ. 1. Розроблено методику кількісного визначення мєфєнамінової кислоти та нових біологічно активних 3-оксамоїлзаміщєних N-фєнілантранілових кислот методом двофазного титрування в системі октанол-вода за присутності індикатора –

бромтимолового синього, яка характеризується простотою, надійністю і точністю.

2. Встановлено, що природа замісників та їх положєння в оксамоїламідному та бензольному кільцях неантранілового фрагмєнта N-фєнілантранілових кислот не впливають на результати кількісного визначєння.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний фармацевтичний центр”. – 1-ше вид. – Харків: ПІРЕГ, 2001 – 556 с.
2. Інформ. лист № 193-2003. Оптимізація пошуку ефективних лікарських засобів на основі N-фєнілантранілових кислот / С.Г. Ісаєв, О.О. Павлій, І.А. Зупанєць та ін. – К., 2003. – Вип. 13 “Фармація”. – 3 с.
3. Ісаєв С.Г., Близнюк О.А., Брунь Л.В. 6-нітро N-фєнілантранілові кислоти, їх синтез та фармакологічні властивості // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2008. – № 4 (5). – С. 61-64.
4. Ісаєв С.Г., Майборода О.О., Брунь Л.В. та ін. Синтез, фізико-хімічні та фармакологічні властивості амідів 3,5-дибром-N-фєнілантранілових кислот // Фармац. журн. – 2008. – № 1. – С. 61-66.
5. Кобзарь Н.П. Синтез, будова та біологічна активність бром- і сульфамойлзаміщєних орто-хлорбензойних, N-R-антранілових кислот та їх похідних: Авторєф. дис. ... канд. фармац. наук. – Харків, 2008. – 20 с.
6. Корєнман И.М. Методы количественного анализа. – М.: Химия, 1989. – 124 с.
7. Максютина Н.П., Каган Ф.Е., Кириченко Л.А. и др. Методы анализа лекарств. – К.: Здоров'я, 1984. – 224 с.

8. Павлій О.О. Синтез, хімічні перетворєння, біологічна активність похідних орто-галогєнбензойних, N-фєнілантранілових кислот та 9-аміноакридину: Авторєф. дис. ... канд. фармац. наук. – Харків, 2008. – 20 с.

9. Пат. 433114 А Україна, МПК С07 С 205/06, С 07 С 229/58. Спосіб одержання заміщєних 3-, 4-, 5-, 6-нітро-2-N-фєнілантранілових кислот / С.Г. Ісаєв, О.І. Павлій, І.А. Зупанєць та ін. – Заявл. 01.12.98; Опубл. 15.02.2001. – Бюл. № 1.

10. Пат. 68693 Україна, МПК А61К 9/10. Препарат для лікування хвороб шкіри, опорно-рухового апарату та сполучних тканин – “Дифторант”, крем / В.І. Кобилінська, Л.В. Безполька, Є.О. Сова та ін. – Заявл. 29.09.03; Опубл. 16.08.04. – Бюл. № 8.

11. Пат. 86613 Україна, МПК С07 С 229/30, А 61 Р29/00, А61Р31/10, А61Р31/196. 6-нітро-N-(2'-карбоксо-4'-хлорфєніл) антранілова кислота, що проявляє протизапальну, анальгєтичну, діурєтичну та протигрибкову активність / С.Г. Ісаєв, В.Д. Яременко, О.А. Близнюк та ін. – Заявл. 29.11.07; Опубл. 25.03.09. – Бюл. № 6.

**С.Г. Ісаєв, М.М. Сулейман, Е.Н. Свєчєнікова, В.Д. Яременко**  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

## КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕФЕНАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ И НОВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ 3-ОКСАМОИЛЗАМЕЩЕННЫХ N-ФЕНИЛАНТРАНИЛОВЫХ КИСЛОТ МЕТОДОМ ДВУХФАЗНОГО ТИТРОВАНИЯ

### Резюме

*Разработана методика количественного определения мєфєнамінової кислоти и новых биологически активных 3-оксамоилзамещєнных N-фєнілантраніловых кислот. Суть метода заключается в прямом титровании раствором щєлочи двухфазной системы, состоящей из органической фазы, содержащей анализируемое вещество, и водной фазы, содержащей индикатор. Конечную точку титрования определяют по изменению окраски водного слоя. Результаты количественного определения N-фєнілантраніловых кислот методом двухфазного титрования характеризуются высокой точностью и репрезентативностью по сравнению с методом потенциометрического титрования, который использовали раньше.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** N-фєнілантраніловые кислоты, количественное определение.

**THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF MEFENAMINIC ACID AND OF NEW  
BIOLOGICALLY ACTIVE OF 3-OXAMOILSUBSTITED OF  
N-PHENYLANTHRANYLIC ACIDS BY THE BIPHASE TITRATION METHOD**

**Summary**

*The new method of the quantitative determination of mefenaminic acid and of 3-oxamoi substituted of N-phenylanthranilic acids has been developed. The method means direct titration of the biphasic system, which includes the organic phase containing the substance analyzed and the aqueous phase with an indicator, by an alkaline solution. The final point of titration is determined by the colour change of the water layer. The results of the quantitative determination of N-phenylanthranilic acids obtained by the biphasic titration method are more accurate and representative than those obtained by the potentiometric determination method previously used for the derivatives mentioned.*

**KEY WORDS: N-phenylanthranilic acids, quantitative determination.**

Отримано 11.12.09

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

## ЛІПІДНО-БІЛКОВИЙ СКЛАД КЛІТИННИХ ФРАКЦІЙ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ВИРАЗКОУТВОРЕННЯ

*Визначено ліпідно-білковий склад різних внутрішньоклітинних фракцій за умов експериментального виразкоутворення в щурів. Показано, що під дією етанолу і стресу відбуваються різнонаправлені зміни вмісту нейтральних ліпідів та фосфоліпідів у ядерній та цитоплазматичній мембранах даних клітин. Не було виявлено порушень білкового складу клітин у дослідженому діапазоні молекулярних мас.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** виразкова хвороба, слизова оболонка шлунка, нейтральні ліпіди, фосфоліпіди.

**ВСТУП.** Однією з найактуальніших проблем медицини є виразкова хвороба шлунка. Це захворювання за поширеністю у світі посідає третє місце, поступаючись тільки серцево-судинним та онкологічним патологіям. Внаслідок тривалого вивчення виникло кілька теорій походження та різноманітних схем лікування цієї недуги. Проте дані теорії не дозволяють повністю з'ясувати етіологію виразкової хвороби, а сучасне лікування призводить до великого спектра ускладнень та рецидивів. Тому потрібен подальший пошук, адже тільки розуміння справжніх причин і механізмів розвитку цієї патології дозволить розробити адекватні й безпечні методи її лікування.

Під час розвитку виразкового захворювання досить важко виділити окремі ланки та встановити правильні причинно-наслідкові зв'язки на рівні цілісного організму. Адже взаємозв'язок різних систем органів може маскувати справжні причини недуги. Багато функціональних розладів на рівні систем органів починаються з порушень на рівні клітин. Клітинні порушення, у свою чергу, можна звести до змін одного або кількох типів молекул, визначення яких і буде ключем для розкриття механізму виникнення та розвитку виразкової хвороби.

В останні роки велику увагу приділяють дослідженню структурних компонентів мембран. Відомо, що виразка шлунка викликає мо-

дифікацію ліпідного складу як клітинної мембрани, так і внутрішньоклітинних органел. Функціонування клітини та її компартментів реалізується насамперед білковими молекулами, частина яких перебуває у зв'язаному з мембраною стані. Відповідно, структурно-функціональні особливості цих білків зумовлюються ліпідним оточенням.

Метою наших досліджень було визначення ліпідного і білкового складу плазматичних мембран (ПМ) та ядер слизової оболонки шлунка (СОШ) щурів за умов стресової та етанолової моделей експериментального виразкоутворення.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Дослідження проводили на білих нелінійних щурах масою близько 200 г. Для отримання нейродистрофічних уражень шлунка за моделлю іммобілізаційного стресу в модифікації С.Д. Гройсмана і Т.Г. Каревіної [2], так званого "соціального стресу", тварин розміщували в металевих перфорованих патронах зі скляним вікном у донній частині. Патрони з тваринами розміщували в колонії вільноживучих щурів, яким створювали умови для їх природного існування (освітлення, вода, корм). Через 24 год щурів виймали з патронів та декапітували. Етанолові нейродистрофічні ураження СОШ отримували за методом Окабе [4]. Для цього голодним щурам перорально вводили 1 мл 80 % етанолу, через добу тварин декапітували. Ізольовані клітини СОШ отримували за модифікованим

нами методом Левіна [6]. Життєздатність одержаних клітин визначали за забарвленням трипановим синім, вона складала 85-90 %. Ядерну фракцію клітин СОШ виділяли методом фракціонування цих клітин в ізотонічному (0,25 М) розчині сахарози [1]. Усі процедури проводили за температури 0-3 °С. Кількість клітин та ядер визначали в камері Горяєва після фарбування трипановим синім. Чистоту отриманих препаратів аналізували методом світлової мікроскопії після фарбування мазків клітинної та ядерної суспензій гематоксилином.

Для ізолювання препаратів ПМ, СОШ щурів гомогенізували протягом 3 хв у 5-кратному об'ємі (відносно маси взятої тканини) середовища гомогенізації: 10 мМ трис-НСІ, рН 7,4, 150 мМ NaCl. Гомогенат фільтрували через 2 шари марлі та центрифугували (12 000 g; 20 хв). Осад відкидали, а надосадову рідину центрифугували (35 000 g; 60 хв). Осад ПМ ресуспендували в середовищі гомогенізації, нашаровували у центрифужні пробірки поверх рівного об'єму 26 % сахарози та центрифугували (102 000 g; 60 хв). ПМ концентрувались на межі розподілу суспензія-сахароза [5].

Екстракцію ліпідів з ядер та мембран клітин шлунка для визначення їх окремих фракцій проводили за методом Кейса [8]. Для визначення вмісту фракцій нейтральних та полярних ліпідів використовували метод тонкошарової хроматографії. Пластини попередньо активували протягом 30 хв при 110 °С. Рухома фаза для нейтральних ліпідів містила гексан, діетиловий ефір, мурашину кислоту в співвідношенні 40:10:1. Рухома фаза для поділу фосфоліпідів містила хлороформ, метанол, воду в співвідношенні 50:25:4. Перед хроматографуванням пластини насичували парами розчинника протягом 5 хв. Хроматографію проводили в скляній камері. Після розподілу пластину висушували, обробляли 10 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, після чого витримували її 30 хв на повітрі, поміщали в термостат на 4 хв при 140 °С до по-

темніння ліпідних фракцій. Для кількісного визначення ліпідних фракцій пластини сканували на денситометрі Shimadzu.

Осадження білків з ядер, ПМ і цитозолу проводили з використанням ТХО. Білковий склад оцінювали методом ДСН-електрофорезу в ПААГ за Лемлі [9]. Статистичну обробку даних проводили загальноприйнятими методами статистики з використанням t-критерію Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Основними структурними ліпідними компонентами біомембран є фосфоліпіди та холестерол. Інтенсивний синтез цих сполук відбувається в печінці та кишечнику. Для функціонування мембран необхідні похідні холестеролу, при цьому важливим є співвідношення холестерол:фосфоліпіди. Холестерол контролює упаковку та рухливість жирнокислотних ланцюгів у фосфоліпідах. У більшості випадків зростання вмісту холестеролу в мембранах знижує рухливість жирнокислотних радикалів. Показано, що етери холестеролу можуть накопичуватись при різних патологіях [10]. Однак функціонування мембран забезпечується наявними в їх структурі білками, властивості яких опосередковані ліпідним оточенням. Так, зміна ліпідного складу може регулювати активність мембранозв'язаних ферментів, визначати транспортну, рецепторну, сигнальну та інші функції білків і всієї мембрани. Необхідно враховувати, що в мембранах ліпіди з білками формують структурно-функціональні комплекси, які зумовлюють життєздатність клітини і за умов розвитку різних патологій, у тому числі й виразкового захворювання, зазнають перебудов, що, відповідно, проявляється функціонуванням як окремих молекул, так і клітин, органів та систем органів.

Проведені дослідження показали, що при експериментальному ульцерогенезі відбувались значні зміни вмісту ліпідів у ядрах та мембранах клітин СОШ (табл. 1).

Таблиця 1 – Вміст нейтральних ліпідів у різних фракціях клітин СОШ при експериментальній виразці в щурів за умов введення етанолу (А) та стресу (Б) (M±m, n=10)

Група тварин	Фракція	Холестерол, мкг/мг білка	Триацилгліцерол, мкг/мг білка
Контроль	ядерна	81,2±6,5	32,3±1,2
	мембранна	112,3±10,0	183,5±18,0
А	ядерна	105,3±8,4*	59,8±5,4*
	мембранна	260,0±20,0*	184,0±18,4
Б	ядерна	143,9±11,5*	69,3±3,3*
	мембранна	290,0±20,0*	259,9±20,0*

Примітка. Тут і в наступній таблиці: \* – p≤0,05 відносно контролю.



Встановлено, що в ядрах підвищувався вміст триацилгліцеролів і холестеролу, порівняно з контролем, при введенні щурів етанолу та під дією стресу. Зростання вмісту холестеролу та триацилгліцеролів відбувалось у фракції плазматичних мембран за умов стресової виразки. При етаноловій виразці в мембранах клітин СОШ значно підвищувався вміст холестеролу, тоді як рівень триацилгліцеролів достовірно не змінювався.

Отже, згідно з отриманими результатами, виразка шлунка викликала зміни вмісту нейтральних ліпідів у досліджуваних фракціях клітин СОШ. Це підтвердило залучення ліпідів

у розвиток метаболічних порушень, що проявлялись під час розвитку цього захворювання. Встановлені зміни також можуть бути пов'язані з утворенням надмірної кількості реакційноздатних кисневих радикалів та інтенсифікацією вільнорадикальних окисних реакцій, перш за все перекисного окиснення поліненасичених жирних кислот, які входять до складу фосфоліпідів.

Нами був визначений вміст фосфоліпідів – фосфатидилетаноламіну (ФЕА), фосфатидилінозиту (ФІ), фосфатидилхоліну (ФХ) і лізофосфатидилхоліну (ЛФХ) – у різних клітинних фракціях СОШ щурів за умов етанолової та стресової виразок (табл. 2).

Таблиця 2 – Вміст фосфоліпідів у різних фракціях клітин СОШ при експериментальній виразці в щурів за умов введення етанолу (А) та стресу (Б) (M±m, n=10)

Стан	Фракція	ФХ, мкг/мг білка	ФЕА, мкг/мг білка	ФІ, мкг/мг білка	ЛФХ, мкг/мг білка
Контроль	ядерна	15,04±0,82	21,97±1,09	2,43±0,18	1,04±0,06
	мембранна	110,80±10,00	58,20±5,50	17,50±1,60	1,60±0,10
А	ядерна	10,83±0,54*	44,54±2,15*	4,74±0,23*	2,81±0,15*
	мембранна	62,60±5,80*	26,90±2,00*	14,50±1,30*	1,60±0,10
Б	ядерна	14,93±0,42	43,06±1,94*	4,66±0,21*	1,41±0,09*
	мембранна	62,80±5,80*	34,90±3,00*	13,30±1,00*	0,70±0,06*

Вивчення фосфоліпідного складу клітинних фракцій СОШ показало, що вміст ФХ у ядерній фракції знижувався за умов дії етанолу, а у фракції ПМ – зменшувався за обох досліджуваних моделей виразкоутворення. В ядерній фракції клітин СОШ щурів вміст ФЕА та ФІ зростав у 2 рази за умов розвитку обох моделей виразки. У фракції ПМ відбувалось достовірне зниження вмісту вищезазначених фосфоліпідів як під дією етанолу, так і під впливом стресу. Підвищення вмісту ФЕА може бути адаптивною відповіддю клітин на дію активних метаболітів кисню. Зміни рівня ФІ можуть бути зумовлені або активацією його синтезу, або пригніченням його деградації в ядрі клітин СОШ, а також інтенсифікацією обміну фосфатидилінозитолмоно- та фосфатидилінозитолдифосфатів, які утворюються з ФІ. Збільшення кількості ФІ може бути пов'язане з активацією поліфосфоінозитидного метаболізму внаслідок дії на клітину ростових факторів. Ці зміни також можуть відображати активацію процесів репарації ДНК. Дослідження рівня ЛФХ у ядерній фракції клітин СОШ показало, що при дії етанолу відбувалось значне збільшення (в 2,7 рази), при дії стресу – менш виражене підвищення (в 1,3 рази) вмісту цієї сполуки. У ПМ даний показник знижувався

лише за умов стресу. Зростання вмісту ЛФХ в ядрах СОШ може бути пояснене активацією процесів ПОЛ, а зниження ЛФХ у ПМ – зміною активності фосфоліпази А2 [7].

Виявлене зниження вмісту фосфоліпідів у мембранах клітин СОШ щурів при різних моделях виразки може бути зумовлене прискоренням метаболічних процесів та необхідністю репарації мембран. Змінене співвідношення мембранних ліпідів може викликати порушення проникнення через мембрану ядра стероїдних гормонів та інших біоактивних речовин, які впливають на експресію генному. Зміни ліпідного компонента ядерної мембрани призводять до відповідних порушень в утворенні похідних ліпідів, які є вторинними посередниками і беруть активну участь в регуляції проходження сигналу та потенціюють зміни в роботі генетичного апарату клітини.

У попередніх дослідженнях встановлено, що за умов стресової моделі виразки у плазмі крові, гепатоцитах і тимоцитах виявляють низькомолекулярні білки. Однією з можливих причин цього явища розглядали деградацію білків з молекулярною масою 80-100 кДа. У загальному гомогенаті СОШ за умов стресу відбувалася деградація білків з молекуляр-

ною масою 95 кДа [3]. Нами було проведено аналіз білкового складу СОШ щурів за фракціями (ядерна фракція, фракція ПМ та цито-

плазми). Не було виявлено змін білкового складу жодної з цих фракцій у діапазоні 40-100 кДа (рис. 1).

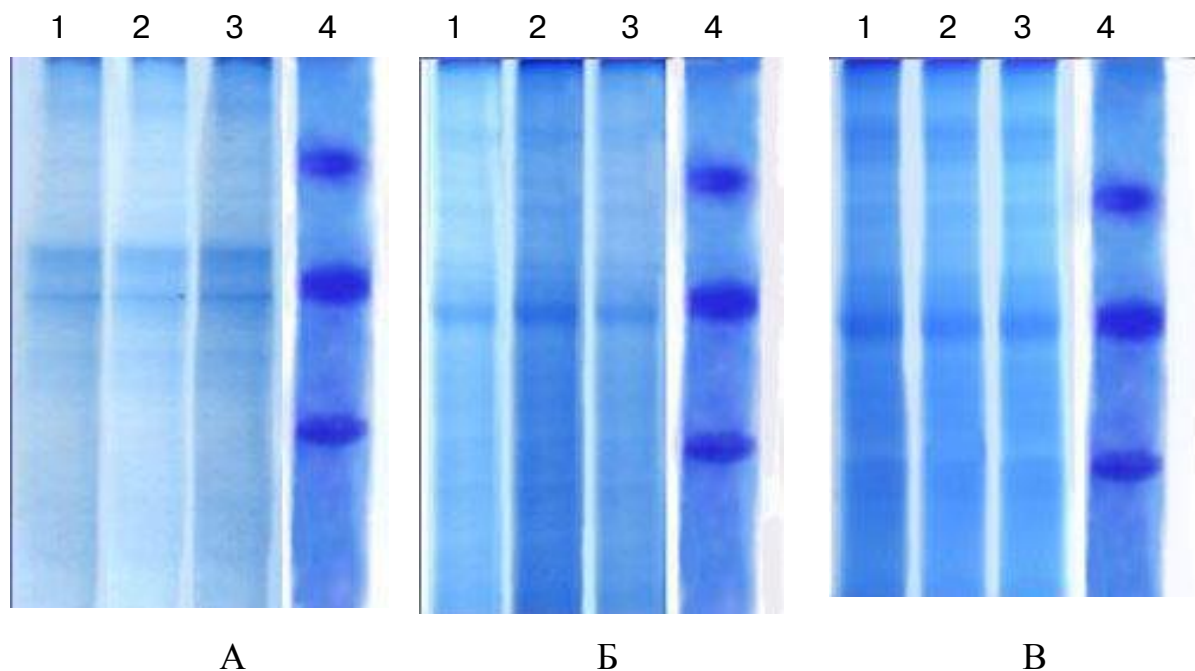


Рис 1. Електрофореграма білків препаратів фракцій СОШ при експериментальному виразкоутворенні: А – плазматичні мембрани, Б – ядра, В – цитоплазма; 1 – контроль, 2 – етанол, 3 – стрес, 4 – маркери: глікогенфосфорилаза (97,4 кДа), БСА (67 кДа), яєчний альбумін (45 кДа).

**ВИСНОВКИ.** При стресовій і етаноловій експериментальних моделях виразки шлунка відбуваються значні порушення в ядерній та плазматичній мембранах клітин СОШ. Зміни у співвідношенні мембранних та ядерних ліпідів призводять до порушення нормального функціонування мембран і можуть зумовлювати порушення мікрооточення мембранозв'язаних

ферментів та рецепторів. Аналіз вмісту білків не виявив змін якісного їх складу. Це свідчить про те, що в клітинах СОШ не відбувається експресія білків, як досліджено у [3], та, можливо, вказує на стабільність білкового складу, що пов'язано з порушеннями процесів насамперед ліпідного обміну.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Борисов С.І., Гринюк І.І., Ковальова В.А. Отримання та характеристика препарату ядер лімфоцитів тимусу і селезінки щурів // Вісник Київ. нац. університету ім. Тараса Шевченка. – 1999. – № 1. – С.12-14.
2. Гройсман С.Д., Каревина Т.Г. О влиянии атропина на стрессорные поражения слизистой оболочки желудка у крыс // Библ. Указ. ВИНТИ. Деп. Рукописи. – 1979. – № 12. – Б/о 131.
3. Дворщенко К.О., Ковальова В.А., Дворщенко О.С., Остапченко Л.І. Характеристика білково-ліпідного складу клітин слизової оболонки шлунка, гепатоцитів, підшлункової залози тимоцитів та плаз-

- ми крові при стресовій моделі виразки // ДАН України. – 2007. – № 2. – С. 169-174.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації / За ред. О.В. Стефанова. – К., 2001. – 528 с.
5. Древаль В.И., Финашин А.В., Баранник Е.А. Исследование связывания бромтимолового синего с плазматическими мембранами // Укр. биохим. журн. – 1989. – **61**, № 2. – С. 94-97.
6. Таиров М.М., Берсимбаев Р.И., Аргутинская С.В., Салганик 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**, вып. 6. – С. 1035-1041.

7. Cochran R.A., Stefanko I., Moore C., Saik R. Cytotoxicity free radicals in stress ulceration // Surg forum. – 1982. – **2**. – P. 159-162.

8. Kates M. Techniques of lipidology. Isolation, analysis and identification of lipids. – Amsterdam, Elsevier, 1986. – 464 p.

9. Laemli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. – 1970. – **227**. – P. 680-685.

10. Morozov V.P., Perelygin V.G., Savranski V.M., Shabunovich Y.V. Lipid peroxidation in the blood and tissues of patients with peptic ulcer // Klin. Med. – 1992. – Feb. – P. 70-75.

**Я.А. Руденко, В.А. Ковалёва, А.А. Моргаченко, А.Г. Вишневская, Л.И. Остапченко**  
КИЕВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ТАРАСА ШЕВЧЕНКО

## ЛИПИДНО-БЕЛКОВЫЙ СОСТАВ КЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИЙ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЯЗВООБРАЗОВАНИИ

### Резюме

Определен липидно-белковый состав разных внутриклеточных фракций при экспериментальном язвообразовании у крыс. Показано, что под воздействием этанола и стресса происходят разнонаправленные изменения содержания нейтральных липидов и фосфолипидов в ядерной и цитоплазматической мембранах данных клеток. Не было обнаружено нарушений белкового состава клеток в исследованном диапазоне молекулярных масс.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: язвенная болезнь, слизистая оболочка желудка, нейтральные липиды, фосфолипиды.

**Ya.O. Rudenko, V.A. Kovalyova, O.O. Morgaienko, A.H. Vyshnevskia, L.I. Ostapchenko**  
TARAS SHEVCHENKO NATIONAL UNIVERSITY OF KYIV

## LIPID-PROTEIN COMPOSITION OF DIFFERENT FRACTIONS OF RAT GASTRIC MUCOSAL CELLS UNDER EXPERIMENTAL ULCERATION

### Summary

In this research lipid-protein composition of different intracellular fractions of rat gastric mucosal cells under experimental ulceration was evaluated. Significant violations of neutral lipids' and phospholipids' composition of nuclear and plasma membranes were found under ethanol and stress. There wasn't found any violations of protein content in the explored range of molecular weights.

KEY WORDS: stomach ulcer, gastric mucosa, neutral lipids, phospholipids.

Отримано 11.03.10

Адреса для листування: Я.О. Руденко, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна.

**ТЕОРЕТИЧНО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ СПОСОБУ ДОЗУВАННЯ ПОРОШКІВ ПРИ ЇХ ВИГОТОВЛЕННІ В УМОВАХ АПТЕКИ**

*У статті наведено результати вивчення впливу фізико-хімічних властивостей порошкової маси на якість виготовлення (дозування) порошоків в умовах аптеки, а також теоретичний розрахунок невизначеності виготовлення простих порошоків. Проведено дослідження якості простих порошоків за вимогами ДФУ.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** екстемпоральна рецептура, порошки, процес дозування.

**ВСТУП.** У продовження наших досліджень щодо однорідності дозованих одиниць за вимогами статті 2.9.40 ДФУ на прикладі порошоків кислоти аскорбінової [4] було проведено подальші дослідження, об'єктом яких стали інші прості дозовані порошки.

Для дослідження обрано порошки, які часто зустрічаються в аптечній практиці, відрізняються за фізико-хімічними властивостями субстанцій та масою наважки окремого порошку. Метою дослідження було вивчення впливу фізико-хімічних властивостей речовин на якість виготовлення порошоків.

До аптеки субстанції надходять від постачальника. Вони супроводжуються сертифікатом якості та сертифікатом аналізу. В них описано як фізичні, так і хімічні властивості субстанцій.

Процес приготування простих порошоків включає такі операції:

- зважування субстанції на всю необхідну кількість порошоків прописаної маси;
- подрібнення субстанції в ступці до отримання однорідної маси;
- розваження порошоків на дози [7].

У процесі розтирання субстанції в ступці ми частково змінюємо її фізико-хімічні властивості, оскільки при цьому зменшується розмір окремих частинок порошку. В результаті ми отримуємо порошкову масу, яка має частково змінені фізико-хімічні властивості, а саме – насипний об'єм, насипна густина та плинність, котрі відрізняються від фізико-хімічних властивостей самих субстанцій.

Таким чином, для того, щоб вивчити вплив фізико-хімічних властивостей субстанцій на якість виготовлення порошоків, необхідно оцінювати фізико-хімічні властивості не самих субстанцій, а готової порошкової маси.

Процес виготовлення простих порошоків складається з декількох технологічних операцій [7]. На якість виготовлення простих порошоків впливає велика кількість факторів, кожен з яких вносить свою похибку в процес приготування. Нам було цікаво здійснити теоретичний розрахунок загальної невизначеності процесу виготовлення простих порошоків, які нами досліджувались. Розрахунки проводили за формулою [1, 8]:

$$\Delta_{m_{заг.}}^2 = \sqrt{\Delta_{m_{зваж.}}^2 + \Delta_{m_{дозув.}}^2 + \Delta_S^2},$$

де  $\Delta_{m_{заг.}}$  – загальна невизначеність виготовлення простого порошку;

$$\Delta_{m_{зваж.}}^2 \text{ – невизначеність зважування;}$$

$$\Delta_{m_{дозув.}}^2 \text{ – невизначеність дозування;}$$

$$\Delta_S^2 \text{ – невизначеність розтирання в ступці.}$$

Результати розрахунків наведено в таблиці 1.

На першому етапі приготування (зважування розрахованої кількості субстанції) вноситься невизначеність ваг (або ВР-20, або ВР-100 залежно від маси, яку необхідно зважити). Тому дуже важливими є правильність зважування і точність ваг.

Таблиця 1 – Результати теоретичного розрахунку невизначеності при виготовленні лікарських форм

Склад лікарської форми	Невизначеність, %					
	зважування	розтирання в ступці	дозування за		загальна, дозування за	
			масою	об'ємом	масою	об'ємом
Rp.: Furacillini 0,1 Da tales doses №50	0,12	2,94	2,0	-	3,56	-
Rp.: Euphillini 0,15 Da tales doses №50	0,08	0,64	1,3	-	1,48	-
Rp.: Acidi ascorbinici 0,2 Da tales doses №100	0,05	0,06	1,0	4,0	1,0	4,0
Rp.: Acidi aminocaproici 0,5 Da tales doses №100	0,1	0,2	0,8	3,8	0,83	3,81
Rp.: Magnesii sulfatis 1,0 Da tales doses №100	0,05	0,27	0,4	3,4	0,49	3,41
Rp.: Tanini 1,0 Da tales doses №100	0,05	0,187	0,4	3,4	0,44	3,41
Rp.: Hexamethylentetramini 2,0 Da tales doses №50	0,05	0,44	0,2	3,2	0,49	3,23

На наступному етапі приготування (розтирання в ступці) вноситься невизначеність за рахунок втрат при розтиранні субстанції у пороху ступки. Важливими на цьому етапі є правильний вибір номера ступки з урахуванням її оптимального завантаження, коефіцієнта робочої поверхні та дотримання часу, необхідного для подрібнення порошкової маси.

На етапі дозування на якість розваження порошоків впливає величина невизначеності ручних аптечних ваг (BP-1 чи BP-5) або ложки-дозатора (залежно від вибору способу дозування – за масою чи за об'ємом). У разі дозування за об'ємом невизначеність при дозуванні буде більшою, про що свідчить її теоретичний розрахунок. Це пояснюється тим, що при калібруванні ложки-дозатора використовують ваги BP-1 або BP-5, тому загальна невизначеність включатиме в себе невизначеність як ложки-дозатора, так і ручних аптечних ваг.

Таблиця 2 – Вимоги нормативної документації при контролі на однорідність дозованих одиниць порошоків "ex tempore"

Відхилення, допустимі при розваженні порошоків на дози		Критерії відповідності на однорідність дозованих одиниць за вимогами статті ДФУ 2.9.40
Прописана маса, г	Відхилення, %	Допустиме відхилення, %
до 0,1	±15	$\leq 15,0\%$ за умови, що $M = \bar{X}$ ( $98,5 \leq \bar{X} \leq 101,5\%$ ), тобто кожна індивідуальна маса відповідає рівнянню: $75,0 \leq X_i \leq 125,0\%$
від 0,1 до 0,3	±10	
від 0,3 до 1	±5	
від 1 до 10	±3	
від 10 до 100	±3	
від 100 до 250	±2	
понад 250	±0,3	

Не можна при аналізі факторів, які впливають на якість виготовлення порошоків, виключати і людський фактор. Якість виготовленого препарату буде залежати від знань, навичок, умінь та компетентності фармацевта чи провізора, який його виготовив.

При проведенні дослідження нам було цікаво визначити та оцінити рівень впливу кожного з перерахованих факторів на якість готового порошку.

Якість порошоків регламентують ДФУ [2] та наказ МОЗ № 626 [5], вимоги яких наведено в таблиці 2. Ці вимоги не збігаються. Також наказ № 626 не регламентує методику проведення дослідження якості порошоків, а лише вказує допустимі відхилення при дозуванні.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Для проведення досліджень застосовували субстанції фурациліну, еуфіліну, аскорбінової кислоти, амінокапронової кислоти, магнію сульфату, таніну та

гексаметилентетраміну, які мають сертифікати якості та сертифікати аналізу і дозволені до використання. Для роботи використовували мірний посуд класу А, реактиви, які відповідають вимогам ДФУ, аналітичні ваги AB 204 S/A

Rp.: Furacillini 0,1  
Da tales doses №50  
Signa.

Rp.: Acidi ascorbinici 0,2  
Da tales doses №100  
Signa.

Rp.: Magnesii sulfatis 1,0  
Da tales doses №100  
Signa.

Rp.: Hexamethylentetramini 2,0  
Da tales doses №50  
Signa.

Фурацилін – зеленувато-жовтий кристалічний порошок. При приготуванні порошоків відважували 5,0 г фурациліну на ручних аптечних вагах ВР-20, тонко подрібнювали у ступці № 4 (оптимальне завантаження – 3,0 г, час подрібнення – 2 хв, коефіцієнт робочої поверхні – 3) і розважували по 0,1 г у вощені капсули вагами ВР-5.

Еуфілін – кристалічний порошок із жовтуватим відтінком. При приготуванні порошоків відважували 7,5 г еуфіліну на ручних аптечних вагах ВР-20, тонко подрібнювали у ступці № 4 і розважували по 0,15 г у вощені капсули вагами ВР- 5.

Аскорбінова кислота – кристалічний порошок білого або майже білого кольору. При приготуванні порошоків відважували 20,0 г аскорбінової кислоти на вагах ВР-100, тонко подрібнювали у ступці № 6 (оптимальне завантаження – 18,0 г, час подрібнення – 3,5 хв, коефіцієнт робочої поверхні – 10) і розважували по 0,2 г у вощені капсули вагами ВР-5.

Амінокапронова кислота – кристалічний порошок білого кольору. При приготуванні порошоків відважували 50,0 г амінокапронової кислоти на вагах ВР-100, тонко подрібнювали у ступці № 7 (оптимальне завантаження – 42,0 г, час подрібнення – 5 хв, коефіцієнт робочої поверхні – 17) і розважували по 0,5 г у вощені капсули вагами ВР-5.

Магнію сульфат – кристалічний порошок білого кольору. При приготуванні порошоків відважували 100,0 г магнію сульфату на вагах ВР-100, тонко подрібнювали у ступці № 7 і розважували по 1,0 г у вощені капсули вагами ВР-5.

Танін – глянцеві кристали коричневого кольору. При приготуванні порошоків відважували 100,0 г таніну на вагах ВР-100, тонко

METTLER TOLEDO, ручні аптечні ваги ВР-1, ВР-5, ВР-20 та ВР-100, ложку-дозатор ТК-3.

У двох аптеках, на базі яких проводили дослідження, було виготовлено прості дозовані порошки складу:

Rp.: Euphillini 0,15  
Da tales doses №50  
Signa.

Rp.: Acidi aminocaproici 0,5  
Da tales doses №100  
Signa.

Rp.: Tanini 1,0  
Da tales doses №100  
Signa

подрібнювали у ступці № 7 і розважували по 1,0 г у вощені капсули вагами ВР-5.

Гексаметилентетрамін – білий кристалічний порошок. При приготуванні порошоків відважували 100,0 г гексаметилентетраміну на вагах ВР-100, тонко подрібнювали у ступці № 7 і розважували по 2,0 г у вощені капсули вагами ВР-5.

Було проведено визначення плинності та кута природного нахилу кожної субстанції. Для цього застосовували віброприлад ВП12А МЗТО. Методика визначення: наважку порошку масою 50,0 г, відважену з точністю до 0,25 г, засипають у воронку, вмикають вібропристрій і через 20 с відкривають заслонку. Засікають час, за який порошок висиплеться з воронки в прийомний стакан. Плинність виражають у секундах, віднесених до 100 г зразка [3, 6].

Непрямою характеристикою процесу плинності є кут природного нахилу. Вимірюють його за допомогою того ж самого приладу з використанням кутовимірювача. Результати визначення плинності та кута природного нахилу наведено в таблиці 3.

Нами було проведено визначення насипного об'єму порошоків, які досліджували [3, 6]. Насипний об'єм порошку в лабораторних умовах визначають на приладі 545Р-АК-3 МЗТО, який складається із струшувального пристрою, підставки для градуйованого циліндра та самого циліндра. Для проведення дослідів зважують 100,0 г порошку з точністю до 0,001 г і поміщають його в сухий циліндр, закріплюють на підставці й фіксують насипний об'єм до усадки  $V_0$  (мл). Частоту коливань встановлюють за допомогою трансформатора в межах 250 кол/хв за лічильником. Проводять 10, 500, 1250 зіскоків циліндра і фіксують об'єми  $V_{10}$ ,  $V_{500}$ ,  $V_{1250}$ . Об'єм після усадки (мл) визначають

Таблиця 3 – Результати вивчення фізико-хімічних властивостей порошкової маси

Назва порошку	Насипний об'єм, мл	Об'єм після усадки, мл	Здатність до усадки, мл	Насипна густина, г/мл	Густина після усадки, г/мл	Плинність, с	Кут природного нахилу
Фурацилін	240,95	175,69	20,08	0,42	0,57	295,48	40
Еуфілін	209,90	158,75	17,38	0,48	0,63	85,47	45
Танін	190,00	150,00	20,00	0,53	0,67	44,24	32
Амінокапронова кислота	179,80	149,85	14,99	0,56	0,67	9,97	31
Магнію сульфат	140,00	121,50	10,00	0,71	0,82	9,87	45
Гексаметилентетрамін	139,86	127,37	5,99	0,72	0,79	7,28	41
Аскорбінова кислота	110,00	105,00	4,00	0,91	0,95	7,18	38

за величиною  $V_{1250}$  (мл), здатність до усадки (мл) – різниця між  $V_{10}$  та  $V_{500}$ , насипну густина  $\rho_n$  (г/мл) і густина після усадки  $\rho_{yc}$  (г/мл) розраховують за формулою:

$$\rho_{n(yc)} = \frac{m}{V_{0(1250)}}$$

де  $m$  – маса наважки плинного матеріалу, г.

Результати визначення насипного об'єму, насипної густини та здатності до усадки наведено в таблиці 3.

Вивчення однорідності дозованих одиниць досліджуваних лікарських форм за вимогами статті 2.9.40 ДФУ [2] проводили так, як і в попередньому дослідженні [4] (при фасуванні № 100 відбирали кожний 10 порошок, при фасуванні № 50 – кожний 5). Значення, розраховані для кожного порошку, зібрано в таблиці (окремо для ваг ВР-1 (ВР-5) – таблиця 4 та ложки-дозатора – таблиця 5).

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У процесі дослідження було встановлено, що фізико-хімічні властивості субстанцій, отриманих від різних виробників, дещо відрізняються між собою. Відповідно, і властивості порошкової маси однієї і тієї ж субстанції від різних заводів-виробників будуть відрізнятися між собою. Тому дуже важко навести загальну таблицю характеристики фізико-хімічних властивостей субстанцій та порошкової маси, якою можна було б керуватись при виготовленні порошоків в умовах аптеки.

Проаналізувавши результати, отримані при дослідженні однорідності маси для одиниці дозованого лікарського засобу за вимогами статті 2.9.40 ДФУ, можна зробити висновок, що при розваженні порошоків на дози вагами ВР-1 (ВР-5) точність дозування збільшується при збільшенні маси наважки окремого порошку.

Результати розрахунків приймального числа (AV) та відносного стандартного відхилен-

Таблиця 4 – Результати дослідження однорідності маси для одиниці дозованого лікарського засобу за вимогами статті 2.9.40 ДФУ (при розваженні вагами ВР-1 (ВР-5))

Назва порошку	AV		RSD		Критерій для RSD	
	аптека 1	аптека 2	аптека 1	аптека 2	аптека 1	аптека 2
Фурацилін по 0,1 г (фармацевт 1)	23,38	16,20	6,32	5,62	2,10	4,85
Фурацилін по 0,1 г (фармацевт 2)	18,79	24,60	5,70	8,56	3,68	3,96
Еуфілін по 0,15 г (фармацевт 1)	13,26	–	4,03	–	4,52	–
Еуфілін по 0,15 г (фармацевт 2)	15,21	–	4,64	–	4,26	–
Аскорбінова кислота по 0,2 г (фармацевт 1)	10,55	12,71	2,33	4,26	4,03	5,03
Аскорбінова кислота по 0,2 г (фармацевт 2)	11,62	28,28	3,16	9,50	4,38	3,11
Амінокапронова кислота по 0,5 г (фармацевт 1)	6,02	7,61	2,06	2,22	5,74	5,21
Амінокапронова кислота по 0,5 г (фармацевт 2)	6,07	21,00	2,27	8,75	5,93	6,25
Магнію сульфат по 1,0 г (фармацевт 1)	4,41	5,34	1,80	2,23	6,18	6,25
Магнію сульфат по 1,0 г (фармацевт 2)	2,99	3,38	1,26	1,41	6,25	6,25
Танін по 1,0 г (фармацевт 1)	1,56	2,66	0,65	1,07	6,25	6,19
Танін по 1,0 г (фармацевт 2)	3,38	6,92	1,43	2,91	6,25	6,25
Гексаметилентетрамін по 2,0 г (фармацевт 1)	0,74	2,13	0,31	0,89	6,25	6,25
Гексаметилентетрамін по 2,0 г (фармацевт 2)	1,72	1,19	0,72	0,50	6,25	6,25

Таблиця 5 – Результати дослідження однорідності маси для одиниці дозованого лікарського засобу за вимогами статті 2.9.40 ДФУ (при розваженні ложкою-дозатором)

Назва порошку	AV		RSD		Критерій для RSD	
	аптека 1	аптека 2	аптека 1	аптека 2	аптека 1	аптека 2
Аскорбінова кислота по 0,2 г (фармацевт 1)	6,72	7,66	2,43	3,18	5,82	6,25
Аскорбінова кислота по 0,2 г (фармацевт 2)	6,63	5,01	2,75	2,08	6,19	6,25
Амінокапронова кислота по 0,5 г (фармацевт 1)	13,22	17,50	3,39	7,32	3,89	6,25
Амінокапронова кислота по 0,5 г (фармацевт 2)	10,70	10,14	2,16	4,13	3,79	6,25
Магнію сульфат по 1,0 г (фармацевт 1)	9,12	5,51	3,37	1,89	5,73	5,79
Магнію сульфат по 1,0 г (фармацевт 2)	4,83	6,67	1,51	2,82	5,70	6,25
Танін по 1,0 г (фармацевт 1)	2,01	–	0,85	–	6,25	–
Танін по 1,0 г (фармацевт 2)	1,74	–	0,73	–	6,25	–

ня (RSD) за вимогами статті 2.9.40 ДФУ [2] для ваг ВР-1 (ВР-5) показали, що порошки фурациліну по 0,1 г не витримали випробування за показниками AV (аптека 1: 1 фармацевт  $23,38 > 15,00$ ; 2 фармацевт  $18,79 > 15,00$ ; аптека 2: 1 фармацевт  $16,20 > 15,00$ ; 2 фармацевт  $24,60 > 15,00$ ) та RSD, значення яких було вищим за допустимий критерій (аптека 1: 1 фармацевт  $6,32 > 2,10$ , 2 фармацевт  $5,70 > 3,68$ ; аптека 2: 1 фармацевт  $5,62 > 4,85$ , 2 фармацевт  $8,56 > 3,96$ ). Порошки еуфіліну, виготовлені фармацевтом 2, також не витримали випробування за показниками AV ( $15,21 > 15,00$ ) та RSD ( $4,64 > 4,26$ ). На нашу думку, в обох випадках на якість розважування вплинули мала маса наважки (для фурациліну наважка 0,1 г – це мінімальна межа зважування для ваг ВР-5) і людський фактор. За результатами дослідження, порошкова маса фурациліну та еуфіліну має високий насипний об'єм і низьку плинність.

Не витримали випробування як за показником AV ( $28,28 > 15,00$ ), так і за показником RSD ( $9,50 > 3,11$ ) порошки аскорбінової кислоти по 0,2 г, виготовлені в аптеці 2 фармацевтом 2. Порошки амінокапронової кислоти по 0,5 г, виготовлені в аптеці 2 фармацевтом 2, не витримали випробування за показниками AV ( $21,00 > 15,00$ ) та RSD ( $8,75 > 6,25$ ). На основі отриманих даних можна зробити висновок про недостатню точність обладнання (ваг ВР-5), а також про некоректне дозування порошків фармацевтом (вплив людського фактора).

При розваженні ложкою-дозатором не витримали випробування за показниками AV ( $17,50 > 15,00$ ) та RSD ( $7,32 > 6,25$ ) порошки амінокапронової кислоти по 0,5 г, виготовлені в аптеці 2 фармацевтом 1. Можна зробити висновок про недостатню точність ложки-дозатора та некоректне дозування порошків фармацевтом.

Разом із тим, порошки еуфіліну, розважені вагами ВР-5 фармацевтом 2, аскорбінової кислоти, розважені ложкою-дозатором та вагами ВР-5 (крім порошків, виготовлених в аптеці 2 фармацевтом 2), амінокапронової кислоти, розважені ложкою-дозатором та вагами ВР-5 (крім тих, які не витримали випробування), всі порошки магнію сульфату, таніну та гексаметилентетраміну витримали випробування за всіма вимогами [2].

Проведені дослідження довели, що краще дозуються речовини, які мають менший насипний об'єм (починаючи з 180,00 мл), вони мають більшу плинність, меншу здатність до усадки (15,00 мл та менше) і більшу насипну густину (починаючи з 0,5 г/мл), про що свідчать результати дослідження точності дозування порошків фурациліну та еуфіліну. Краще дозуються дрібний та середньо-дрібний порошки, дуже дрібний порошок дозується краще на ручних вагах, ніж ложкою-дозатором.

**ВИСНОВКИ.** 1. Для вибору необхідного способу дозування потрібно знати або вміти оцінити фізико-хімічні властивості порошкової маси.

2. При розваженні речовин, які мають більший насипний об'єм та меншу насипну густину (менше 0,5 г/мл), краще використовувати ручні ваги.

3. Ложку-дозатор слід використовувати при дозуванні речовин, які мають менші насипний об'єм, плинність та більшу насипну густину.

4. При виборі обладнання необхідно враховувати його невизначеність та віддавати перевагу тому, яке дає меншу похибку. Встановлено, що дозування за масою має меншу невизначеність, ніж дозування за об'ємом. Для підвищення точності дозування потрібно враховувати всі фактори, які можуть впливати на якість готових порошків.



#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Дворкин В.И. Метрология и обеспечение качества количественного химического анализа. – М.: Химия, 2001. – 263 с.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”. – 1-ше вид. – Доповнення 2. – Харків: Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”, 2008. – 620 с.
3. Державна Фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”. – 1-ше вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
4. Євтіфєєва О.А., Георгіянець В.А., Савченко Л.П. Вивчення однорідності маси простих порошків, виготовлених в умовах аптеки, на відповідність вимогам Державної Фармакопеї України // Фармаком. – 2009. – № 2. – С. 64-78.
5. Про затвердження правил виробництва (виготовлення) лікарських засобів в умовах аптеки: Наказ МОЗ № 626 від 15.12.2004 р.
6. Промышленное производство лекарственных средств: Учебное пособие к лабораторным занятиям / Сост. И.В. Сайко, О.А. Ляпунова, Е.В. Гладух и др. – Х.: НФаУ, 2005. – 116 с.
7. Тихонов О.І., Ярних Т.Г., Гудзенко О.П. та ін. Навчальний посібник з аптечної технології ліків / За ред. О.І. Тихонова. – Х.: Основа, 1998. – 336 с.
8. Quantifying Uncertainty of Measurement / EURACHEM/ CITAC Guide. – 2000. – 120 p.

**О.А. Евтифеева, Л.П. Савченко, В.А. Георгиянц**  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

### ТЕОРЕТИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА СПОСОБА ДОЗИРОВАНИЯ ПОРОШКОВ ПРИ ИХ ИЗГОТОВЛЕНИИ В УСЛОВИЯХ АПТЕКИ

#### Резюме

*В статье приведены результаты изучения влияния физико-химических свойств порошковой массы на качество изготовления (дозирования) порошков в условиях аптеки, а также теоретический расчет неопределенности изготовления простых порошков. Проведено исследование качества простых порошков в соответствии с требованиями ГФУ.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** экстемпоральная рецептура, порошки, процесс дозирования.

**O.A. Yevtifeeva, L.P. Savchenko, V.A. Heorgiyants**  
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

### THEORETICAL AND EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF THE CHOICE OF THE WAY OF COMPOUNDING OF POWDERS IN THE CONDITIONS OF THE PHARMACY

#### Summary

*The results of the study of the influence of physico-chemical properties of powder's mass to the quality of manufacturing (dosage) of powders in the conditions of pharmacy are showed in the article. This article includes the theoretical calculation of an uncertainty of compounding of simple powders. Research of quality of simple powders is conducted following to the requirements of State Pharmacopoeia of Ukraine.*

**KEY WORDS:** extemporal compounding, powders, process of dosage.

Отримано 17.05.10

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

**ГІПОХОЛЕСТЕРИНЕМІЧНА АКТИВНІСТЬ 8-R-7-(2-ГІДРОКСИ-3-ІЗОПРОПОКСИ)ПРОПІЛ-3-МЕТИЛКСАНТИНІВ**

*У роботі вивчено вплив досліджуваних речовин заміщених 3-метилксантину на рівень загального холестерину в сироватці крові при експериментальній гіперліпідемії. Виявлено ряд сполук, які мають гіпохолестеринемічну дію. Встановлено деякі закономірності між структурою і фармакологічним ефектом.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** похідні 3-метилксантину, гіпохолестеринемічна дія, експериментальна гіперліпідемія.

**ВСТУП.** Дисліпідемія є однією з основних ознак метаболічного синдрому та одним із факторів ризику раннього розвитку атеросклерозу [2]. Призначення гіполіпідемічної терапії показане при неефективності дієтичних заходів та рівні холестерину ліпопротеїнів низької щільності (ХС ЛПНЩ) понад 3,35 ммоль/л. Метою терапії є досягнення рівня ХС ЛПНЩ, нижчого 2,6 ммоль/л, і холестерину ліпопротеїнів високої щільності (ХС ЛПВЩ), вищого 1,5 ммоль/л.

Існує 5 основних груп гіполіпідемічних препаратів: статини – інгібітори гідроксиметилглютарил-коензим А (ГМГ-КоА)-редуктази, фібрати – похідні фіброевої кислоти, секвестранти жовчних кислот, пробукол, нікотинова кислота та її похідні.

На даний час інгібітори 3-гідрокси-3-метилглютарил-КоА-редуктази (статини) є препаратами вибору при лікуванні як хворих з документально підтвердженим атеросклерозом, так і осіб з високим ризиком його розвитку.

Розширення показань до призначення препаратів групи статинів для досягнення нижчих цільових значень ліпопротеїнів низької щільності та підвищення використовуваних доз статинів пов'язані з неминучим збільшенням числа побічних реакцій, що виникають. Існують окремі повідомлення, які свідчать про те, що призначення статинів може призводити до деякого зниження когнітивної функції, особливо в пацієнтів літнього віку [4, 5].

М'язові небажані порушення привертають увагу як одні з найважливіших побічних ефектів терапії статинами [3]. З огляду на це, пошук нових гіполіпідемічних препаратів, які були б менш токсичними і не поступалися за

ефективністю сучасним антиатеросклеротичним препаратам, є актуальною проблемою терапії серцево-судинних захворювань.

Метою дослідження було вивчення впливу нових похідних ксантину на рівень загального холестерину (ЗХС) у сироватці крові щурів при експериментальній гіперліпідемії.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Експериментальну гіперліпідемію моделювали за Yousufzai Siddiqi [6] на білих щурах лінії Вістар обох статей масою 220-280 г, яких поділили на 16 груп по 7 тварин у кожній: 1-ша – інтактна; 2, 4, 8-ма – контроль, з експериментальною гіперліпідемією (без лікування); 3-тя – щури, які отримували аторвастатин у дозі 1,4 мг/кг; 5-та – фенофібрат у дозі 70 мг/кг; 6-та – нікотинову кислоту в дозі 500 мг/кг; 7, 9-16 – досліджувані похідні ксантину в дозі 1/10 від LD<sub>50</sub>. Для формування гіперліпідемії щурам перорально вводили холестерин у дозі 40 мг/кг та ергокальциферол у соняшниковій олії в дозі 350 000 ОД/кг протягом 5 діб. Еталонними засобами було обрано аторвастатин, фенофібрат та нікотинову кислоту. Сполуки вводили перорально у вигляді суспензії 1 раз на добу через годину після введення атерогенної суміші, тобто в лікувально-профілактичному режимі (паралельно з формуванням патологічного стану).

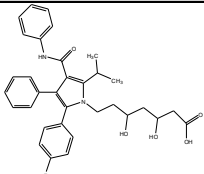
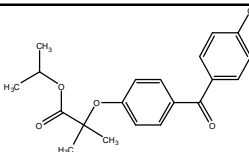
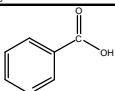
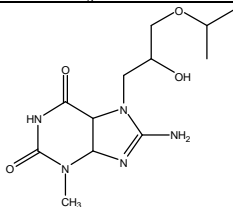
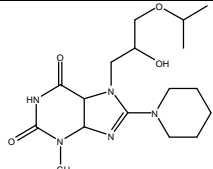
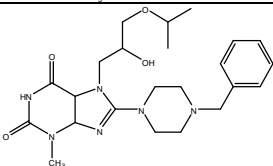
Через 12 год з моменту останнього введення атерогенної суміші та досліджуваних сполук у тварин під ефірним наркозом здійснювали забір крові з біфуркації аорти. Кров центрифугували при 3000 об./хв, виділяли сироватку. В сироватці крові визначали ЗХС за методом Ілька [1]. Достовірність отриманих результатів розраховували з урахуванням Т-критерію для залежних вибірок за допомогою програми STATISTICA.

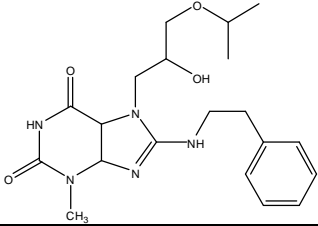
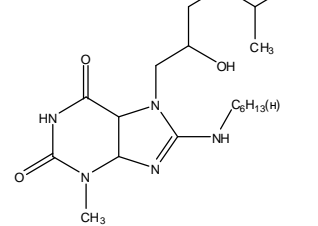
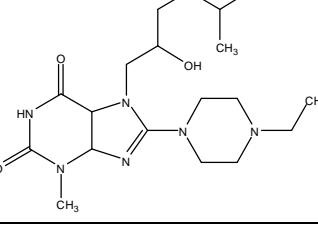
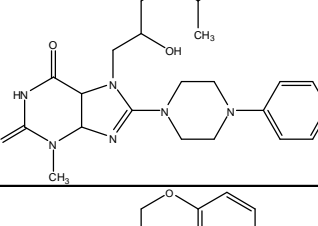
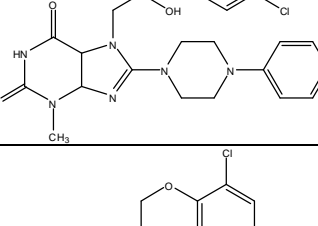
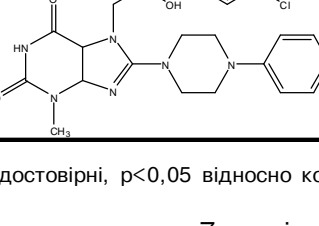
РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У результаті проведеного дослідження встановлено (табл. 1), що сполуки, які вивчали, і препарати порівняння по-різному змінювали рівень показників ліпідного обміну. Так, було виявлено, що найбільш істотну гіпохолестеринемічну дію проявляв 7-(2-гідрокси-3-ізопропоксипропіл)-3-метил-8-(4-фенілпіперазиніл-1)ксантин (зниження рівня ЗХС у сироватці крові на 36,4 %) (речовина 7). 8-(4-бензилпіперазиніл-1)-7-(2-гідрокси-3-ізопропоксипропіл)-3-метилксантин та 7-(3-(4-хлорофенокси)-2-гідроксипропіл)-8-(4-фенілпіперазиніл-1)-3-метилксантин знижували рівень ЗХС ефективніше, ніж

фенофібрат (на 27,36 і 29,28 % відповідно) (речовини 3 та 8), помірну гіпохолестеринемічну дію мала нікотинова кислота (на 19,9 %). Разом із тим, незначна гіпохолестеринемічна дія була властива ксантину 16 (речовина 9) (на 13,72 %). Необхідно відзначити, що еталонні препарати аторвастатин і фенофібрат знижували показники ЗХС у сироватці на 31,28 і 25,11 % відповідно.

З огляду на структуру досліджуваних сполук, було виявлено, що найбільшу гіпохолестеринемічну дію проявляли речовини, що містили у 7-му положенні 2-гідрокси-3-ізопропоксипропільний радикал. Заміна ж 2-гідрок-

Таблиця 1 – Гіпохолестеринемічна дія досліджуваних сполук і препаратів порівняння (M±m)

№ з/п	Група/№ речовини	Хімічна формула	Рівень загального холестерину, ммоль/л,	Співвідношення порівняно з контролем, Δ%
1	2	3	4	5
1	Інтактна		1,48±0,077	
2	Контроль		1,84±0,091	
3	Аторвастатин		1,26±0,108*	-31,28
4	Контроль		1,95±0,040	
5	Фенофібрат		1,46±0,093*	-25,03
6	Нікотинова кислота		1,56±0,084*	-19,9
7	1		1,88±0,068	-3,47
8	Контроль		2,20±0,059	
9	2		2,30±0,071	4,80
10	3		1,60±0,059*	-27,36

1	2	3	4	5
11	4		2,21±0,059	0,32
12	5		2,31±0,110	5,12
13	6		2,19±0,131	-0,40
14	7		1,40±0,097*	-36,53
15	8		1,56±0,113*	-29,05
16	9		1,90±0,065*	-13,52

Примітка. \* – результати достовірні,  $p < 0,05$  відносно контрольної групи.

си-3-ізопропоксипропільного радикала в 7-му положенні на 3-(4-хлорфенокси)-2-гідроксипропільний та 3-(2,4-дихлорфенокси)-2-гідроксипропільний радикали супроводжувалась плавним зниженням гіпохолестеринемічної дії (речовини 7-9). 7-(2-гідрокси-3-ізопропоксипропіл)-3-метил-8-(фенілетиламін)ксантин і 8-(4-бензилпіперазиніл-1)-7-(2-гідрокси-3-

ізопропоксипропіл)-3-метилксантин практично не впливали на обмін холестерину.

Встановлено закономірності залежності хімічної структури від фармакологічного ефекту досліджуваних речовин. Так, перехід від бензильного до фенільного радикала в 1-му положенні піперазинілового циклу в молекулі 7-(2-гідрокси-3-ізопропоксипропіл)-3-метил-8-

(піперазиніл-1) ксантину супроводжувався підвищенням гіпохолестеринемічної дії. Таким чином, ряд досліджуваних сполук мав гіпохолестеринемічну дію. Причому 7-(2-гідрокси-3-ізопропоксипропіл)-3-метил-8-(4-фенілпіперазиніл-1)ксантин не поступався за силою такої дії всім еталонним препаратам. До того ж, 8-(4-бензилпіперазиніл-1)-7-(2-гідрокси-3-ізопропоксипропіл)-3-метилксантин і 7-(3-(4-хлорофенокси)-2-гідроксипропіл)-3-метил-8-(4-фенілпіперазиніл-1)ксантин проявляли свою гіпохолестеринемічну дію на рівні препарату порівняння фенофібрату.

ВИСНОВКИ. 1. Досліджено гіпохолестеринемічну дію 9 сполук – похідних ксантину. Встановлено закономірності щодо будови і гіпохолестеринемічної дії досліджуваних речовин.

2. Найбільш істотну гіпохолестеринемічну активність має 7-(2-гідрокси-3-ізопропоксипропіл)-8-(4-фенілпіперазиніл-1)-3-метилксантин.

3. Похідні 8-(піперазиніл-1)ксантину, які містять у 7-му положенні 2-гідрокси-3-ізопропоксипропільний радикал і фенільний замітник за 1-м положенням піперазинілового циклу, більш виражено проявляють гіпохолестеринемічну дію.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск: Беларусь, 1982. – С. 206-208.
2. Goldschmidt M.G., Barret-Conner E., Edelstein S.L. et al. Dyslipidaemia and ischaemic heart disease mortality among men and women with diabetes // *Circulation*. – 1994. – **89**. – P. 991-997.
3. Guyton J.R. Benefit versus risk in statin treatment // *Am J Cardiol*. – 2006. – **97** (8A). – P. 96-99.
4. King D.S., Wilburn A.J., Wofford M.R., et al. Cognitive impairment associated with atorvastatin and

simvastatin // *Pharmacotherapy*. – 2003. – **23**. – P. 1663-1667.

5. Muldoon M.F., Ryan C.M., Sereika S.M. et al. Randomized trial of the effects of simvastatin on cognitive functioning in hypercholesterolemic adults // *Am J Med*. – 2004. – **117**. – P. 823-829.

6. Yousufzai S.Y.K., Siddiqi M. 3-Hydroxy-3-Methylglutaric Acid and Experimental Atherosclerosis in Rats // *Experientia*. – 1976. – **32**, № 8. – P. 1033-1034.

**А.А. Остапенко**

ЗАПОРІЖСЬКИЙ ГОСУДАРСТВЕННИЙ МЕДИЦИНСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ

## ГИПОХОЛЕСТЕРИНЕМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ 8-R-7-(2-ГИДРОКСИ-3-ИЗОПРОПОКСИ)ПРОПИЛ-3-МЕТИЛКСАНТИНОВ

### Резюме

*В работе изучено влияние исследуемых веществ замещенных 3-метилксантина на уровень общего холестерина в сыворотке крови при экспериментальной гиперлипидемии. Обнаружен ряд соединений, которые проявляют гипохолестеринемическое действие. Установлены некоторые закономерности между структурой и фармакологическим эффектом.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** производные 3-метилксантина, гипохолестеринемическое действие, экспериментальная гиперлипидемия.

**A.O. Ostapenko**

ZAPORIZHYAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

## THE EXPERIMENTAL STUDY OF THE HYPOCHOLESTEROLEMIC ACTIVITY OF 8-R-7-(2-HYDROXY-3-IZOPROPOXY) PROPIL-3-METHYLXANTINE

### Summary

*The influence upon the level of general cholesterol in the blood serum of the probed substances of substituted for 3-methylxantine is studied in the trial. A number of substances with hypolipidemic activity has been found. Some conformities to the law are set between the structure and pharmacological effects.*

**KEY WORDS:** 3-methylxantine, hypercholesterolemic activity, experimental hyperlipidemia.

Отримано 03.02.10

Адреса для листування: А.О. Остапенко, вул. Бородинська, 7, кв. 18, Запоріжжя, 69096, Україна.

**ХРОМАТО-МАС-СПЕКТРОМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ ЗАПАШНИХ РЕЧОВИН  
ЛИСТЯ *SORBUS AUCUPARIA*, *SORBUS ARIA* ТА *SORBUS TORMINALIS***

Методом хромато-мас-спектрометрії в ефірній олії та хлороформних екстрактах листя 3 видів горобини (*Sorbus L.*) виявлено до 70 компонентів, основними з яких є запашні речовини бензальдегід, сквален і фітол.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: запашні речовини, ефірна олія, горобина (*Sorbus L.*).

**ВСТУП.** Запашними речовинами називають органічні сполуки, які мають характерний приємний запах. До них належать натуральні запашні речовини, ефірні олії, різноманітні екстракти і настої з рослинної сировини, бальзами, фруктові-ягідні есенції та інші складні суміші рослинного і тваринного походження. За хімічною будовою запашні речовини відносять до різних класів органічних сполук, з яких переважають терпенові вуглеводні та їх кисневмісні похідні – ефіри, спирти, альдегіди і кетони; входять також ароматичні й гетероциклічні сполуки. Ефіри нижчих жирних кислот і насичених жирних спиртів мають фруктовий запах (наприклад, ізоамілацетат), ефіри аліфатичних кислот і терпенових або ароматичних спиртів – квітковий (наприклад, ліналілацетат), ефіри бензойної, саліцилової та інших ароматичних кислот – головним чином, солодкий бальзамічний. Схожість структур речовин не завжди зумовлює подібність їх запахів. Так, наприклад, *цис*-ізомер 3-гексен-1-олу має запах свіжої зелені, а *транс*-ізомер – хризантеми. З іншого боку, в речовин, які мають різну хімічну будову, може бути схожий запах. Так, трояндоподібний запах характерний для розатону, 3-метил-1-феніл-3-пентанолу, гераніолу і його *цис*-ізомеру неролу. Чутливість людей до певного запаху визначають за допомогою граничної концентрації (мінімальної концентрації запашної речовини, яка викликає нюове відчуття); для більшості запашних речовин вона перебуває в межах  $10^{-8}$ - $10^{-11}$  г/л у повітрі. Нюові порогові людини звичайно значно нижчі порогів смакової чутливості. У деяких людей спостерігається повна або часткова втрата чутливості до певної речовини чи групи запаш-

них речовин. Останнім часом запропоновано близько 30 теорій, в яких зроблено спробу пояснити природу запаху. Згідно із сучасними уявленнями, молекули запашних речовин сприймаються людиною за допомогою специфічних рецепторних нюхальних клітин, які розміщені в глибині носа на слизовій оболонці. Перший етап полягає у взаємодії молекул запашних речовин з рецепторними макромолекулами білкової природи, які розташовані на мембрані нюхальних клітин. При цьому утворюється комплекс запашної речовини з білком, унаслідок чого активуються певні ензиматичні реакції у нюхальній клітині. Це викликає зміну концентрації специфічних речовин на зразок 3',5'-аденозинмонофосфату, які відіграють у цій клітині роль посередників. Такий посередник далі взаємодіє з іонними каналами клітинної мембрани, відчиняє їх, що призводить до деполяризації клітин і виникнення в них нервового імпульсу та, в остаточному підсумку, розпізнання людиною певного запаху. Кожна клітина проявляє високу чутливість до одних речовин і меншу – до інших, відрізняючись при цьому від решти клітин характером своєї виборності [1, 6].

Метою наших досліджень було вивчення складу запашних речовин, які містяться в листі деяких видів роду горобина (*Sorbus L.*) родини розових (*Rosaceae L.*) [2-5, 8-10].

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Листя горобини звичайної (*Sorbus aucuparia L.*), горобини арії або круглолистої (*S. aria (L.) Crantz*) та береки (*S. torminalis (L.) Crantz*) заготовляли у фазу цвітіння рослин у травні 2008 р. в ботанічному саду Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Для одержання хлороформних екстрактів висушену подрібнену си-

© О.В. Криворучко, 2010.

ровину вичерпно екстрагували розчинником в апараті Сокслета, а потім упарювали до повного його видалення. Ефірну олію отримували за допомогою методу, який дозволяє виділити її з невеликої кількості рослинної сировини [7]. Склад ефірних олій і хлороформних екстрактів досліджували на хроматографі Agilent Technologi 6890N з мас-спектрометричним детектором 5973N. Для аналізу використовували віали "Agilent" на 22 мл (part number 5183 - 4536) з відкритими кришками і силіконовим ущільненням. В ущільненні просвердлювали отвір, куди вставляли повітряний холодильник (скляну трубку завдовжки 50 см і діаметром 5-7 мм). Для відгону ефірної олії у віалу вносили 1 г рослинної сировини, заливали водою до половини рівня віали, прикручували кришку з холодильником і поміщали у невелику піщану баню з вогневим регульованим підігрівом. Ступінь нагріву заздалегідь розраховували так, щоб пари киплячої води не виходили з холодильника, а підіймалися не вище 75 % його довжини. Після кипіння протягом години трубку з кришкою знімали, а зворотний холодильник, на внутрішній поверхні якого адсорбувалася слідова кількість ефірної олії, промивали двічі 1-2 мл петролейного ефіру. Змив збирали у віалу "Agilent" на 12 мл із закритою кришкою і силіконовим ущільненням. В отриманий розчин ефірної олії в петролейному ефірі додавали 10-15 мг сульфату натрію (для осушення) та упарювали струмом особливо чистого азоту до об'єму 50 мкл. Склад ефірної олії досліджували на хроматографі Agilent Technologi 6890N з мас-спектро-

метричним детектором 5973N. Умови аналізу: хроматографічна колонка кварцова, капілярна HP-5MS. Довжина колонки – 30 м. Внутрішній діаметр – 0,25 мм. 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° з програмуванням 4°/хв до 220°. Температура детектора і випарника – 250°. Компоненти ефірних олій ідентифікували за результатами порівняння отриманих у процесі хроматографування мас-спектрів хімічних речовин, які входять у досліджувані суміші, з даними бібліотеки мас-спектрів NIST02 (понад 174 000 речовин). Час утримування компонентів розраховували за результатами контрольних аналізів ефірних олій з додаванням суміші нормальних алканів (C-10–C-18).

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У результаті проведених досліджень встановлено, що в листі 3 видів горобини міститься від 0,01 до 0,02 % ефірної олії (у перерахунку на суху сировину), в якій виявлено від 26 (*S. torminalis*) до 70 (*S. aria*) компонентів, половина з яких ідентифікована (табл. 1). Вміст неідентифікованих через відсутність у базі даних бібліотеки речовин в таблиці не наводиться, але він береться до уваги при розрахунку відсоткового вмісту компонентів у зразках. Також в таблиці не наведені дані ідентифікованих речовини, які не є запашними. На рисунку 1 представлено хроматограму летких речовин ефірної олії листа *Sorbus aucuparia*, а на рисунку 2 – летких речовин хлороформного екстракту цієї сировини.

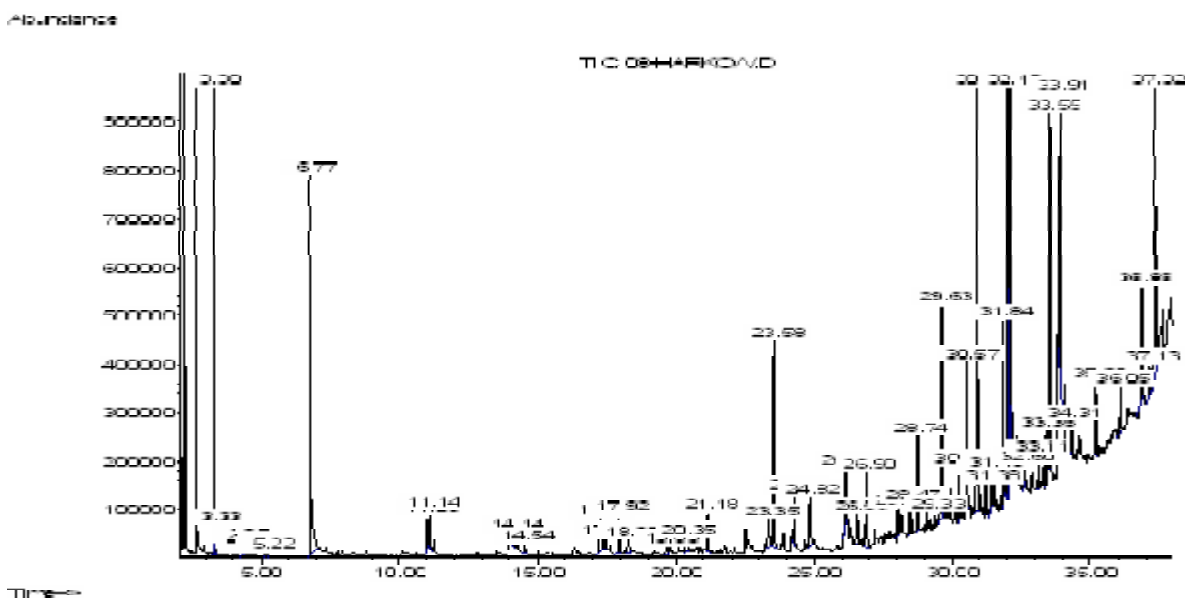


Рис. 1. Хроматограма летких речовин ефірної олії листа *Sorbus aucuparia*.

Таблиця 1 – Запашні речовини листя *Sorbus aucuparia*, *Sorbus aria* та *Sorbus torminalis*

Час утримування	Речовина	Вміст, %					
		№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
2,86	<i>транс</i> -3-пентен-2-он	–	4,22	–	–	–	–
3,05	2-пентен-1-ол	–	–	–	–	0,39	–
3,43	гексаналь	0,39	–	–	–	0,54	–
4,31	<i>транс</i> -2-гексеналь	0,33	–	–	–	3,60	0,74
4,41	<i>цис</i> -3-гексен-1-ол	0,20	–	–	0,34	1,22	1,13
4,66	гексанол	–	–	–	–	0,93	–
6,81	бензальдегід	11,14	–	0,28	–	10,13	–
7,85	<i>цис</i> , <i>транс</i> -2,4-гептадієналь	–	–	–	–	0,21	–
8,29	<i>транс</i> , <i>транс</i> -2,4-гептадієналь	–	–	–	–	0,49	–
9,32	фенілацетальдегід	–	–	0,34	–	–	–
10,16	<i>транс</i> -ліналоолоксид	–	–	0,10	–	–	–
10,68	<i>цис</i> -ліналоолоксид	–	–	0,07	–	–	–
10,97	1-нонен-4-ол	–	–	0,69	–	–	–
11,12	ліналоол	0,46	–	0,14	–	–	–
11,18	нонаналь	0,70	–	0,11	–	–	–
11,35	3-метил-4-гептанон	–	–	0,71	–	–	–
14,23	$\alpha$ -терпінеол	0,26	–	0,60	–	–	–
15,49	нерол	–	–	0,25	–	–	–
16,40	гераніол	–	–	0,64	–	–	–
17,97	ундеканаль	0,80	–	0,25	–	–	–
18,29	2,4-декадієналь	0,41	–	–	–	–	–
18,75	$\beta$ -іонон	–	–	0,30	–	–	–
19,68	ефгенол	0,24	–	–	–	–	–
20,13	1-оксиліналоол	–	0,31	–	–	–	–
21,24	додеканаль	0,92	–	0,33	–	–	–
22,60	нерилацетон	–	0,26	–	–	–	–
22,62	геранілацетон	–	–	0,44	–	–	–
23,69	$\beta$ -іонон(ізомер)	4,28	0,37	4,01	–	–	–
24,05	$\alpha$ -іонон	–	0,33	–	–	–	–
24,26	$\alpha$ -фарнезен	–	–	–	–	–	2,17
24,37	тридеканаль	0,96	–	1,80	–	–	–
24,93	5-гексил-1,3-бензодіол	–	–	2,16	–	–	–
25,07	дигідроактинідіолід	–	0,57	–	–	–	–
26,28	малиновий кетон	–	–	–	0,88	–	–
26,95	тетрадеканаль	1,35	–	0,57	–	–	–
27,16	$\alpha$ , $\beta$ -дигідро- $\beta$ -іонон	–	–	–	0,28	–	–
28,16	бузковий альдегід	–	0,33	–	–	–	–
28,79	гексадеканаль	1,66	–	2,93	–	–	–
29,50	4-((1E)-3-окси-1-пропеніл)-2-метоксифенол	–	0,46	–	2,87	–	3,36
29,95	лоліолід	–	0,25	–	2,35	–	1,78
30,24	тетрадеканаль	–	–	–	–	–	3,21
30,51	неофітадієн	–	3,02	–	2,13	–	8,31
30,61	гексагідрофарнезилацетон	1,58	0,72	2,45	–	–	0,97
30,82	неофітадієн (ізомер)	–	0,44	–	0,42	–	1,31
31,04	неофітадієн (ізомер)	–	1,15	–	0,84	–	2,86
31,51	октадеканаль	0,71	–	1,93	–	–	–
33,60	фітол	4,35	11,43	2,83	6,98	–	16,77
39,66	сквален	–	22,01	4,70	54,23	44,85	24,61

Примітка. № 1 – листя *Sorbus aucuparia*; № 2 – хлороформний екстракт листя *Sorbus aucuparia*; № 3 – листя *Sorbus aria*; № 4 – хлороформний екстракт листя *Sorbus aria*; № 5 – листя *Sorbus torminalis*; № 6 – хлороформний екстракт листя *Sorbus torminalis*.



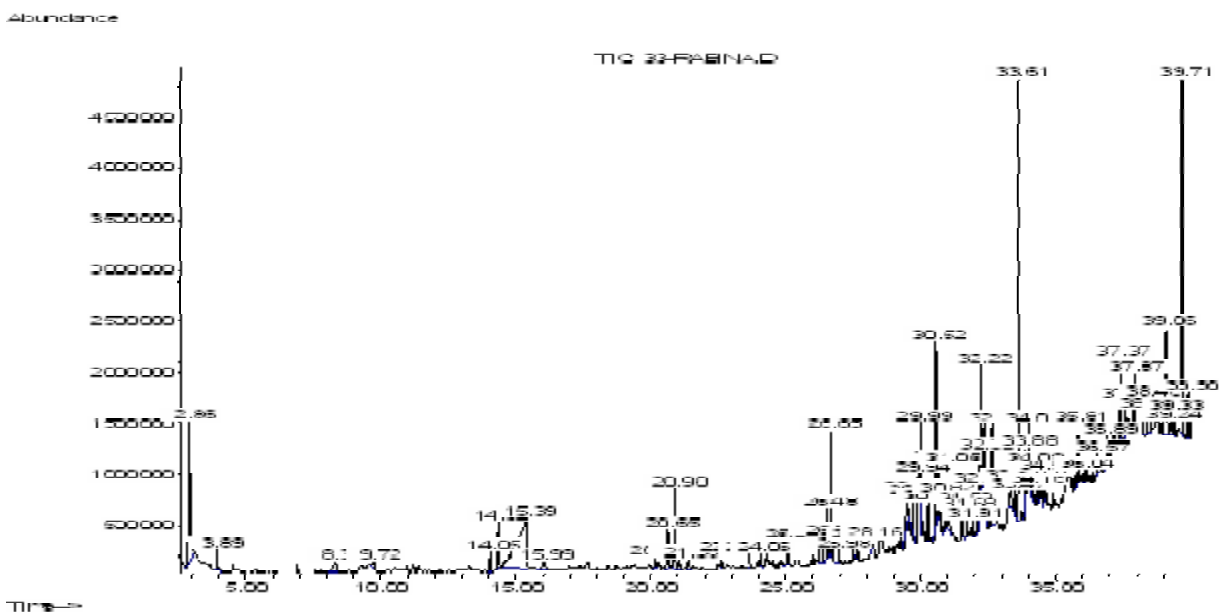


Рис. 2. Хроматограма летких речовин хлороформного екстракту листя *Sorbus aucuparia*.

З отриманих даних видно, що найбільша кількість компонентів міститься в листі горобини арії. Основними компонентами більшості зразків є тритерпен сквален, що в біосинтезі виконує функцію попередника багатьох тритерпеноїдів, і фітол, який вважають найпоширенішим у природі ізопреноїдом, оскільки він входить до складу хлорофілу. В ефірній олії 3 видів горобини спільним виявлено тільки бензальдегід, причому в листі горобини звичайної і береки його міститься 11,14 і 10,13 % відповідно, а в листі горобини арії – лише 0,28 %.

Окрім запашних речовин, в усіх зразках виявлені алкани, жирні кислоти та їх ефіри, в листі береки – ще і 5,93 %  $\beta$ -токоферолу та 0,71 % оцтової кислоти, а в хлороформному екстракті цієї сировини – 13,72 %  $\gamma$ -ситостеро-

лу, в хлороформному екстракті листя горобини звичайної – 10,67 % бензойної кислоти.

**ВИСНОВКИ.** 1. Методом хромато-мас-спектрометрії в ефірній олії та хлороформних екстрактах листя 3 видів *Sorbus L.* виявлено від 26 до 70 компонентів, основними з яких є запашні речовини бензальдегід, сквален і фітол.

2. Окрім запашних речовин, в усіх зразках виявлено алкани, жирні кислоти та їх ефіри, в листі *S. torminalis* – ще і 5,93 %  $\beta$ -токоферолу та 0,71 % оцтової кислоти, а в хлороформному екстракті цієї сировини – 13,72 %  $\gamma$ -ситостеролу, в хлороформному екстракті листя *S. aucuparia* – 10,67 % бензойної кислоти.

3. Листя *S. aucuparia*, *S. aria* та *S. torminalis* є сировиною, перспективною для подальшого дослідження.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Войткевич С.А. 865 душистых веществ для парфюмерии и бытовой химии. – М.: Пищевая промышленность, 1994. – 594 с.
2. Зузук Б.М., Куцик Р.В. Горобина птахоприваблива або звичайна (*Sorbus aucuparia L.*) (Частини I-IV) // Провізор. – 2008. – № 13-14. – С. 76-79; № 15. – С. 35-40; № 16. – С. 51-53; № 17. – С. 44-46.
3. Криворучко О.В. Горобина // У кн.: Фармацевтична енциклопедія / Голова ред. ради та автор передмови В.П. Черних. – К.: МОПІОН, 2005. – 848 с.
4. Носовская Т.Д. Лечебные свойства рябины обыкновенной // Провізор. – 2000. – № 6. – С. 37-39.

5. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Hydrangeaceae – Haloragaceae. – Л.: Наука, 1987. – 326 с.

6. Химическая энциклопедия: В 5 т. / Редкол.: И.Л. Кнунянц (Гл. ред.) и др. – М.: Сов. энцикл., 1990. – Т. 2: Даффа – Меди. – 671 с.

7. Черногород Л.Б., Виноградов Б.А. Эфирные масла некоторых видов рода *Achillea* (Asteraceae), содержащие фразанол // Растительные ресурсы. – 2006. – 42, вып. 2. – С. 61-68.

8. Hukkanen A.T., Polonen S.S., Karenlampi S.O. et al. Antioxidant capacity and phenolic content of sweet rowanberries // J. Agric. Food Chem. – 2006. – **54**. – P. 112-119.

9. Kahkonen M.P., Hopia A.I., Heinonen M. Berry Phenolics and Their Antioxidant Activity // J. Agric. Food Chem. – 2001. – **49**. – P. 4076-4082.

10. Olszewska M. Separation of quercetin, sexangularetin, kaempferol and isorhamnetin for simultaneous HPLC determination of flavonoid aglycones in inflorescences, leaves and fruits of three Sorbus species // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2008. – **48**. – P. 629-635.

**Е.В. Криворучко**

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

## **ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ДУШИСТЫХ ВЕЩЕСТВ ЛИСТЬЕВ *SORBUS AUCUPARIA*, *SORBUS ARIA* И *SORBUS TORMINALIS***

### **Резюме**

*Методом хромато-масс-спектрометрии в эфирном масле и хлороформных экстрактах листьев 3 видов рябины (*Sorbus L.*) выявлено до 70 компонентов, основными из которых являются душистые вещества бензальдегид, сквален и фитол.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** душистые вещества, эфирное масло, рябина (*Sorbus L.*).

**O.V. Krivoruchko**

NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

## **CHROMATO-MASS-SPECTROMETRY ANALYSIS FRAGRANT SUBSTANCES *SORBUS AUCUPARIA*, *SORBUS ARIA* AND *SORBUS TORMINALIS* LEAVS**

### **Summary**

*With help of chromato-mass-spectrometry method about 70 substances the essential oil and chloroformic extracts from 3 representatives of Sorbus genus have been determined. Among them such fragrant substances as benzaldehyde, squalen and phytol prevail.*

**KEY WORDS:** fragrant substances, essential oil, Mountain ash (*Sorbus L.*).

Отримано 29.12.09.

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

**КОМП'ЮТЕРНИЙ ПРОГНОЗ СПЕКТРА БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ  
ПОХІДНИХ ІМІДІВ- ТА АМІДІВ(±)КАМФОРНОЇ КИСЛОТИ**

За програмою PASS проведено комп'ютерний прогноз можливих видів біологічної активності 23 вперше синтезованих сполук у ряді похідних імідів- та амідів(±)камфорної кислоти. Встановлено, що для більшості синтезованих речовин було спрогнозовано такі види біологічної активності, як: психотропна, імуномодулююча, діуретична, анкіолітична, токолітична, фібринолітична, антиуремічна, анальгетична та ін.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** іміді(±)камфорної кислоти, аміді(±)камфорної кислоти, комп'ютерна програма прогнозу спектра біологічної активності PASS.

ВСТУП. Актуальною проблемою сучасної фармакології є пошук нових фармакологічно активних речовин.

Відомо, що камфорна кислота є практично нетоксичною речовиною. За даними літератури відомо, що похідні камфорної кислоти проявляють діуретичну, гіпоглікемічну, анальгетичну, антисептичну активності й впливають на фізіологічні рецепторні процеси [9].

На кафедрі органічної хімії під керівництвом професора І.С. Гриценко НФаУ було синтезовано 23 сполуки в ряді похідних імідів- та амідів(±)камфорної кислоти.

Структуру синтезованих речовин підтверджено за допомогою сучасних фізико-хімічних методів елементного аналізу, УФ-, ІК-, ПМР- і мас-спектрометричних методів дослідження, а чистоту синтезованих сполук контролювали методом тонкошарової хроматографії.

Останнім часом для цілеспрямованого фармакологічного скринінгу проводять комп'ютерний прогноз видів біологічної активності вперше синтезованих сполук [1, 3].

Для комп'ютерного прогнозу спектра біологічної активності похідних амідів- та імідів(±)камфорної кислоти нами використана комп'ютерна програма PASS (Computerized prediction of biological activity spectra for chemical substances) [2, 4, 5].

Комп'ютерний прогноз спектра біологічної активності дозволяє спланувати проведення фармакологічних досліджень до хімічного синтезу, що дає можливість заощадити час та кошти [8, 10].

Програма PASS обробляє оцінку "схожості/відмінності" нової сполуки відносно відомих біологічно активних субстанцій і надає потенційні види активності. Програма оперує з

широким спектром фармакологічних ефектів та механізмів дії [6, 7, 11, 12].

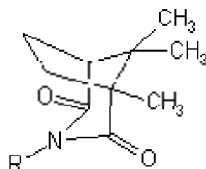
Метою даного дослідження було проведення комп'ютерного прогнозу за допомогою програми PASS 23 вперше синтезованих похідних імідів- та амідів(±)камфорної кислоти.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Об'єктом дослідження було вибрано 23 вперше синтезовані сполуки в ряді похідних імідів- та амідів(±)камфорної кислоти. Хімічні структури досліджуваних сполук введено за допомогою комп'ютерної програми "Java 6 Standard Edition" та відправлено на офіційний сайт прогнозу спектра біологічної активності PASS (<http://195.178.207.233/PASSNew/predict.php>). На підставі аналізу вірогідних видів біологічної активності нами відібрані фармакологічні активності, при яких різниця між коефіцієнтом схожості та коефіцієнтом відмінності була більшою 0,3 ( $P_a - P_i > 0,3$ ).

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Аналіз результатів комп'ютерного прогнозу за допомогою програми PASS показав, що 23 вперше синтезовані сполуки в ряді похідних імідів(±)камфорної кислоти (табл. 1) та амідів(±)камфорної кислоти (табл. 2) з найбільшою вірогідністю повинні проявляти психотропну, імуномодулюючу, діуретичну, анкіолітичну, токолітичну, фібринолітичну, антиуремічну, анальгетичну та інші види активності (табл. 3).

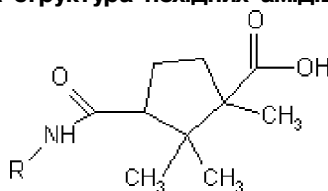
Для імідів(±)камфорної кислоти спрогнозовано їх вплив на нервову систему. Так, для сполук 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 19, 23 спрогнозовано анкіолітичну та психотропну активності. Сполуки 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 12, 13, 15, 16, 17, 19 повинні проявляти нейропротекторні властивості. Сполуки 1, 3, 6, 7, 8, 11, 13, 14, 18, 19, 20, 21, 22 конкурують з нарको-

Таблиця 1 – Хімічна структура похідних імідів(±)камфорної кислоти



Шифр	R
1	2,2-диметил-4-оксо-1,2,3,4-тетрагідрокіназолін
2	4-оксо-2-феніл-3,4-дигідрокіназолін
3	2,4-діоксо-1,2,3,4-тетрагідрокіназолін
4	4-оксо-2-стирил-3,4-дигідрокіназолін
5	2-[2-(5-бромотіеніл)-2-оксоетилтіо]-4-оксо-4Н-хіназолін
7	2-(2-гідроксифеніл-4-оксо-1,2,3,4-тетрагідрокіназолін
9	2-фурил-4-оксо-1,2,3,4-тетрагідрокіназолін
11	2-(4-нітрофеніл)-4-оксо-1,2,3,4-тетрагідрокіназолін
12	1-(2-(3-метоксифеніл)-2-оксоетил)-2,4-діоксо-1Н,3Н-хіназолін
13	1-бензил-2,4-діоксо-1Н,3Н-хіназолін-3-іл
15	2-меркапто-4-оксо-3Н-хіназолін-3-іл
16	2-(2-(3-бромфеніл)-2-оксоетилтіо)-4-оксо-3Н-хіназолін
17	2-(2-(3-нітрофеніл)-2-оксоетилтіо)-4-оксо-3Н-хіназолін
19	12-метил-спіро[1,2,3,4-тетрагідрокіназолін-2,42-піперидин]-4-он
23	бензтриазин-4-оксо

Таблиця 2 – Хімічна структура похідних амідів(±)камфорної кислоти



Шифр	R
6	2-(4-диметиламінофеніл-4-оксо-1,2,3,4-тетрагідрокіназолін)
8	спіро[1,2,3,4-тетрагідрокіназолін-2,32-індолін]-4,22-діон
10	2-(2-фурил-4-оксо-1,2,3,4-тетрагідрокіназолін)
14	2-(4-(2-гідрокси-3-метоксифеніл))-4-оксо-1,2,3,4-тетрагідрокіназолін)
18	2-метил-2-феніл-4-оксо-1,2,3,4-тетрагідрокіназолін
20	2-пентаметилен-4-оксо-1,2,3,4-тетрагідрокіназолін
21	4-оксо-3Н-хіназолін
22	бензтриазин-4-оксо

тичними засобами за опіатні рецептори клітин головного мозку та можуть бути використані при лікуванні наркоманій. Сполука 19, яка містить 1'-метил-спіро[1,2,3,4-тетрагідрокіназолін-2,4'-піперидин]-4-оновий радикал, за даними прогнозу, є антагоністом ацетилхолін M1 та GABA A рецепторів і повинна призводити до послаблення збудження нервової передачі та проявляти транквілізуючу дію. Сполука 2, яка містить 4-оксо-2-феніл-3,4-дигідрокіназоліновий радикал, пригнічує центральну нервову систему завдяки тому, що є інгібітором гістаміну, та може бути використана як протиалергічний засіб. Вона повинна проявляти імунодепресивну активність, пригнічую-

чи утворення і секрецію лімфокінів та їх зв'язування з рецепторами, і може бути використана при відторгненні трансплантата. Іміди(±)-камфорної кислоти можуть проявляти імуномодулюючу активність. Сполуки 1, 2, 3, 4, 7, 8, 11, 12, 13, 15, 19, 23 за рахунок пригнічення надходження іонів Ca<sup>2+</sup> до м'язів матки повинні проявляти токолітичну активність. Сполуки 1, 2, 3, 4, 7, 9, 12, 13, 15, 16, 17, 19 мають інактивувати автоімунні лімфоцити та можуть бути використані при лікуванні автоімунних розладів. За даними комп'ютерного прогнозу, сполуки 1, 2, 3, 4, 7, 12, 13, 15 можуть викликати ульцерогенну дію і призводити до деструкції клітин слизової шлунково-кишкового тракту.

Таблиця 3 – Аналіз комп'ютерного прогнозу можливих видів біологічної активності за програмою PASS похідних імідів- та амідів(±)камфорної кислоти (сполуки 1-23)

Види біологічної активності	№ сполуки	Інтервали	
		Pa	Pi
Анксиолітик	1,2,3,4,5,7,9,11,12,13,15,16,17,19,23	0,883-0,438	0,046-0,005
Імуномодулятор	1,2,3,4,5,7,9,11,12,13,15,16,17,19,23	0,874-0,636	0,030-0,005
Психотропна	1,2,3,4,5,7,9,11,12,13,15,16,17,19,23	0,849-0,443	0,114-0,005
Лікування опіумної залежності	1,3,6,7,8,11,13,14,18,19,20,21,22	0,610-0,494	0,190-0,081
Токолітична	1,2,3,4,7,8,11,12,13,15,19,23	0,571-0,444	0,124-0,050
Нейротрофічний фактор	1,2,3,4,5,7,9,12,13,15,16,17,19	0,529-0,438	0,095-0,013
Лікування аутоімунних розладів	1,2,3,4,7,9,12,13,15,16,17,19	0,658-0,411	0,121-0,017
Антагоніст інтегрину	6,8,10,14,18,20,21,22	0,897-0,676	0,057-0,004
Агоніст 5 гідрокситриптамін 1А	3,6,10,12,14,18,21,22	0,592-0,374	0,064-0,007
Ульцерогенна	1,2,3,4,7,12,13,15	0,546-0,412	0,032-0,015
Антиуремічна	6,8,10,14,18,21,22	0,732-0,351	0,010-0,003
Діуретична	6,10,14,18,21,22	0,628-0,399	0,027-0,005
Чоловічий контрацептив	6,7,9,10,11,14	0,448-0,373	0,032-0,015
Антагоніст дофаміну	2,3,9,13,19	0,449-0,374	0,013-0,008
Фібринолітична	6,10,11,14	0,703-0,554	0,142-0,032
Анальгетична	19,23	0,850-0,541	0,036-0,005
Антиартритна	20,22	0,556-0,510	0,054-0,037
Серцево-судиний аналептик	2,23	0,547-0,468	0,089-0,062
Антагоніст GABA A рецепторів	8,19	0,594-0,526	0,091-0,061
Антагоніст ацетилхолін М1 рецепторів	19	0,448	0,028
Антиульцерогенна	17	0,457	0,071
Аритмогенна	12	0,501	0,145
Жовчогінна	14	0,375	0,037
Інгібітор гістаміну	2	0,436	0,068
Лікування відторгнення трансплантата	2	0,513	0,117

Аміди(±)камфорної кислоти впливають на силу нервової передачі, зокрема сполуки 6, 8, 10, 14, 18, 20, 21, 22 уповільнюють та послаблюють її за рахунок пригнічення інтегрину. Всі аміди(±)камфорної кислоти проявляють діуретичну та антиуремічну активності. Сполуки 3, 6, 10, 12, 14, 18, 21, 22 є агоністами 5 гідрокситриптаміну 1А (гістаміну), що можна використовувати при лікуванні мігрені, але разом ці сполуки викликають ряд побічних ефектів, таких, як набряки, нудота і блювання. Сполуки 6, 10, 11, 14 повинні проявляти фібринолітичну дію. Сполуки 19 та 23, які містять 1'-метилспіро[1,2,3,4-тетрагідрохіназолін-2,4'-піперидин]-4-оновий та бензтриазин-4-оновий радикали відповідно, повинні мати анальгетичну активність. Сполука 17, яка містить 2-(2-(3-нітрофеніл-2-оксоетил)тіо)-4-оксо-3Н-хіназолін-3-іловий радикал, найімовірніше, проявляє антиульцерогенну активність. Сполука 12, яка містить 1-(2-(3-метоксифеніл)-2-оксоетил)-2,4-діоксо-1Н,3Н-хіназолін-3-іловий радикал, повинна проявляти аритмогенну активність.

Таким чином, більшість похідних імідів- та амідів(±)камфорної кислоти повинна впливати

на нервову систему та швидкість передачі нервових імпульсів, переважно пригнічуючи її, проявляючи психотропну та анксиолітичну активності. Також для більшості речовин характерні імуномодулююча, діуретична, антиуремічна, токолітична, анальгетична, протизапальна та інші види активності. Похідні імідів- та амідів(±)камфорної кислоти, згідно з комп'ютерним прогнозом, є групою органічних сполук, перспективною для проведення фармакологічного скринінгу з метою створення на їх основі ефективних препаратів.

**ВИСНОВКИ.** 1. Для більшості похідних імідів- та амідів(±)камфорної кислоти спрогнозовано такий спектр біологічної активності: психотропна, імуномодулююча, діуретична, анксиолітична, токолітична, фібринолітична, антиуремічна, анальгетична та ін.

2. Похідні імідів- та амідів(±)камфорної кислоти є групою органічних сполук, перспективною для проведення фармакологічного скринінгу з метою створення на їх основі ефективних препаратів.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Лагунин А.А., Филимонов Д.А., Пороиков В.В. Компьютерный поиск потенциальных антигипертензивных соединений комбинированного действия // Хим.-фарм. журн. – 2001. – 35 (7). – С. 28-34.
2. Пороиков В.В. Компьютерное предсказание биологической активности веществ: пределы возможного // Химия в России. – 1999. – № 2. – С. 8-12.
3. Пороиков В.В., Филимонов Д.А. Компьютерный прогноз биологической активности химических соединений как основа для поиска и оптимизации базовых структур новых лекарств // В сб.: Азотистые гетероциклы и алкалоиды. – М.: Иридиум-пресс, 2001. – Т. 1. – С. 123-129.
4. Anzali S., Barnickel G., Cezanne B. et al. Discriminating between drugs and nondrugs by Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS) // J. Med. Chem. – 2001. – 4 (15). – P. 2432-2437.
5. CTfile Formats. MDL (<http://www.mdl.com/downloads/literature/ctfile.pdf>).
6. Filimonov D.A., Poroikov V.V. PASS: Computerized prediction of biological activity spectra for chemical substances // Design of Bioactive Compounds. – Oxford: BIOS Scientific Publishers, 1996. – P. 47-56.
7. Filimonov D., Poroikov V., Borodina Yu., Glorizova T. Chemical similarity assessment through multilevel neighborhoods of atoms: definition and comparison with the other descriptors // J. Chem. Inf. Comput. Sci. – 1999. – 39 (4). – P. 666-670.
8. Lagunin A., Stepanchikova A., Filimonov D., Poroikov V. PASS: prediction of activity spectra for biologically active substances // Bioinformatics. – 2000. – 16 (8). – P. 747-748.
9. Negwer M. Organic chemical drugs and their synonyms. – Berlin: Akademie-Verlag, 1987. – 1-3. – 2469 p.
10. Poroikov V., Akimov D., Shabelnikova E., Filimonov D. Top 200 medicines: can new actions be discovered through computer-aided prediction? // SAR and QSAR in Environmental Research. – 2001. – 12 (4). – P. 327-344.
11. Poroikov V., Filimonov D. Computer-aided prediction of biological activity spectra. Application for finding and optimization of new leads // Rational Approaches to Drug Design, Eds. H.-D. Holtje, W. Sippl, Prous Science, Barcelona, 2001. – P. 403-407.
12. Poroikov V.V., Filimonov D.A., Borodina Yu.V. et al. Robustness of biological activity spectra predicting by computer program PASS for non-congeneric sets of chemical compounds // J. Chem. Inform. Comput. Sci. – 2000. – 40 (6). – P. 1349-1355.

**Б.А. Самура, В.А. Николаев, И.В. Сенюк, Е.А. Цапко**  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

### КОМПЬЮТЕРНЫЙ ПРОГНОЗ СПЕКТРА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ ИМИДОВ- И АМИДОВ(±)КАМФОРНОЙ КИСЛОТЫ

#### Резюме

По программе PASS проведен компьютерный прогноз возможных видов биологической активности 23 впервые синтезированных соединений в ряду производных иминов- и амидов(±)камфорной кислоты. Установлено, что для большинства синтезированных веществ были прогнозированы такие виды биологической активности, как: психотропная, иммуномодулирующая, диуретическая, анксиолитическая, токолитическая, фибринолитическая, антиуремическая, анальгетическая и др.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: иминов(±)камфорной кислоты, амиды(±)камфорной кислоты, компьютерная программа прогноза спектра биологической активности PASS.

**B.A. Samura, V.O. Nikolaev, I.V. Senuk, Ye.O. Tsapko**  
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

### COMPUTER PROGNOSIS OF POSSIBLE TYPES OF BIOLOGICAL ACTIVITY ON PROGRAM PASS DERIVATES OF IMIDES AND AMIDES OF (±)CAMPHORIC ACID

#### Summary

The computer prognosis of possible types of biological activity is conducted on the program PASS of 23 the first synthesized connections in the row of derivatives of imides and amides camphoric acid. It is set that for the most synthesized matters forecast following types of biological activity: psychotropic, immunomodulatory, diuretic, anxiolytic, tokolytic, fibrinolytic, antiuremic, analgetic and other types of activity.

KEY WORDS: imides of (±)camphoric acid, amides of (±)camphoric acid, computer program of prognosis of biological activity of spectrum PASS.

Отримано 18.06.09

Адреса для листування: В.О. Николаев, просп. Перемоги, 74-В, кв. 47, Харків, 61204, Україна.

## ЗМІНА ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ТА УЛЬТРАСТРУКТУРИ НИРОК ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ КРІОГЕННОМУ УРАЖЕННІ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ

*За умов експериментального кріогенного ураження підшлункової залози проведено біохімічні дослідження крові та електронно-мікроскопічні дослідження нирок білих щурів. Зростання концентрації креатиніну та сечовини в крові піддослідних тварин після змодельованого ураження свідчить про порушення функціонального стану нирок. Встановлено, що при первинному ураженні підшлункової залози відбуваються суттєва активізація процесів вільнорадикального окиснення, підвищене накопичення в крові токсичних продуктів перекисного окиснення ліпідів, що призводить до генералізації патологічного процесу. Встановлені значні деструктивні зміни фільтраційного бар'єру, проксимального та дистального відділів нефрону свідчать про порушення сечоутворення (фільтрація, реабсорбція).*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** експериментальне кріогенне ураження підшлункової залози, нирка, нефрон.

**ВСТУП.** Запальні захворювання органів панкреатогепатодуоденальної ділянки належать до найпоширеніших патологій. Від них страждає кожен четвертий житель нашої планети, що робить їх надзвичайно важливою та актуальною медико-біологічною і соціальною проблемою [1, 2]. В останні роки спостерігається значний інтерес морфологів та клініцистів до проблем пошкоджень підшлункової залози. Проведений нами аналіз наукової літератури свідчить про те, що анатомічний та функціональний зв'язок органів травлення зумовлює розвиток системних уражень [1, 2, 4]. Досліджено, що серед можливих механізмів ураження нирок провідну роль відіграють токсична дія надлишку панкреатичних протеаз, нефротоксичний вплив продуктів протеолізу, а також ряду вивільнених внутрішньоклітинних ферментів. Ураження даними чинниками стосується не тільки нирок, воно призводить до вторинного ішемічного пошкодження нирок і виникнення гострої ниркової недостатності.

У відомій літературі зустрічається порівняно мало робіт, присвячених комплексному вивченню одночасно всіх компонентів фільтраційного та реабсорбційного бар'єрів у нормі й при дії на них екстремальних факторів. З огляду на це, актуальним є комплексне вивчення функціонального стану та змін структурних компонентів нирки за умов змодельованого гострого панкреатиту. Дослідження стану всіх

компонентів нефрону та перебігу метаболічних процесів допоможуть обґрунтувати патоморфогенез патологій нирки при первинних ураженнях підшлункової залози.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Дослідження проведено на білих щурах лінії Вістар масою 160-165 г, яких утримували в умовах віварію на стандартному раціоні. Всі дослідження виконано з дотриманням Науково-практичних рекомендацій з утримання лабораторних тварин та роботи з ними (Київ, 2002) [5]. Тварин виводили з експерименту на 2 та 7 доби від початку моделювання патологічного процесу. Експериментальне ураження підшлункової залози в білих щурах (20 тварин) моделювали шляхом локального заморожування обох її поверхонь хлоретилом згідно з методикою С.О. Шалімова (1989). Контрольним тваринам (10 щурів) проводили ідентичну лапаротомію. Через 2 та 7 діб з моменту кріогенного ураження підшлункової залози тварин виводили з експерименту шляхом кровопускання за умов тіопентал-натрієвого знеболювання. Забір матеріалу для електронно-мікроскопічного дослідження нирки здійснювали відповідно до загальноприйнятої методики. Для дослідження вибирали шматочки із середньої частини кіркової речовини нирки, обробляли для подальшого електронно-мікроскопічного дослідження за загальноприйнятою схемою (В.Я. Карупу, 1984). Ультратонкі зрізи виготовляли на ультрамікроскопі УМТП-7. Зрізи контра-

стували уранілацетатом згідно з M.L. Watson [1968] і цитратом свинцю згідно з E.S. Reynolds [1963], вивчали та фотографували в електронному мікроскопі EM-125K.

Стан функціональної активності нирок оцінювали, досліджуючи динаміку зміни концентрації креатиніну та сечовини в крові піддослідних тварин. Вміст креатиніну в сироватці крові визначали за реакцією Яффе (метод Поппера), сечовини – за кольоровою реакцією з діацетилмоноксидом, рівні малонового діальдегіду (МДА), дієнових кон'югатів (ДК), аспартат- та аланінамінотрансфераз (АлАТ та АсАТ) – за загальноприйнятими методиками.

Отримані цифрові величини обробляли статистично, достовірність різниці між досліджуваними показниками визначали за Стьюдентом.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Біохімічні дослідження, проведені після кріодеструкції підшлункової залози, показали збільшення рівня амілази в сироватці крові піддослідних тварин, що засвідчило розвиток гострого панкреатиту в них. При цьому виявлено суттєве підвищення концентрацій трансаміназ, що вказувало на порушення функціональної активності печінки, інтенсивне пошкодження гепатоцитів при первинному кріогенному ураженні підшлункової залози.

Визначення вмісту креатиніну та сечовини в крові має важливе значення для оцінки фільтраційної здатності нирок. Проте, незважаючи на те, що визначення цих речовин використовують для оцінки функціонального стану нирок, фізіологія даних сполук дуже відрізняється – рівень сечовини в крові реагує навіть на незначні функціональні зміни нирок, а рівень креатиніну може довше залишатися в нормі. Його концентрація збільшується лише тоді, коли вичерпані функціональні резерви органа [3, 6].

Проведені визначення рівня сечовини в крові піддослідних тварин після змодельованого гострого панкреатиту показали достовірне зростання цього показника у різні терміни експерименту. Встановлено, що концентрація сечовини в крові на 2 та 7 доби досліджування дорівнює  $(3,57 \pm 0,09)$  та  $(3,954 \pm 0,15)$  ммоль/л при значенні контрольного показника  $(2,828 \pm 0,072)$  ммоль/л.

Визначення концентрації креатиніну в крові піддослідних тварин показали достовірне зростання її після змодельованого панкреатиту – до  $(102,0 \pm 2,7)$  і  $(127,8 \pm 8,5)$  мкмоль/л (значення контролю –  $(60,40 \pm 1,90)$  мкмоль/л).

Отримані результати біохімічних досліджень свідчать про порушення фільтраційної здатності нирок, що підтверджується морфологічними дослідженнями. Суттєве зростання вмісту МДА та ДК протягом усього експерименту вказує на те, що за даних умов активізуються процеси вільнорадикального окиснення, що призводить до нагромадження ендогенних токсичних продуктів ПОЛ. Останнє зумовлює розвиток токсемії, що викликає генералізацію патологічного процесу та його поширення за межі первинно ураженого органа.

Субмікроскопічні дослідження нирок показали, що в кірковій речовині органа значно змінені й пошкоджені всі структури нефрону: потовщена базальна мембрана, яка втрачає тришарову будову і стає безструктурною, в набряклих ендотеліоцитах кровоносних капілярів клубочків гірше виявляються фенестри. В цитоплазмі ендотеліальних клітин мало органел і вони деструктивно змінені. Цитоподії подоцитів або потовщуються, або видовжуються і стоншуються, відмічається їх злиття між собою. В епітеліальних клітинах найбільш чутливими є такі органели, як ендоплазматична сітка, комплекс Гольджі та мітохондрії, що належать до органел, в яких відбуваються найважливіші метаболічні процеси, тому їх порушення впливають на ультраструктуру. Зміни в канальцевій частині нефрону виражені більше, ніж у клубочковій. Ступінь ураження і протяжність змінених ділянок неоднакові в різних відділах канальців, що вказує на асинхронне втягнення їх у патологічний процес. Очевидно, такий розвиток патологічних порушень залежить від морфофункціональних особливостей різних відділів нефрону, характеру їх метаболізму, чутливості до змінених умов, послідовності включення запасних резервних нефронів у компенсаторно-приспосувальні реакції, а також інших факторів, які призводять до асинхронної відповіді структур нирки на патологічні подразники. Глибина і поширеність пошкодження залежать від морфофункціональної спеціалізації епітелію різних відділів нефрону, і більш зміненими є проксимальні відділи як найспеціалізованіші та функціонально напружені ділянки канальцевої системи.

**ВИСНОВКИ.** Встановлено, що при первинному ураженні підшлункової залози відбуваються суттєва активізація процесів вільнорадикального окиснення, підвищене накопичення в крові токсичних продуктів переокиснення ліпідів, що призводить до розвитку токсемії та, як наслідок, до генералізації



патологічного процесу, що сприяє поглибленню деструктивних змін структурних компонентів нирки. Встановлені пристосувально-компенсаторні, деструктивні процеси структурних ком-

понентів нирки при експериментальних ураженнях підшлункової залози можуть бути враховані при розробці методів профілактики та корекції порушень видільної системи.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Березницький Я.С., Яльченко Н.А., Кутовий М.О. Стандартизація та уніфікація підходів до діагностики та лікування гострого панкреатиту // Шпитальна хірургія. – 2004. – № 4. – С. 200-204.

2. Гостищев В.К., Федоровский Н.М., Глушко В.А. Деструктивный панкреатит (основные принципы комплексной терапии) // Анналы хирургии. – 1997. – № 4. – С. 60-65.

3. Губергриц Н.Б., Линецкий Ю.В., Лукашевич Г.М., Загоренко Ю.А. Практические возможности повышения диагностического значения традиционных лабораторных тестов при хроническом рецидивирующем панкреатите // Сучасна гастроентерологія. – 2002. – № 1 (7). – С. 28-32.

4. Каримов Х.Я., Муродулло Х.У. Динамика морфологических изменений в тканях поджелудочной железы, печени и слизистой оболочки тонкой кишки при остром панкреатите // Лік. справа. – 2002. – № 1. – С. 105-106.

5. Кожем'якін Ю.М., Хромов О.С., Філоненко М.А., Сайфетдінова Г.А. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. – К.: Авіцена, 2002. – 156 с.

6. Луговой А.О., Заринская С.А., Владимиров В.Г. и др. Моделирование острого деструктивного панкреатита в эксперименте // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2003. – 2, № 2. – С. 75-77.

**С.И. Яворская**

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

### ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ И УЛЬТРАСТРУКТУРЫ ПОЧЕК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ КРИОГЕННОМ ПОРАЖЕНИИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

#### Резюме

*В условиях экспериментального криогенного поражения поджелудочной железы проводили биохимические исследования крови и электронно-микроскопические исследования почек белых крыс. Возрастные концентрации креатинина и мочевины в крови подопытных животных после смоделированного поражения свидетельствует о нарушении функционального состояния почек. Биохимически установлено, что при первичном поражении поджелудочной железы происходят существенная активизация процессов свободнорадикального окисления, повышенное накопление в крови токсических продуктов перекисного окисления липидов, что приводит к генерализации патологического процесса. Установленные значительные деструктивные изменения фильтрационного барьера, проксимального и дистального отделов нефрона свидетельствуют о нарушении мочеобразования (фильтрация, реабсорбция).*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** экспериментальное криогенное поражение поджелудочной железы, почка, нефрон.

**S.I. Yavorska**

I.YA. HORBACHEVSKY TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

### CHANGES OF THE FUNCTIONAL STATE AND ULTRAMICROSTRUCTURE OF KIDNEYS AT THE EXPERIMENTAL CRIOGENIC DAMAGE OF PANCREAS

#### Summary

*At the experimental damage of pancreas were performed biochemical investigation of blood and ultramicroscopic study of changes in a kidneys. Increase of creatinine and urea level in blood of experimental animals testifies about disorders of the functional state of kidneys. It was biochemically determined, that at the primary damage of pancreas takes place an activation of free-radical oxidation processes that promotes accumulation of toxic products of oxidation in blood, that results in a development of pathological processes. It were established destructive changes of filtration barrier, proximal and distal departments of nephron, that cause disorders of urine formation (filtration, reabsorption).*

**KEY WORDS:** experimental criogenic damage of pancreas, kidney, nephron.

Отримано 17.05.10

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

АНТИЛІПОКСИГЕНАЗНИЙ КОМПОНЕНТ У МЕХАНІЗМІ  
ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ ДІЇ МІГРЕПІНУ

Наведено результати експериментального вивчення впливу мігрепіну (12,5 мг/кг одноразово внутрішньошлунково) і препаратів порівняння на рівень лейкотриєну  $V_4$  (ЛТВ<sub>4</sub>) в досліджуваних об'єктах. Дослідження проведено на 36 щурах лінії WAG масою 180-220 г обох статей (по 6 тварин у кожній групі) на моделі "зимозанового набряку". Рівень ЛТВ<sub>4</sub> визначали в сироватці крові, гомогенатах слизової оболонки шлунка і тканинах головного мозку імуноферментним методом. Встановлено, що мігрепін пригнічує утворення ЛТВ<sub>4</sub> в досліджуваних об'єктах. Тому вважаємо, що в механізмі дії мігрепіну має місце антиліпоксигеназний компонент.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: протизапальна дія, зимозановий набряк, ліпоксигеназа, мігрепін, лейкотриєни.

ВСТУП. В основі розвитку більшості захворювань різної етіології лежить запалення, яке являє собою складну реакцію організму на зовнішнє та внутрішнє ураження [2, 6-10, 12, 13]. Дія пошкоджувального фактора будь-якої етіології призводить до змін, в результаті яких із фосфоліпідів клітинних мембран вивільнюються поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК). Фермент фосфоліпаза  $A_2$  сприяє виділенню з ПНЖК арахідонової кислоти, яка є попередником ейкозаноїдів – біологічно активних речовин ліпідної природи. Основний механізм розвитку запалення полягає у перетворенні арахідонової кислоти. Її метаболізм може відбуватись двома шляхами – ліпоксигеназним і циклооксигеназним, при цьому утворюються біохімічні сполуки, що відрізняються як за хімічною структурою, так і за фізіологічною дією [11, 14-18].

Метаболізм арахідонової кислоти з участю ферменту 5-ліпоксигенази призводить до утворення лейкотриєнів (ЛТ). Першими в разі ліпоксигеназної реакції утворюються ЛТА<sub>4</sub> – нестабільні сполуки з періодом напіврозпаду 3-5 хв. Подальший їх метаболізм призводить до утворення дигідроксиейкозотетраєнової кислоти – ЛТВ<sub>4</sub> або ЛТ С<sub>4</sub>, Д<sub>4</sub>, Е<sub>4</sub>, які за хімічною будовою являють собою ліпідопептиди.

Джерелом утворення ЛТВ<sub>4</sub> є лейкоцити, які у великій кількості знаходяться у вогнищі запалення (нейтрофіли, еозинофіли). Ці ЛТ являють собою високоактивні медіатори запалення локальної дії, які викликають накопичення лейкоцитів, порушення мікроциркуляції та зростання проникності судин у вогнищі запалення. Окрім ексудативної дії, ЛТВ<sub>4</sub> проявляють суттєву агрегаційну та хемотоксичну активність. Встановлено також, що арахідонова кислота і ЛТВ<sub>4</sub> підсилюють вихід лізоциму з лейкоцитів.

Новий вітчизняний лікарський засіб "Мігрепін" (МГП) було вивчено нами раніше. Встановлено, що він проявляє антиексудативну протизапальну активність на моделі "формалінового набряку" [1].

Метою роботи було визначити можливість антиліпоксигеназного компонента в механізмі антиексудативної дії МГП.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для визначення антиліпоксигеназного компонента в механізмі антиексудативної дії МГП використано модель асептичного ексудативного зимозанового запалення в щурів. Зимозан сприяє утворенню і виділенню ЛТ, тому провокує локальну гостру запальну реакцію. Його вводили субплантарно з розрахунку 0,1 мл на тварину у вигляді 2 % суспензії (Sigma).

Досліди проведено на 36 щурах лінії WAG масою 180-220 г, яких було поділено на 6 груп по 6 тварин у кожній: 1-ша група (інтактний контроль) – тварини, які одержували 3 % крохмальний слиз (2 мл на 200 г); 2-га (група "запалення") – неліковані тварини, які також отримували 3 % крохмальний слиз у тому ж об'ємі, але за умов зимозанового набряку; 3-тя – тварини, які одержували МГП у дозі

12,5 мг/кг; 4-6 – тварини, які отримували препарати порівняння: нордигідрогваяретову кислоту (НДГК) у дозі 400 мг/кг [3] (4-та група), інгібітор ліпази дексаметазон у дозі 0,06 мг/кг (дозу перераховано за допомогою коефіцієнта видової стійкості Ю.Р. Риболовлева, виходячи з доз для людини) [5] (5-та), диклофенак-натрію (D-Na) у дозі 8 мг/кг [3] (6-та). Усім щурам дослідні препарати було введено внутрішньошлунково одноразово у вигляді 0,01-1 % завису на 3 % крохмальному слизу.

Вміст ЛТВ<sub>4</sub> у сироватці крові, гомогенатах слизової оболонки шлунка та головного мозку визначали імуноферментним методом за допомогою комерційного набору виробництва фірми "NEOGEN" (США/Канада) на імуноферментному аналізаторі "Лаблайн-90" (Австрія). Для гомогенізації тканин використовували 96 % етиловий спирт (1 частина тканини на 5 частин етилового спирту).

Усі дослідні виконано відповідно до існуючих рекомендацій [3]. Щурів утримували в умовах віварію згідно з правилами гуманного ставлення до лабораторних тварин. Усі втручання проводили з дотриманням принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) та ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2007).

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням загальноприйнятих методів [5].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** В інтактних щурів вміст ЛТВ<sub>4</sub> складав у слизовій оболонці шлунка (0,30±0,02) нг/мг, в головному мозку – (0,60±0,04) нг/мг, в сироватці крові – (1,40±0,22) нг/мг (рис. 1).

Розвиток запалення, яке викликали шляхом застосування зимозану, супроводжувався багатократним (у 3-6 разів) підвищенням рівня ЛТВ<sub>4</sub> порівняно з інтактними щурами. У сироватці крові це підвищення досягало 654 %, у слизовій оболонці шлунка – 297 %, у тканинах головного мозку – 603 %. Рівень ЛТВ<sub>4</sub> складав, відповідно, (9,15±1,06), (0,89±0,07), (3,62±0,41) нг/м у досліджуваних об'єктах.

МГП викликав вірогідне зниження рівня ЛТВ<sub>4</sub> в усіх тканинах, які досліджували. І хоча показники в цій групі суттєво перевищували параметри в інтактних тварин, вони були вірогідно статистично нижчими, ніж у групі "запалення". Так, у сироватці крові й тканинах головного мозку рівень ЛТВ<sub>4</sub> був меншим, ніж у групі "запалення", у 2,5 раза, а в слизовій оболонці шлунка – у 2 рази. Вміст ЛТВ<sub>4</sub> складав у

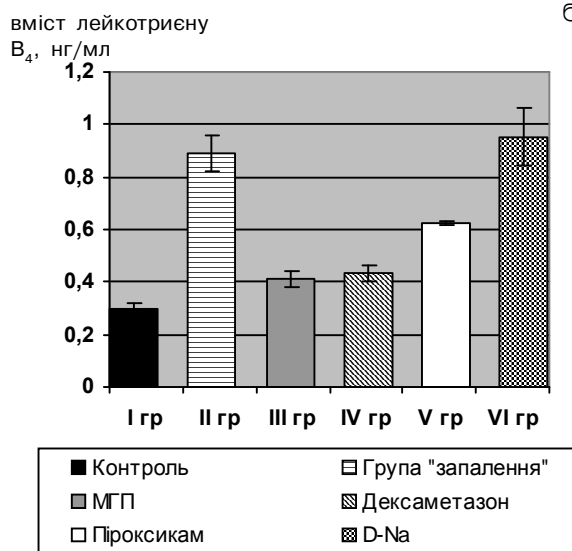
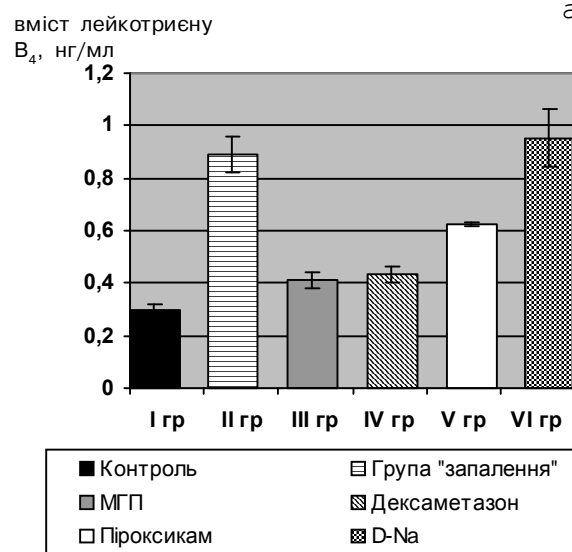
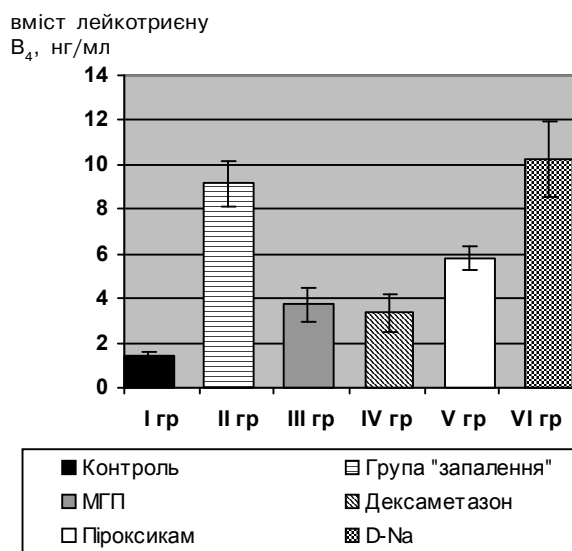


Рис. 1. Вміст лейкотриєнів В<sub>4</sub> у сироватці крові (а), слизовій оболонці шлунка (б) і головному мозку (в) при застосуванні мігреліну та препаратів порівняння за умов зимозанового набряку.

сироватці крові ( $3,71 \pm 0,74$ ) нг/мл, у слизовій оболонці шлунка – ( $0,41 \pm 0,03$ ) нг/мг, а в головному мозку – ( $1,47 \pm 0,07$ ) нг/мг.

Аналогічними з групою МГП були й показники вмісту ЛТВ<sub>4</sub> у щурів, яким вводили НДГК. Остання пригнічує активність 5-ліпоксигенази та утворення ЛТ. У тварин цієї групи спостерігалось 2-2,5-кратне зниження показників порівняно з групою “запалення”. Вміст ЛТВ<sub>4</sub> складав у сироватці крові ( $3,35 \pm 0,86$ ) нг/мл, у слизовій оболонці шлунка – ( $0,43 \pm 0,03$ ) нг/мг, а в головному мозку – ( $1,26 \pm 0,11$ ) нг/мг.

Використання дексаметазону також пригнічувало перетворення арахідонової кислоти в ЛТВ<sub>4</sub>, хоча ефективність застосування цього препарату була вірогідно нижчою, ніж у групах, де використовували МГП і НДГК. Вміст ЛТВ<sub>4</sub> складав у сироватці крові ( $5,81 \pm 0,55$ ) нг/мл, у слизовій оболонці шлунка – ( $0,62 \pm 0,01$ ) нг/мг, а в головному мозку – ( $2,53 \pm 0,24$ ) нг/мг.

Незважаючи на те, що рівень ЛТВ<sub>4</sub> у групах, де використовували МГП та НДГК, залишався вірогідно вищим норми (в середньому на 165 та 139 % відповідно), він був найнижчим з усіх дослідних груп. Це свідчило про те, що МГП пригнічував ліпоксигеназний шлях перебудови арахідонової кислоти і, таким чином, суттєво знижував утворення ЛТВ<sub>4</sub> в тканинах організму при розвитку запалення (рис. 1).

Використання D-Na не призводило до сповільнення продукування ЛТВ<sub>4</sub>. Навпаки, його введення викликало суттєве підвищення утворення даного медіатора запалення в тканинах та значне його накопичення в сироватці крові. Вміст ЛТВ<sub>4</sub> складав у сироватці крові ( $10,26 \pm 1,68$ ) нг/мл, у слизовій оболонці шлунка – ( $0,95 \pm 0,11$ ) нг/мг, а в головному мозку – ( $3,84 \pm 0,64$ ) нг/мг. Як відомо, ліпоксигеназна та циклооксигеназна системи перебудови арахідонової кислоти перебувають у конкурентній взаємодії, що впливає на рівень кінце-

вих продуктів метаболізму. D-Na – НПЗЗ, який реалізує свою антизапальну дію, блокуючи саме циклооксигеназний шлях розвитку запалення, тобто інгібуючи продукування ЦОГ. У результаті цього знижується синтез простагландинів, простацикліну й тромбоксанів, але ліпоксигеназна система окиснення арахідонової кислоти не підлягає яким-небудь порушенням і, як наслідок, незмінним залишається синтез ЛТ, зокрема ЛТВ<sub>4</sub>. Це може призводити до посиленого його утворення в тканинах, а особливо у вогнищі запалення, що зумовлює його надмірне накопичення в крові.

На відміну від D-Na, препарат “Мігрепін” спричиняв блокуючу дію на ліпоксигеназний шлях розвитку запалення та, як і НДГК, суттєво пригнічував синтез ЛТВ<sub>4</sub> шляхом інактивації 5-ліпоксигенази.

Таким чином, отримані результати показали, що розвиток запалення, спричиненого зимозаном, призводив до 3-6-кратного підвищення продукування ЛТВ<sub>4</sub> в досліджуваних тканинах. Найбільшу пригнічувальну дію на утворення ЛТВ<sub>4</sub> проявляли МГП та НДГК. Обидва засоби у 2-2,5 рази знижували рівень ЛТВ<sub>4</sub> в досліджуваних тканинах порівняно з групою без лікування. Ці препарати пригнічували продукування ЛТВ<sub>4</sub> нейтрофілами та еозинофілами, завдяки чому, напевне, пригнічувався й ексудативний компонент гострої запальної реакції.

**ВИСНОВКИ.** 1. Одним із механізмів антиексудативної дії мігрепіну є його здатність пригнічувати ліпоксигеназний шлях утворення медіаторів запалення.

2. Мігрепін (12,5 мг/кг одноразово внутрішньошлунково) у сироватці крові, слизовій оболонці шлунка, головному мозку пригнічує утворення ЛТВ<sub>4</sub> на рівні нордигідрогваяретової кислоти, що значно більше порівняно з дексаметазоном і диклофенаком-натрієм.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вивчення специфічної активності нової комбінації похідного 2,4-дихлорбензойної кислоти, кофеїну та карбамазепіну в експерименті // [Т.В. Звягінцева, Л.Т. Киричок, Г.О. Сирова та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2008. – № 1. – С. 102-105.
2. Дзяк Г.В. Нестероидные противовоспалительные препараты / Г.В. Дзяк, А.П. Викторов, Е.И. Гришина. – К. : Морион, 1999. – 122 с.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рекомендації / за ред. О.В. Стефанова. – К., 2001. – 527 с.
4. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике : в 2 т. /

В.С. Камышников. – Минск : Беларусь, 2000. – Т. 1. – 495 с.

5. Медико-биологическая статистика / под ред. С. Гланц ; пер. с англ. – М. : Практика, 1998. – 459 с.

6. Шварц Г.Я. Современные нестероидные противовоспалительные средства / Г.Я. Шварц. – М. : Реафарм, 2002. – 40 с.

7. Щокіна К.Г. Порівняння протиексудативної дії сучасних нестероїдних протизапальних засобів / К.Г. Щокіна, С.М. Дрогозов, Ю.Н. Максимов // Ліки. – 2004. – № 3-4. – С. 34-40.

8. Brun J. Nonsteroidal anti-inflammatory drug-associated dyspepsia the scale of the problem / J. Brun,

R. Jones // Am. J. Med. – 2001. – **110** (1A). – P. 12-13.

9. Catella-Lawson F. Effects of specific inhibition of cyclooxygenase 2 on sodium balance thermodynamics and vasoactive eicosanoids / F. Catella-Lawson // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 1999. – № 289. – P. 735-741.

10. Feuba D.A. Gastrointestinal safety and tolerability of non selective nonsteroidal antiinflammatory agents and cyclooxygenase 2 selective inhibitors / D.A. Feuba // Cleveland Clinic. J. Med. – 2002. – **69** (Suppl. 10). – P. 31-39.

11. Hawkey C.J. Nonsteroidal antiinflammatory drugs: overall risk and management. Complementary roles for COX-2 inhibitors and proton pump inhibitors / C.J. Hawkey, M.J. Langman // Gut. – 2003. – **52**. – P. 600-808.

12. Inutero exposure to nonsteroidal antiinflammatory drugs: neonatal renal failure / [D. Benin, V. Fanos, L. Cuzzolin et al.] // Pediatr. Nephrol. – 2003. – № 25. – P. 211-245.

13. Jannedohloand E-L. Coxibs and the repating of reporting reactions / E-L. Jannedohloand, Q-Y. Yue // Medical Products Agency. – 2000. – № 11. – P. 74-77.

14. Kolaczowska E. Cyclooxygenases I. Nonsteriodae antiinflammatory drugs as ther inhibitor E. Kolaczowska // Cell Biology. – 2002. – № 29. – P. 555-578.

15. Kolaczowska E. Cyclooxygenases I. Role in intlammmation / E. Kolaczowska // Cell Biology. – 2002. – № 29. – P. 533-554.

16. Vane J.R. Cyclooxygenases I and II / J.R. Vane, Y.S. Bakhle, R.M. Botting // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. – 1998. – № 38. – P. 97-120.

17. Warner T.D. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors. and lessons from the clinic / T.D. Warner, J.A. Mitchell // FASEB J. – 2004. – **18** (7). – P. 790-804.

18. Weir M.R. Renal effects of nonselective NSAIDs and coxibs // Cleveland Clin J Med. – 2002. – **69** (Suppl. 1). – P. 53-58.

**Т.В. Звягинцева, А.О. Сырвая, Л.П. Абрамова, Т.И. Ермоленко**  
ХАРЬКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

## АНТИЛИПОКСИГЕНАЗНЫЙ КОМПОНЕНТ В МЕХАНИЗМЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ МИГРЕПИНА

### Резюме

Приведены результаты экспериментального изучения влияния мигрепина (12,5 мг/кг однократно внутривнутрижелудочно) и препаратов сравнения на уровень лейкотриена  $B_4$  (ЛТВ<sub>4</sub>) в исследуемых объектах. Исследование проведено на 36 крысах линии WAG массой 180-220 г обоего пола (по 6 животных в каждой группе) на модели "зимозанового отека". Уровень ЛТВ<sub>4</sub> определяли в сыворотке крови, гомогенатах слизистой оболочки желудка, тканях головного мозга иммуноферментным методом. Установлено, что мигрепин угнетает образование ЛТВ<sub>4</sub> в исследуемых объектах. Поэтому считаем, что в механизме действия мигрепина имеет место антилипоксигеназный компонент.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **противовоспалительное действие, зимозановый отек, липоксигеназа, мигрепина, лейкотриены.**

**T.V. Zvjagintseva, H.O. Syrova, L.P. Abramova, T.I. Yermolenko**  
KHARKIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

## ANTILOPOXYGENASE COMPONENT IN THE MECHANISM OF ANTI- INFLAMMATORY ACTION OF MIGREPIN

### Summary

Experimental results of studying of influence of Migrepin (12,5 mg/kg single dose, intragastric) and comparison preparations on the level of leukotriene  $B_4$  (LTB<sub>4</sub>) in investigated objects are submitted. Research was carried on 36 WAG-strain rats of both sexes, mass - 180-220 g (6 animals in each group) using the model of zimozan oedema. The level of LTB<sub>4</sub> was determined in a blood serum, a stomach mucosa, and brain tissues by means of immunoenzyme method. It is established that Migrepin inhibits LTB<sub>4</sub> formation in the investigated objects. Therefore we consider Migrepin to have antilipoxygenase component in the mechanism of action. As compounds having combined (anticyclooxygenase and antilipoxygenase) action are very effective in inflammatory diseases treatment, the investigation of Migrepin influence on cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 is believed to be perspective.

KEY WORDS: **anti-inflammatory action, zimozan oedema, lipoxygenase, Migrepin, leukotrienes.**

Отримано 16.03.10

Адреса для листування: Т.В. Звягинцева, Харківський національний медичний університет, пр-т Леніна, 4, Харків, 61022, Україна.

## АНАЛІЗ КОМПОНЕНТНОГО СКЛАДУ ЕФІРНИХ ОЛІЙ ДВОХ ФОРМ *DRACOCEPHALUM MOLDAVICA* L.

Проаналізовано компонентний склад ефірних олій двох форм *Dracocephalum moldavica* L. – білоквіткової (сорт Перлінка) та синьоквіткової, які вирощено в умовах Тернопільської області. Встановлено, що домінуючими компонентами ефірних олій обох форм є ациклічні монотерпеноїди - геранілацетат, гераніаль та нераль.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: *Dracocephalum moldavica*, ефірна олія, геранілацетат, гераніаль, нераль.

ВСТУП. Змієголовник молдавський (*Dracocephalum moldavica* L.) – однорічна ефіроолійна лікарська рослина родини глухокропивові, або губоцвіті (*Lamiaceae*), яку широко використовують у народній медицині різних країн, особливо на Сході (Іран, Монголія). В Україні ця рослина поступово поширюється в культурі у південних областях як медоносна, пряносмакова та декоративна.

Згідно з літературними даними [1, 4, 9], трава *D. moldavica* проявляє протизапальні, в'яжучі, спазмолітичні, антимікробні та ранозагоювальні властивості. Було встановлено також гіпотензивну та седативну дії настоїв трави рослини, які використовують при тахікардіях, невралгіях, мігренях [4, 6]. Завдяки приємному м'ятно-лимонному запаху рослину часто використовують як пряноароматичну в приготуванні страв та напоїв [3, 11].

Цікавим є те, що білоквіткова форма змієголовника молдавського в природі практично не зустрічається. У 2001 році в Національному ботанічному саду імені М.М. Гришка НАН України виведено сорт Перлінка з білими квітками, який занесено до Реєстру сортів рослин України.

Мета наших досліджень – порівняльний аналіз компонентного складу ефірних олій біло- та синьоквіткової форм змієголовника молдавського, які вирощено в умовах Тернопільської області. Для вирощування рослин

використано насіння з колекції Національного ботанічного саду імені М.М. Гришка НАН України.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Ефірні олії отримали з висушеної надземної частини двох форм змієголовника молдавського шляхом перегонки з водяною паром методом № 4 згідно з ДФ XI [2].

Компонентний склад ефірних олій обох форм *D. moldavica* досліджували на газовому хроматографі Agilent Technologies 6890N з мас-спектрометричним детектором 5973N. Використано кварцову колонку довжиною 30 м, внутрішнім діаметром 0,25 мм, газ-носії – гелій, витрати – 1 мл/хв. Час хроматографування склав близько 40 хв. Компоненти ефірних олій ідентифікували за результатами порівняння отриманих у процесі хроматографування мас-спектрів хімічних сполук із даними бібліотеки мас-спектрів NIST02.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. На основі проведеного хромато-мас-спектрометричного аналізу ефірних олій біло- та синьоквіткової форм *D. moldavica* було встановлено наявність 38 сполук в ефірній олії білоквіткової форми (з них ідентифіковано 27) та 33 сполук в ефірній олії синьоквіткової форми (з них ідентифіковано 23). Слід відзначити, що у літературних джерелах йдеться про наявність в ефірній олії рослини не більше 12 компонентів [4, 9, 12].

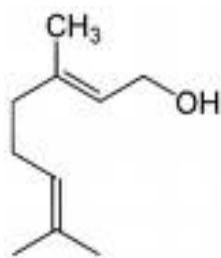
© М.І. Шанайда, Ю.А. Пасемків, О.А. Корабльова, 2010.

Таблиця 1 – Компонентний склад ефірних олій двох форм *Dracocephalum moldavica*

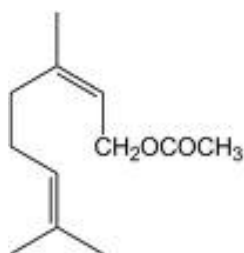
№	Компонент	Час утримання, хв	Кількісний вміст компонента в ефірній олії <i>D. moldavica</i> , %	
			білокріткова форма (сорт Перлінка)	синьоквіткова форма
1	1-октен-3-ол	7,54	0,461	0,527
2	6-метил-5-гептен-2-он	7,75	0,576	1,331
3	β-феландрен	9,00	–	0,092
4	фенілацетальдегід	9,52	0,267	–
5	ліналооксид	10,44	0,160	0,126
6	ліналоол	11,42	0,727	2,055
7	1-октен-3-ол ацетат	11,74	0,103	0,110
8	хризантенон	12,19	0,134	–
9	цис-фотоцитраль	12,65	–	0,126
10	транс-хризантемаль	13,05	0,389	–
11	фотонерол В	13,90	–	0,085
12	метилсаліцилат	14,58	–	0,144
13	деканаль	14,92	0,120	–
14	нерол	15,96	–	0,541
15	нераль	16,71	20,045	18,848
16	гераніол	17,11	0,823	6,970
17	гераніаль	17,63	27,024	18,249
18	метилгеранат	18,90	0,209	0,132
19	α-терпінілацетат	19,81	0,169	0,315
20	нерилацетат	20,37	3,081	2,948
21	копаєн	20,64	0,285	0,176
22	евгенол	20,74	0,302	–
23	геранілацетат	21,40	31,355	41,075
24	децилацетат	21,89	0,210	–
25	каріофілен	22,22	1,797	0,708
26	гумулен	23,19	0,367	–
27	гермакрен D	24,10	3,144	1,071
28	біциклогермакрен	24,44	0,419	0,107
29	α-фарнезен	24,75	1,038	0,276
30	δ-кадинен	25,20	0,369	–
31	каріофіленоксид	26,75	0,838	0,257
32	дибутилфталат	31,16	1,060	–

Як видно з таблиці, домінуючими компонентами ефірних олій, виділених з трави обох форм *D. moldavica*, є ациклічні монотерпеноїди – геранілацетат, гераніаль та нераль, які складають більше 78 % від масової частки

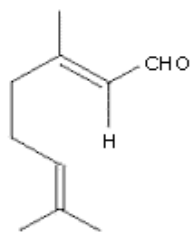
ефірної олії. Результати значною мірою узгоджуються з даними [6] стосовно ефірної олії змієголовника молдавського, вирощеного в умовах Херсонської області, де ці компоненти становлять понад 80 % від її масової частки.



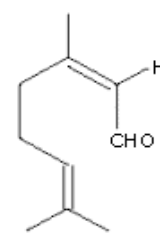
гераніол



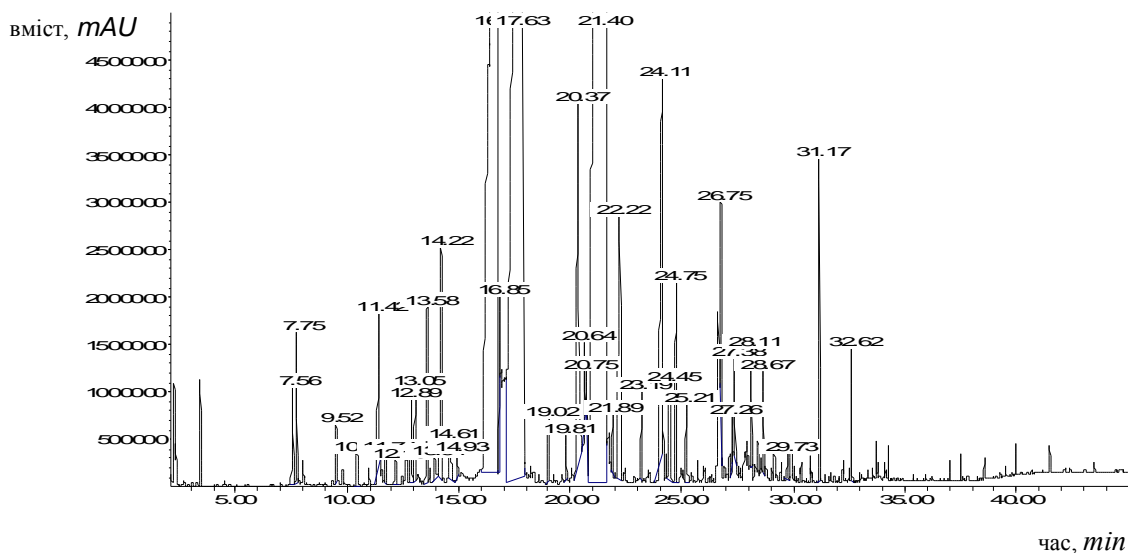
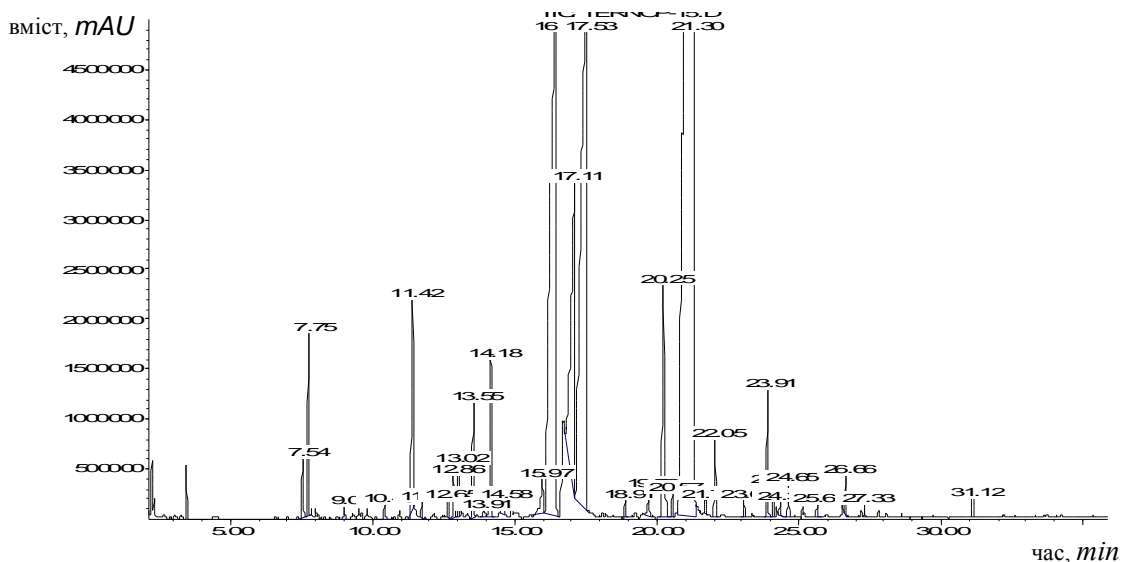
геранілацетат



гераніаль



нераль

Рис. 1. Хроматограма ефірної олії з трави білокріткової форми *D. moldavica*.Рис. 2. Хроматограма ефірної олії з трави синьоквіткової форми *D. moldavica*.

За даними [4], в ефірній олії змієголовника молдавського, вирощеного в Криму, накопичується до 60 % цитралю та понад 16,5 % геранілацетату. Слід відзначити, що гераніаль та нераль є ізомерами цитралю. Виявлену деяку розбіжність щодо кількісного вмісту компонентів ефірної олії у даних різних дослідників, очевидно, можна пояснити тим, що хімічний склад ефірних олій рослин досить варіабельний, оскільки значною мірою залежить від впливу кліматичних факторів, умов зростання рослин тощо [1, 4, 8].

Ациклічні монотерпеноїди мають виражену бактеріостатичну дію, приємний аромат та є малотоксичними (порівняно з відомими антисептиками тимолом та карвакролом) [11].

Цитраль використовують як ароматизатор у харчовій промисловості, як запашну речовину в парфумерії та як речовину з протизапальними і седативними властивостями в медичній практиці [7, 13].

Загальновідомо, що компонентний склад ефірних олій визначає їх органолептичні властивості та біологічну активність. Вивчення окремих компонентів ефірних олій різних видів рослин показало, що багато терпеноїдів мають антиоксидантну активність. Вказану властивість ефірної олії нерідко пояснюють [5, 12] значним вмістом геранілацетату.

Геранілацетат – домінуючий компонент ефірних олій обох форм *D. moldavica* (див. табл. 1) – є складним ефіром гераніолу та оцто-



вої кислоти. Він може приєднувати вільні радикали, змінюючи свою просторову та хімічну будову, забезпечуючи тим самим стабільність мембран клітин живого організму [5, 10]. Саме цей компонент надає ефірній олії рослини приємного квітково-фруктового запаху, тому рекомендований до застосування у косметології, ароматології тощо. Вміст даної сполуки є вищим в ефірній олії синьоквіткової форми *D. moldavica*, порівняно з білоквітковою, на 9,72 %.

В ефірних оліях обох форм *D. moldavica* ідентифіковано також сесквітерпени, серед яких домінує гермакрен D (його вміст складає 3,14 % в ефірній олії білоквіткової форми та 1,07 % в ефірній олії синьоквіткової форми). З літератури [5, 11] відомо, що сесквітерпени є менш леткими і не так сильно піддаються окисненню, як монотерпени. Вони активні відносно патогенної мікрофлори, мають протизапальну дію, їх вважають природними антибіотиками.

Частина компонентів присутня тільки в ефірній олії однієї з форм рослини. Так, білоквіткова форма *D. moldavica* характеризується більш різноманітним компонентним складом ефірної олії порівняно із синьоквітковою (див. табл. 1). Разом із тим, в ефірній олії білоквіткової форми відсутні деякі компоненти, які в незначній кількості присутні у синьоквітковій формі:  $\beta$ -феландрен, хризантенон, цис-фоточитраль, транс-хризантемаль, фотонерол B тощо.

Науковці встановили [4, 5, 11], що антиоксидантні та протизапальні властивості ефірної олії тієї чи іншої рослини часто вищі, ніж їх

окремих компонентів. Це вказує на існування синергічних ефектів, зумовлених складністю взаємодії компонентів ефірної олії. Ймовірно, це стосується також змієголовника молдавського.

За даними українських вчених [4], ефірна олія змієголовника молдавського за хімічним складом та фармакологічною дією значною мірою схожа з ефірною олією меліси лікарської, яка теж належить до родини *Lamiaceae*, і може навіть бути заміником останньої. Седативна дія, яку проявляє меліса лікарська, спричинена впливом цитралю на нейрони кори головного мозку [13]. Вміст цитралю (суміш гераніалю та нералю) в ефірній олії меліси лікарської сягає 60 % [4, 7], тоді як в ефірній олії білоквіткової форми *D. moldavica* він становить 47,1 %, синьоквіткової – 37,1 %. Таким чином, ефірні олії обох форм *D. moldavica* є перспективним джерелом створення седативних лікарських засобів.

**ВИСНОВКИ.** 1. Вперше на основі хроматомас-спектрометричного аналізу ефірних олій двох форм *D. moldavica* було встановлено наявність 38 сполук в ефірній олії білоквіткової форми (сорт Перлінка) та 33 сполук в ефірній олії синьоквіткової форми.

2. Ефірна олія синьоквіткової форми *D. moldavica* є більш перспективним джерелом гераніацетату, тоді як ефірна олія білоквіткової форми – гераніалю і нералю.

3. Отримані результати дозволяють припустити різнобічну фармакологічну дію фітозасобів на основі сировини *D. moldavica*.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Буданцев А.Л., Шаварда А.Л. Химический состав и полезные свойства видов рода *Dracoscephalum* L. флоры СССР // Раст. ресурсы: Сообщение 1. Содержание и состав эфирных масел. – 1986. – 22, вып. 4. – С. 550-561.
2. Государственная Фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1987. – 336 с.
3. Корабльова О.А. Интродукція *Dracoscephalum grandiflorum* L. і *D. moldavica* L. у Поліссі та Лісостепу України для використання в переробній промисловості // Бюлл. Никит. бот. сада. – 2004. – Вып. 89. – С. 63-66.
4. Либусь О.К., Работягов В.Д., Кутько С.П., Хлыпенко Л.А. Эфирномасличные и пряноароматические растения. – Херсон: Айлант, 2004. – С. 101-105, 156-164.

5. Мишарина Т.А., Теренина М.Б., Крикунова Н.И. Антиоксидантные свойства эфирных масел // Прикладная биохимия и микробиология. – 2009. – 45, № 6. – С. 710-716.
6. Овечко С.В. Изучение динамики накопления эфирного масла в траве змеелоговника молдавского // Вісник Запорізького медуніверситету – 2002. – № 1. – С. 174-177.
7. Степаненко Л.В., Шаталіна Н.В., Слащинин Г.Д., Ефремов А.А. Химический состав эфирного масла мелиссы лекарственной Красноярского края // Материалы III Всероссийской конференции “Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья”. – Барнаул, 2007. – Т. 2. – С. 128-132.
8. Шанайда М.І., Пасемків Ю.А., Корабльова О.А., Рахметов Д.Б. Результати інтродукційних та фітохімічних досліджень видів роду *Dracoscephalum*

(*D. grandiflorum* L. та *D. moldavica* L.) // Інтродукція рослин. – 2008. – № 2. – С. 65-71.

9. Hanna H. Abd El-Baky, Gamal S. El-Baroty. Chemical and biological evaluation of the essential oil of Egyptian moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) // International Journal of Integrative Biology – 2008. – 3, № 3. – P. 202-208.

10. Kakasy A., Lembercovics E., Krursinski L and oth. Date phytochemical evolution of Moldavian dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L., Lamiaceae) // Herba polonica. – 2002. – 48, № 3. – P. 112-119.

11. Nakatani N. Antioxidant and antimicrobial constituents of herbs and spices // Spices, Herbs and

Edible Fungi. Developments in Food Science, Elsevier. – London, 1994. – P. 251-271.

12. Povilaityte V., Venskutonis P.R. Antioxidative Activity of Purple Peril (*Perilla frutescens* L.), Moldavian Dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.), and Roman Chamomile (*Anthemis nobilis* L.) Extracts in Rapeseed Oil // JAOCS. – 2000. – 77, № 9. – P. 951.

13. Sadraei H., Ghannadi A., Malekshahi K. Relaxant effect of essential oil of *Melissa officinalis* and citral on rat ileum contractions // Fitoterapia. – 2003. – 74, I. 5. – P. 445-452.

**М.И. Шанайда<sup>1</sup>, Ю.А. Пасемкив<sup>1</sup>, О.А. Кораблева<sup>2</sup>**

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО<sup>1</sup>

НАЦИОНАЛЬНЫЙ БОТАНИЧЕСКИЙ САД ИМЕНИ Н.Н. ГРИШКА НАН УКРАИНЫ<sup>2</sup>, КИЕВ

## АНАЛИЗ КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА ЭФИРНЫХ МАСЕЛ ДВУХ ФОРМ *DRACOCEPHALUM MOLDAVICA* L.

### Резюме

Проанализирован компонентный состав эфирных масел двух форм *Dracocephalum moldavica* L. – белоцветковой и синецветковой, которые выращены в условиях Тернопольской области. Установлено, что доминирующими компонентами эфирных масел обеих форм являются ациклические монотерпеноиды – геранилацетат, гераниаль и нераль.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *Dracocephalum moldavica*, эфирное масло, геранилацетат, гераниаль, нераль.

**M.I. Shanayda<sup>1</sup>, Yu.A. Pasemkiv<sup>1</sup>, O.A. Korablova<sup>2</sup>**

I.YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY<sup>1</sup>

M.M. HRISHKO NATIONAL BOTANICAL GARDEN OF NATIONAL ACADEMY OF THE SCIENCES OF  
UKRAINE<sup>2</sup>, KYIV

## ANALYSIS OF THE ESSENTIAL OIL COMPOSITION OF TWO FORMS *DRACOCEPHALUM MOLDAVICA* L.

### Summary

Component composition of the essential oil of two forms *Dracocephalum moldavica* L. – white-flowers and blue-flowers form, which grows under conditions of the Ternopil region was analysed. It is set that the most abundant components of both forms are geranyl acetate, geranial and neral.

KEY WORDS: *Dracocephalum moldavica*, essential oil, geranyl acetate, geranial, neral.

Отримано 26.04.10

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

**ЕЛЕМЕНТНИЙ СКЛАД ЛИСТЯ РОСЛИН РОДУ ІЛЬМ (ULMUS L.)**

Визначено елементний склад (не менше 15 сполук) та кількісний вміст макро- і мікроелементів у сировині 7 видів рослин роду ільм (*Ulmus L.*). Загальна їх особливість – те, що домінуючою сполукою є калій. У меншій, але теж досить значній кількості містяться кальцій та силіцій. Вміст магнію, фосфору та натрію коливається в 4 рази і становить 150-600 мг/100 г. Що стосується решти визначених елементів, то їх кількість не перевищує 130 мг/100 г.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: макро- та мікроелементи 7 видів рослин роду ільм (*Ulmus L.*).

**ВСТУП.** Рослини роду ільм (*Ulmus L.*) досить розповсюджені на території України [2, 4]. Ці рослини неофіційні, проте їх широко використовують у народній медицині не тільки нашої країни, а і багатьох інших країн [4]. Так, в Китаї відвар кори та листя застосовують як діуретичний засіб і при малярії, в Бельгії – як протираковий засіб, при переломах кісток як загоювальний, на Кавказі – як протипухлинний засіб і при опіках, водний відвар та настойку з листя – при хронічних захворюваннях шкіри, а також як проносний засіб [6].

Метою нашої роботи стало вивчення елементного складу листя рослин роду ільм (*Ulmus L.*).

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Сировину заготовляли протягом 2006-2007 рр. на експозиціях Ботанічного саду Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Елементний склад визначали методом атомно-емісійної спектроскопії з фотографічною реєстрацією результатів на приладі ДФС-8 порівняно зі стандартними сумішами мінеральних сполук [1].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Результати визначення елементного складу листя деяких рослин роду ільм наведено в таблиці 1. Найвищий вміст калію спостерігався в листі і. граболистого – 4000,00 мг/100 г. Більш ніж вдвічі менше калію містить листя і.перистоветвистого, приблизно таку ж кількість елемента містить листя і.листуватого та і.гладкого (1880,00; 1920,00; 1980,00 мг/100 г відповідно).

© І.А. Данілова, В.В. Малий, 2010.

Найбільший вміст силіцію визначено в листі і.граболистого та і.низенького (по 1600,00 мг/100 г), що в 1,7 раза більше за найнижчий вміст у листі і.шорсткого (940,00 мг/100 г).

Найбільше кальцію, порівняно з іншими об'єктами, містить листя і.граболистого (1640,00 мг/100 г) та і.низенького (1600,00 мг/100 г). Найнижчий вміст цього елемента характерний для листя і.шорсткого, і.листуватого та і.перистоветвистого (940,00 та по 960,00 мг/100 г), що в 1,7 раза менше за вміст у листі і.граболистого.

В 1,3-1,5 раза менше магнію в листі і.американського (450,00 мг/100 г) та і.гладенького (400,00 мг/100 г). Листя і.листуватого (380,00 мг/100 г), і.перистоветвистого (370,00 мг/100 г) та і.шорсткого (350,00 мг/100 г) містить в 1,7 менше кальцію, ніж листя і.граболистого та і.низенького.

Листя і.граболистого містить 400,00 мг/100 г натрію – це найвищий показник для досліджуваних об'єктів. Більш ніж в 1,3 раза менше даного елемента в листі і.американського та і.низенького (по 300 мг/100 г відповідно). Найнижчий вміст (вдвічі менший) характерний для листя і.листуватого та і.гладенького (190,00 та 200,00 мг/100 г).

Листя і.граболистого містить фосфор у кількості 360,00 мг/100 г. Найнижчий його вміст визначено в листі і.перистоветвистого та і.шорсткого (по 190,00 мг/100 г).

Вміст алюмінію в сировині коливається в 15-20 разів – від 60,00 (листя і.граболистого) до 3,00-4,00 мг/100 г (листя і.гладенького, і.листуватого та і.низенького).

Таблиця 1 – Елементний склад листя рослин роду ільм

Назва видів	Вміст елемента, мг/100 г														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
	Na	Mg	Al	Si	P	K	Ca	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	Sr	Mo	Pb
Ільм американський (U.americana L.)	300,00	450,00	10,00	1310,00	280,00	2230,00	1280,00	130,00	45,00	0,75	1,50	6,00	3,00	0,10	0,30
Ільм гладенький (U.laevis Pall.)	200,00	400,00	3,00	1030,00	210,00	1980,00	1060,00	130,00	50,00	0,40	3,00	7,00	5,00	0,10	0,25
Ільм граболистий (U.carpinifolia Rupr. ex)	400,00	600,00	60,00	1600,00	360,00	4000,00	1640,00	14,00	180,00	0,80	6,00	8,00	6,00	0,30	0,60
Ільм листуватий (U.foliacea)	190,00	380,00	4,00	1020,00	200,00	1920,00	960,00	8,00	60,00	0,60	1,30	6,00	4,00	1,00	0,13
Ільм низенький (U.pumila L.)	300,00	600,00	4,00	1600,00	340,00	3000,00	1600,00	20,00	40,00	1,80	1,80	10,00	10,00	0,20	0,30
Ільм перистоветвистий (туркестанський) (U.pinnato-ramosa, turkestanica)	250,00	370,00	6,00	1000,00	190,00	1880,00	960,00	6,00	25,00	0,50	1,50	6,00	2,50	0,40	0,25
Ільм шорсткий (U.scabra Mill.)	240,00	350,00	20,00	940,00	190,00	2660,00	940,00	210,00	40,00	0,80	1,20	6,00	3,50	0,06	0,24

Вміст марганцю коливається ще сильніше – в 28-35 разів (від 6,00 (листя і.перистоветвистого), 8,00 (листя і.листуватого) до 210,00 мг/100 г (листя і.шорсткого)).

Листя і.граболистого містить 180,00 мг/100 г заліза, що в 7,2 раза більше за найнижчий вміст цього елемента (25,00 мг/100 г) у листі і.перистоветвистого.

Листя і.низенького містить 10,00 мг/100 г цинку. Решта видів сировини містить в 1,25-1,7 раза менше цього елемента (див. табл. 1).

Вміст молібдену, міді, нікелю та плумбуму не перевищує допустимих норм [3, 5].

ВИСНОВКИ. 1. Визначено якісний склад (не менше 15 сполук) та кількісний вміст макро- та мікроелементів у сировині 7 видів рослин роду ільм (*Ulmus* L.).

2. Загальна їх особливість – те, що домінуючою сполукою є калій. У меншій, але теж досить значній кількості містяться кальцій та силіцій. Вміст магнію, фосфору та натрію коливається в 4 рази і становить 150-600 мг/100 г. Що стосується решти визначених елементів, то їх кількість не перевищує 130 мг/100 г.

3. Отримані дані будуть використані при подальшому вивченні цих видів сировини.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Зырин Н.Г., Обухов А.И. Спектральный анализ почв, растений и других биологических объектов. – М., 1977. – 333 с.

2. Кохно М.А. Каталог дендрофлоры Украины. – К.: Фітосоціоцентр, 2001. – 72 с.

3. Листов С.А., Петров Н.В., Арзамасцев А.П. О содержании тяжелых металлов в лекарственном растительном сырье // Фармация. – 1990. – № 2. – С. 19-25.

4. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Magnoliaceae-Limoniaceae. – Л.: Наука, 1985. – 460 с.

5. Содержание тяжелых металлов в некоторых видах лекарственных растений Алтайского края / И.В. Гравель, Г.П. Яковлев, Н.В. Петров и др. // Растит. ресурсы. – 1994. – 30, вып. 1-2. – С. 101-108.

6. Hartwell J.L. Plants used against cancer // *Lloidia*. – 1971. – 34, № 1. – P. 111-160.

## ЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ ЛИСТЬЕВ РАСТЕНИЙ РОДА ИЛЬМ (ULMUS L.)

### Резюме

Определено элементный состав (не менее 15 элементов) и количественное содержание макро- и микроэлементов в сырье 7 видов растений рода ильм (*Ulmus L.*). Общая их особенность – то, что доминирующим соединением является калий. В меньшем, но также достаточно значительном количестве содержатся кальций и силиций. Содержание магния, фосфора и натрия колеблется в 4 раза и составляет 150-600 мг/100 г. Что касается остальных элементов, то их количество не превышает 130 мг/100 г.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: макро- и микроэлементы 7 видов растений рода ильм (*Ulmus L.*).

I.A. Danilova, V.V. Maliy  
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

## ELEMENTAL COMPOSITION OF ULMUS L. PLANTS LEAVES

### Summary

We've studied the elemental composition (no less than 15 elements) and quantitative content of macro and micro elements at the raw material of 7 common species of plants of *Ulmus L.* According to the general regularity, potassium is the dominant element. Calcium and silicon exist in less but substantial quantity. The content of magnesium, phosphorus and sodium varies in 4 times and amounts to 150-600 mg/100 g. The rest of the elements exist in quantity not exceeding 130 mg/100g.

KEY WORDS: macro and micro elements at the raw material of 7 common species of plants of *Ulmus L.*

Отримано 18.09.09.

Адреса для листування: В.В. Малий Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, Харків, 61000., Україна

**В.М. Нечипорук, М.М. Корда**  
 ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ М.І. ПИРОГОВА  
 ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

## СУЧАСНІ АСПЕКТИ ОБМІНУ СІРКОВМІСНИХ АМІНОКИСЛОТ

*В огляді наведено результати досліджень щодо обміну гомоцистеїну (ГЦ), метіоніну, цистеїну та їх ролі у фізіологічних і патологічних процесах. Розглянуто процеси утилізації ГЦ метіоніновим та цистеїновим шляхами, поліморфізм ферментів обміну ГЦ, шляхи входження метіоніну в процеси метилування субстратів, джерела та форми ГЦ, рівень ГЦ у плазмі крові, роль гіпергомоцистеїнемії та гомоцистинурії в патогенезі серцево-судинних та інших захворювань. Описано метаболізм цистеїну та утворення з нього глутатіону. Розглянуто вплив ГЦ на антиоксидантний захист клітини. Описано можливі механізми синтезу регуляторної газової молекули  $H_2S$  із цистеїну та ГЦ. Відзначено роль вітамінів  $B_2$ ,  $B_6$ ,  $B_9$  та  $B_{12}$  в обміні сірковмісних амінокислот, зокрема ГЦ, та взаємозв'язок розвитку ГЦ із генетичними і набутими захворюваннями.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** гомоцистеїн, метіонін, цистеїн, глутатіон, гідроген сульфід, вітаміни  $B_2$ ,  $B_6$ ,  $B_9$  та  $B_{12}$ , гіпергомоцистеїнемія, обмін, регуляція.

В останні роки зріс інтерес наукової спільноти до обміну сірковмісних амінокислот (гомоцистеїну, метіоніну, цистеїну), порушення метаболізму яких є істотним чинником серцево-судинних захворювань, уражень нервової системи та ряду інших патологічних станів [6, 44].

*Основні механізми обміну ГЦ, метіоніну та цистеїну.*

Відомо, що гомоцистеїн був відкритий ще у 1932 р. американським біохіміком Vincent de Vigneaud як продукт деметилування метіоніну. Гомоцистеїн (ГЦ) – це амінокислота, яка є проміжним продуктом метаболізму метіоніну та цистеїну. Кількість ГЦ у продуктах харчування дуже незначна, потреби організму в цій амінокислоті забезпечуються тільки метіоніном їжі. Особливо багаті на метіонін як незамінну амінокислоту продукти тваринного походження: м'ясо, яйця та молочні продукти [24, 43].

Утворення ГЦ із метіону відбувається переважно в печінці в процесі трансметилування [13, 22]. Спочатку метіонін активується до активної форми – S-аденозилметіоніну з участю ферменту аденозилметіонінтрансферази (КФ 2.5.1.6). Далі активна форма метіоніну використовується для метилування різних субстратів (гуанідинацетату, фосфатидилетаноламіну, норадреналіну) і перетворюється в S-аденозилгомоцистеїн. Останній гідролізується ензимом S-аденозилгомоцистеїнгідролазою (КФ 3.3.1.1) до аденозину та ГЦ. Ця реакція гідролізу є оборотною, і за присутності адено-

зину ГЦ може трансформуватись до утворення S-аденозилгомоцистеїну. Процеси трансметилування використовуються не лише з метою регенерації ГЦ із метіоніну, але і для синтезу біологічно активних сполук, компонентів клітинних мембран, та у процесі знешкодження ксенобіотиків. Особливе значення надається процесам метилування азотистих основ нуклеїнових кислот, регуляції процесингу мРНК, експресії генів, посттранскрипційної модифікації поліпептидів та білків [25].

У плазмі крові ГЦ в основному перебуває у білковозв'язаній формі (70-80 %), дещо менша кількість (20-30 %) – у вигляді гомоцистину та змішаного дисульфідіду ГЦ-цистеїну, близько 1 % – у вільній формі, менше 0,3 % – у формі тіолактону ГЦ [17, 30].

Доведено, що рівень ГЦ певною мірою залежить від віку, статі, етнічної приналежності, характеру харчування, способу життя, шкідливих звичок [1, 3]. Вперше про ГЦ як чинник атерогенезу повідомив McCully, який встановив зв'язок між підвищеним рівнем ГЦ у сироватці крові та захворюванням артерій, вивчаючи рідкісне генетичне захворювання у дітей з гомоцистинурією.

Гіпергомоцистеїнемія (ГГЦ) – це патологічний стан, при якому спостерігається накопичення ГЦ у крові. За останніми літературними даними, при концентрації ГЦ у крові 16-30 мкмоль/л має місце помірна (легка) ГГЦ, 31-100 мкмоль/л – середня, понад 100 мкмоль/л – тяжка [7, 8]. Близько у 10 % населення встановлено наявну помірну, в 1 % – середню та у

© В.М. Нечипорук, М.М. Корда, 2010.

0,02 % – тяжку форми ГГЦ [41]. Досі не існує єдиної думки щодо градації ступеня тяжкості ГГЦ. Вважають, що нормальний рівень ГЦ становить 5-15 мкмоль/л [6, 9]. Як свідчать епідеміологічні дослідження, пов'язані із вмістом ГЦ та кардіоваскулярною смертністю, безпечною є концентрація, менша 10 мкмоль/л [20].

За даними D.W. Jacobsen [29], рівень ГЦ, менший 10 мкмоль/л, вважають нормальним; 10-15 мкмоль/л – субнормальним; 15-25 мкмоль/л розцінюють як легку ГГЦ; 25-50 мкмоль/л – середню; понад 50 мкмоль/л – тяжку. Вміст ГЦ у здорових людей має добові коливання і залежить від віку й статі. Так, у людей, молодших 30 років, рівень ГЦ становить 4,6-8,1 мкмоль/л, старших 60 років – 5,8-11,9 мкмоль/л, у чоловіків віком 30-59 років – 4,5-7,9 мкмоль/л, а в жінок цього ж віку – 6,3-11,2 мкмоль/л [9].

Встановлено, що з підвищенням вмісту ГЦ у плазмі крові виникає дисбаланс між шляхами його продукції та утилізації. Серед причин розвитку ГГЦ виділяють уроджені порушення метаболізму ГЦ та набуті вади, які виникають у результаті дефектів харчування, наявності шкідливих звичок [6].

Підвищення концентрації у плазмі крові ГЦ у великій кількості людей літнього віку може бути наслідком загального уповільнення метаболізму, недостатнього надходження фолату і вітамінів  $B_{12}$  та  $B_6$  з їжею через атрофію слизової оболонки шлунка, зниження ниркової функції тощо [4].

Утилізація ГЦ проходить в реакціях реметилювання та транссульфування [6]. Шляхом реметилювання забезпечується утворення метіоніну з ГЦ (рис. 1). Ця реакція каталізується  $B_{12}$ -залежним ферментом метіонінсинтетазою. Безпосереднім донором метильної групи для цієї реакції є фолієва кислота. Утворення метіоніну з ГЦ може відбуватись також в альтернативній реакції, каталізованій фолатнезалежним ферментом бетаїноглютаматметилтрансферазою (КФ 2.1.1.5), який як донор метильних груп використовує бетаїн.

Досить потужним шляхом катаболізму ГЦ є його перетворення на цистеїн (рис. 1) в реакціях транссульфування [8]. Спочатку ГЦ конденсується із серином з участю піридоксальзалежного ферменту цистатіонін- $\beta$ -синтетази (КФ 4.2.1.22) з утворенням цистатіоніну. Далі цистатіонін під впливом  $B_6$ -залежного ферменту цистатіонін- $\gamma$ -ліази (КФ 4.4.1.1) перетворюється на цистеїн, аміак та  $\alpha$ -кетобутират.

Головний шлях метаболізму цистеїну – використання для синтезу глутатіону (рис. 1):

спершу цистеїн конденсується з глутаматом в реакції, яка каталізується  $\gamma$ -глутамілцистеїнолігазою (КФ 6.3.2.2), а потім до дипептиду приєднується гліцин [48]. Утворений глутатіон може кон'югувати з електрофільними метаболітами ксенобіотиків та ендогенних субстратів з участю глутатіон-S-трансферази (КФ 2.5.1.18) з утворенням глутатіонових кон'югатів, які в подальшому перетворюються на тіоефіри – меркаптурати [48]. Глутатіон ( $\gamma$ -глутамілцистеїно-гліцин) – трипептид, присутній у всіх клітинах тварин і людини. Внутрішньоклітинний пул глутатіону містить у собі його відновлену (GSH) та окиснену (GSSG) форми [5, 42].

Завдяки наявності  $\gamma$ -глутамільного зв'язку та реактивної сульфгідрильної групи глутатіон бере участь у численних реакціях метаболізму, забезпечуючи тим самим нормальний перебіг ряду фізіологічних та біохімічних процесів. Зокрема, глутатіон підтримує функціональну активність біологічних мембран, бере участь в механізмах передачі нервових імпульсів, синтезі білка та ДНК, модулюванні конформаційного стану білкових молекул і регуляції активності ферментів, механізмах транспорту амінокислот та синтезі простагландинів [2, 40]. Проте найбільш важливою функцією глутатіону є його участь у процесах детоксикації ксенобіотиків [2].

Важливу роль в механізмах пошкодження вільної дії надлишку ГЦ відіграє активація оксидативного стресу. В плазмі крові тварин з експериментальною ГГЦ значно зростає вміст малонового діальдегіду, гідропероксидів, зменшується частка поліненасичених жирних кислот в ліпідах, виснажуються антиоксидантні системи і ці зміни тісно корелюють з рівнем гомоцистеїну в крові [6].

Встановлено, що ГГЦ призводить не лише до послаблення антиоксидантного захисту клітин, але і до активації ферментів, здатних генерувати активні форми кисню. В мезангіальних клітинах нирок щурів за умов надмірних концентрацій ГЦ активується фермент NADH-оксидаза [53]. В інших дослідженнях показано здатність надлишку ГЦ в ендотеліальних клітинах посилювати активність потужного продуцента активних форм кисню – ксантинооксидази [12]. Такі ефекти ГЦ на активність ферментів протиантиоксидантного захисту реалізуються через вплив на експресію відповідних генів [50].

Досліджено пошкодження ендоплазматичного ретикулула (ЕР) внаслідок негативної дії на нього ГЦ. Значення ЕР – регуляція процесів посттрансляційної модифікації білків. При збільшенні внутрішньоклітинної концентрації

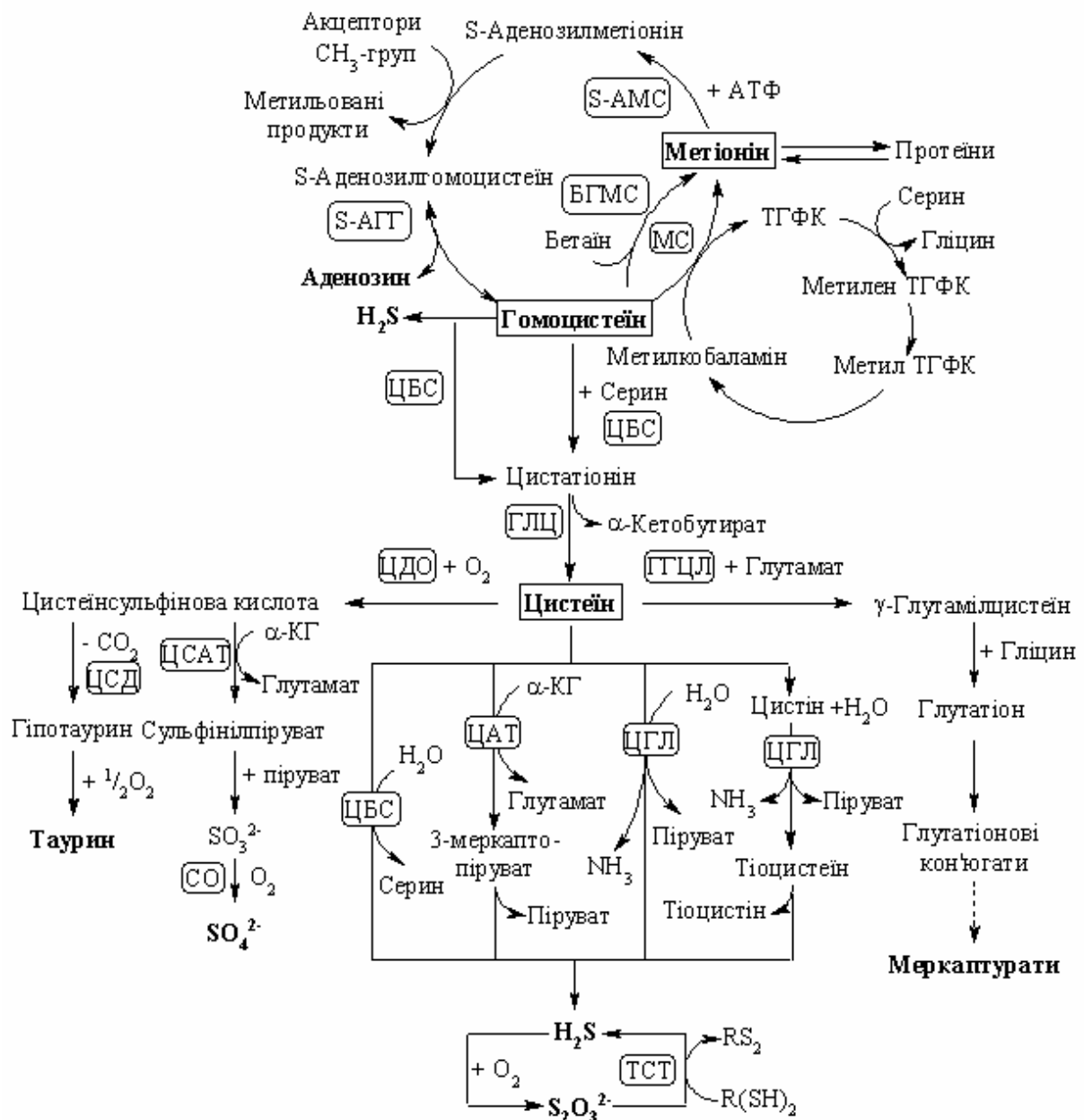


Рис. 1. Основні шляхи метаболізму ГЦ, метіоніну та цистеїну.

МС – метіонінсинтеза; БГМТ – бетаїногомоцистеїнометилтрансфераза; МАТ – метіонінаденозилтрансфераза; S-АГГ – S-аденозилгомоцистеїнгідролаза; ЦБС – цистатіонін-β-синтаза; ЦГЛ – цистатіонін-γ-ліаза; ЦДО – цистеїндіоксигеназа; ЦСД – цистеїнсультанат-декарбоксилаза; СО – сульфїтоксидаза; ЦСАТ – цистеїнсультанат-амінотрансфераза; ГГЦЛ – γ-глутамїлцистеїнліаза; ТСТ – тіосульфат-дитіолсульфїдтрансфераза; α-КГ – α-кетоглутарат.

ГЦ порушується формування дисульфїдних зв'язків у протеїнах, що призводить до незавершеного фолдінгу та агрегації. У відповідь на цей сигнал активуються шляхи, які забезпечують відновлення нормальної структури протеїнів [46].

*Механізми утворення газової молекули гідроген сульфїду ( $H_2S$ ).*

Нещодавно було відкрито десульфуразний шлях обміну цистеїну та ГЦ, з якими асоціюється продукція важливої регуляторної газової молекули гідроген сульфїду ( $H_2S$ ) [19, 36].

Синтез  $H_2S$  із ГЦ забезпечується виключно цистатіонін-β-синтазою (КФ 4.2.1.22), тоді як синтез його із цистеїну каталізується кількома ферментами: цистеїнамінотрансферазою (КФ 2.6.1.3), цистатіонін-γ-ліазою (КФ 4.4.1.1) і цистатіонін-β-синтазою (КФ 4.2.1.22) [21]. Також  $H_2S$  може синтезуватись шляхом відновлення тіосульфату з участю тіосульфатдитіолсульфїд-трансферази (КФ 2.8.1.5).

$H_2S$  здатний вступати в численні перетворення [28, 36], зокрема зв'язуватись із SH-групами білків та низькомолекулярних тіолів,



модифікуючи їх активність, взаємодіяти із сульфат-аніоном, утворюючи тіосульфат, або може піддаватись метилуванню до метантіолу під дією тіолметилтрансферази (КФ 2.1.1.9). Також  $H_2S$  може утворювати нітрозотіоли і неферментативно окиснюватись до сульфатів та сульфатів [52].

На сьогодні відомо, що  $H_2S$  відіграє досить значну роль в регуляції судинного тонуусу та агрегації тромбоцитів, скоротливості міокарда, нейротрансмісії, секреції інсуліну [31, 35].

*Нутрієнтні та генетичні причини дефіциту вітамінів.*

Найбільш частим генетичним дефектом, який виявляють при ГЦ, є точкова мутація, що пов'язана із заміною цитозину на тимін в нуклеотиді 677 ( $677C \rightarrow T$ ) у відкритій рамці зчитування гена метилентетрагідрофолат-редуктази [38]. Ця точкова автосомальна рецесивна мутація викликає заміну валіну на аланін у ферменті й появу його термолабільного варіанта із зниженою активністю. Частота появи  $C677T$  поліморфізму досить висока серед кавказької раси та азіатів (10-13 %  $T/T$  гомозигот і 50 %  $C/T$  гетерозигот), але низька серед негрів. Патогенетичне значення цього поліморфізму активно досліджується [37], було встановлено його зв'язок з підвищеною частотою серцево-судинних уражень.

У літературних джерелах висловлюється думка, що мутація метилентетрагідрофолатредуктази також має патогенетичне значення за умов вітамінного дефіциту [51]. Метилентетрагідрофолат забезпечує численні перетворення в організмі, тому знижена активність метилентетрагідрофолатредуктази, особливо за умов недостатності вітамінів  $B_9$ ,  $B_{12}$  та  $B_6$ , супроводжується накопиченням ГЦ, порушеннями синтезу нуклеїнових кислот та процесів їх метилування. Враховуючи значну поширеність серед населення гомозиготного генотипу  $C677T$  метилентетрагідрофолатредуктази, ця мутація розглядається як важливий фактор ризику серцево-судинних уражень, дефектів нервової трубки, колоректального раку, підвищеної чутливості до токсичних ефектів антифолатних лікарських засобів [51].

Не варто забувати про активність цистатіонін- $\beta$ -синтетази, яка впливає на рівень ГЦ у плазмі крові. Даний фермент каталізує залежну від піридоксальфосфату конденсацію серину та ГЦ з утворенням цистатіоніну. Цистатіонін- $\beta$ -синтетаза – це гемовий фермент, що складається з 4 субодиниць, кожна з яких зв'язує по одній молекулі гему та піридоксальфосфату, а також одну молекулу активатора – S-аденозилметіоніну [39].

Дефіцит ферменту в його гомозиготному варіанті призводить до тяжкого захворювання – гомоцистинурії, в основі якого лежить повна відсутність активності ферменту або його знижена активність з одночасним зменшенням здатності зв'язувати піридоксальфосфат [26]. Саме при гомоцистинурії і було вперше встановлено зв'язок між ГЦ, ураженнями судин та гіперкоагуляцією. Найчастіше зустрічаються 2 варіанти: заміна ізoleyцину на треонін в 278 положенні (чутливий до лікування піридоксином) та заміна гліцину на серин (нечутливий до лікування піридоксином). Гетерозиготне носійство мутантних форм ферменту, як правило, проявляється ГЦ, судинною патологією, гіперкоагуляцією і зустрічається приблизно у 30 % пацієнтів з ранніми артеріальними оклюзіями [54]. Активність цистатіонін- $\beta$ -синтетази у більшості пацієнтів не змінюється, але зберігається чутливість ферменту до піридоксальфосфату, в зв'язку з чим вони позитивно реагують на ГЦ-знижувачу терапію [54].

*Роль вітамінів  $B_2$ ,  $B_6$ ,  $B_9$  та  $B_{12}$  при лікуванні патологій, пов'язаних із ГЦ.*

Дефекти харчування, зокрема недостатність вітамінів  $B_6$ ,  $B_9$  і  $B_{12}$  та фолату, також впливають на метаболізм ГЦ, оскільки перетворення ГЦ до метіоніну потребує метилкобаламіну та метилфолату, а утилізація ГЦ, яка відбувається через синтез цистатіоніну, вимагає наявності піридоксальфосфату [47].

Використання комбінації вітамінів  $B_6$  (2-50 мг/день),  $B_9$  (0,4-10 мг/день) та  $B_{12}$  (0,02-1 мг/день), а також бетайну та холіну проявляє гіпогомоцистеїнемічну дію. При відсутності їх у дієті, а також надлишку метіоніну індукується розвиток ГЦ [6, 47], що є вагомим доказом причетності цих нутрієнтів до регуляції гомеостазу ГЦ.

На статус ГЦ впливає також недостатня забезпеченість організму рибофлавіном, оскільки фермент метилентетрагідрофолатредуктаза є ФАД-залежним [6, 20].

Ураження нирок і ниркова недостатність викликають значну ГЦ, що пояснюється участю нирок в елімінації ГЦ з плазми крові [6, 34].

*Набуті та генетичні захворювання та їх роль у розвитку ГЦ.*

Певний науковий інтерес становлять нові отримані дані щодо захворювань, які супроводжуються розвитком ГЦ. Серед них виділяють атеросклероз, гіпертонічну хворобу, інфаркт, інсульт, тромбози периферичних артерій та вен [10, 18], хронічну ниркову недостатність [21, 23], цукровий діабет та гіпотиреоз [11, 16], нервово-психічні патологічні стани – хворобу Альцгеймера, розсіяний склероз,

епілепсію, хворобу Паркінсона, периферичні нейропатії, депресивні стани, шизофренію, деменцію [17, 32, 49], уроджені вади, такі, як дефекти нервової трубки, аненцефалія [14], акушерські патології – гестози вагітних, передчасне відшарування плаценти, невиношування вагітності, гіпоксію плода [27], а також онкологічні захворювання, серед яких особливо чіткий зв'язок з ГГЦ встановлено для лейкозів та колоректального раку [33].

#### *Вплив глюкокортикоїдів на метаболізм ГЦ.*

В літературі також існують поодинокі публікації щодо позитивного впливу замісної гормонотерапії з використанням глюкокортикоїдів та позитивного впливу на метаболізм ГЦ. Показано, що в щурів, яким проводили адреналектомію, концентрація ГЦ у сироватці підвищувалась, тоді як замісна терапія дексаметазоном сприяла нормалізації рівня цієї амінокислоти [15, 45].

Таким чином, розглянутий нами обмін ГЦ, метіоніну та цистеїну, з одного боку, свідчить про спільність шляхів деградації сірковмісних амінокислот та важливу роль обміну ГЦ у регуляції метаболізму метіоніну та цистеїну, а з іншого – є доказом значимості цих амінокислот та їх метаболітів, у тому числі  $H_2S$ , в регуляції фізіологічних процесів. Варто не забувати важливість забезпеченості організму вітамінами  $B_2$ ,  $B_6$ ,  $B_{12}$  та фолієвою кислотою. При цьому на рівень ГЦ домінуючий вплив чинить забезпеченість організму фолієвою кислотою. Підвищують рівень ГЦ також надлишок метіоніну в дієті, шкідливі звички, а також малорухомий спосіб життя. Подальші дослідження аспектів обміну сірковмісних амінокислот дозволять покращити розуміння механізмів формування патологічних станів, асоційованих з порушеннями їх обміну, та оптимізувати підходи до їх фармакотерапії.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вереткин А.Л., Тополянский А.В. Проблема гипергомоцистеинемии у кардиологических больных // Фарматека. – 2007. – № 15. – С. 10-14.
2. Коржов В.И. Роль системы глутатиона в процессах детоксикации и антиоксидантной защиты // Журн. АМН України. – 2007. – **13**, № 1. – С. 3-19.
3. Костюченко Г.И. Гипергомоцистеинемия: клиническое значение, возрастные особенности, диагностика и коррекция // Клиническая геронтология. – 2007. – **13**, № 4. – С. 32-40.
4. Костюченко Г.И., Баркаган З.С. Гипергомоцистеинемия и коронарная болезнь сердца как проблема пожилого возраста // Клиническая геронтология. – 2003. – **9**. – С. 9-12.
5. Мурадян Х.К., Утко Н.А., Мозжухина Т.Г. и др. Каталаза и глутатионпероксидаза: качественно различная корреляция со скоростью потребления кислорода // Укр. біохім. журн. – 2004. – **76**, № 3. – С. 36-41.
6. Пентюк О.О., Луцюк М.Б., Андрушко І.І., Поставітенко К.П. Метаболізм гомоцистеїну та його роль у патології // Укр. біохім. журн. – 2003. – **75**, № 1. – С. 5-17.
7. Суханов С.Г., Таубер О.Н. Гипергомоцистеинемия и коронарный атеросклероз // Вестник СамГУ – Естественнонаучная серия. – 2007. – № 2 (52). – С. 285-293.
8. Хубутія М.Ш., Шевченко О.П. Гомоцистеїн при коронарній хворобі серця і серцевого трансплантата. – М.: Рефарм, 2004. – 272 с.
9. Чиркова Н.Н., Кисляк О.А. Гипергомоцистеинемия как фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний // Лечебное дело. – 2006. – № 2. – С. 48-52.
10. Шевченко О.П., Онефриенко Г.А. Гипергомоцистеинемия и её клиническое значение // Лаборатория. – 2002. – № 1. – С. 3-7.
11. Audelin M.C., Genest J.Jr. Homocysteine and cardiovascular disease in diabetes mellitus // Atherosclerosis. – 2001. – **159**. – P. 497-511.
12. Bagi Z., Ungvari Z., Koller A. Xanthine oxidase-derived reactive oxygen species convert flow-induced arteriolar dilation to constriction in hyperhomocysteinemia: possible role of peroxynitrite // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2002. – **22** (1). – P. 28-33.
13. Baric I., Fumic K. S-adenosylhomocysteine hydrolase deficiency in a human: a genetic disorder of methionine metabolism // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2004. – **101**, № 12. – P. 4234-4239.
14. Beaudin A.E., Stover P.J. Folate-mediated one-carbon metabolism and neural tube defects: balancing genome synthesis and gene expression // Birth. Defects Res. C. Embryo Today. – 2007. – **81**. – P. 183-203.
15. Brotman D.J., Girod J.P., Garcia M.J. et al. Effects of short-term glucocorticoids on cardiovascular biomarkers // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2005. – **90** (6). – P. 3202-3208.
16. Cakal B., Cakal E., Demirbas B. Homocysteine and fibrinogen changes with L-thyroxine in subclinical hypothyroid patients // J. Korean. Med. Sci. – 2007. – **22** (3). – P. 431-435.
17. Chwatko G., Jakubowski H. The determination of homocysteine-thiolactone in human plasma // Anal. Biochem. – 2005. – **337**. – P. 271-277.
18. De Bree F., Verschuren W., Kromhout D. et al. Homocysteine determinants and the evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary

- heard disease // *Pharmacol. Rev.* – 2002. – **54**. – P. 599-618.
19. Dombkowski R.A., Russell M.J., Olson K.R. Hydrogen sulfide as an endogenous regulator of vascular smooth muscle tone in trout // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2004. – **286**, № 4. – P. 678-685.
20. Ebbing M., Bleie O., Ueland P.M. Mortality and cardiovascular events in patients treated with homocysteine-lowering B vitamins after coronary angiography: a randomized controlled trial // *JAMA.* – 2008. – **300** (7). – P. 795-804.
21. Ferechide D., Radulescu D. Hyperhomocysteinemia in renal diseases // *J. Med. Life.* – 2009. – **2** (1). – P. 53-59.
22. Finkelstein J.D. Pathways and Regulation of Homocysteine Metabolism in Mammals // *Seminars in Thrombosis and Hemostasis.* – 2000. – **26**, № 3. – P. 219-225.
23. Friedman A.N., Bostom A.G., Selhub J. et al. The Kidney and Homocysteine Metabolism // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2001. – **12**, № 10. – P. 2181-2189.
24. Furst P., Stehle P. What are the essential elements needed for the determination of amino acid requirements in humans? // *J. Nutr.* – 2004. – **134** (6 Suppl). – P. 1558-1565.
25. Garlick P.J. Toxicity of Methionine in Humans // *J. Nutr.* – 2006. – **136**, № 6. – P. 1722-1725.
26. Guttormsen A.B., Ueland P.M., Kruger W.D. et al. Disposition of homocysteine in subjects heterozygous for homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency: relationship between genotype and phenotype // *Am. J. Med. Genet.* – 2001. – **100**, № 3. – P. 204-213.
27. Herrmann M., Taban-Shomal O., Muller S. et al. Hyperhomocysteinemia-the biochemical link between a weak heart and brittle bones? // *Clin. Lab.* – 2006. – **52** (3-4). – P. 137-147.
28. Hildebrandt T.M., Grieshaber M.K. Three enzymatic activities catalyze the oxidation of sulfide to thiosulfate in mammalian and invertebrate mitochondria // *FEBS J.* – 2008. – **275**, № 13. – P. 3352-3361.
29. Jacobsen D.W. Homocysteine and vitamins in cardiovascular disease // *Clinical Chemistry.* – 1998. – **44**. – P. 1833-1843.
30. Jamison R.L., Hartigan P., Gaziano J.M. Design and statistical issues in the homocysteinemia in kidney and end stage renal disease (HOST) study // *Clin. Trials.* – 2004. – **1**, № 5. – P. 451-460.
31. Kashiba M., Kajimura M., Nobuhito Goda N., Suematsu M. From O<sub>2</sub> to H<sub>2</sub>S: a landscape view of gas biology // *Keio. J. Med.* – 2002. – **51**, № 1. – P. 1-10.
32. Kidd P.M. Alzheimer's disease, amnesic mild cognitive impairment, and age-associated memory impairment: current understanding and progress toward integrative prevention // *Altern. Med. Rev.* – 2008. – **13**. – P. 85-115.
33. Kishi T., Tanaka Y., Ueda K. Evidence for hypomethylation in two children with acute lymphoblastic leukemia and leukoencephalopathy // *Cancer.* – 2000. – **15**, № 89 (4). – P. 925-931.
34. Kumagai H., Katoh S., Hirosawa K. et al. Renal tubulointerstitial injury in weanling rats with hyperhomocysteinemia // *Kidney Int.* – 2002. – **62** (4). – P. 1219-1228.
35. Li L., Bhatia M., Moore P.K. Hydrogen sulphide-a novel mediator of inflammation? // *Curr. Opin. Pharmacol.* – 2006. – **6** (2). – P. 125-129.
36. Lowicka E., Beltowski J. Hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) – the third gas of interest for pharmacologists // *Pharmacological Reports.* – 2007. – **59**, № 1. – P. 4-24.
37. Mager A., Battler A., Birnbaum Y. et al. Plasma homocysteine, methylenetetrahydrofolate reductase genotypes, and age at onset of symptoms of myocardial ischemia // *Am. J. Cardiol.* – 2002. – **89**, № 8. – P. 919-923.
38. Matthews R.G. Methylenetetrahydrofolate reductase: A common human polymorphism and its biochemical implications // *Chem. Rec.* – 2002. – **2**, № 1. – P. 4-12.
39. Meier M., Janosik M., Kery V. et al. Structure of human cystathionine beta-synthase: a unique pyridoxal 5'-phosphate-dependent heme protein // *EMBO J.* – 2001. – **20**, № 15. – P. 3910-3916.
40. Nagy P., Ashby M.T. Kinetics and mechanism of the oxidation of the glutathione dimer by hypochlorous acid and catalytic reduction of the chloroamine product by glutathione reductase // *Chem. Res. Toxicol.* – 2007. – **20**, № 1. – P. 79-87.
41. Nygard O., Nordrehaug L.E., Refsum N. et al. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease // *N. Engl. J. Med.* – 1997. – **337**. – P. 230-236.
42. Ozmen I. Evaluation of effect of some corticosteroids on glucose-6-phosphate dehydrogenase and comparative study of antioxidant enzyme activities // *J. Enzyme Inhibit. Medicinal Chem.* – 2005. – **20**, № 1. – P. 19-24.
43. Reeds P.J. Dispensable and indispensable amino acids for humans // *J. Nutr.* – 2000. – **130**. – P. 1835-1840.
44. Refsum H., Nurk E., Smith A.D. et al. The Hordaland Homocysteine Study: a community-based study of homocysteine, its determinants, and associations with disease // *J. Nutr.* – 2006. – **136** (6 Suppl). – P. 1731-1740.
45. Rowling M.J., Schalinske K.L. Retinoic acid and glucocorticoid treatment induce hepatic glycine N-methyltransferase and lower plasma homocysteine concentrations in rats and rat hepatoma cells // *J. Nutr.* – 2003. – **133** (11). – P. 3392-3398.
46. Roybal C.N., Yang S., Sun C.W. et al. Homocysteine increases the expression of VEGF by a mechanism involving endoplasmic reticulum stress and transcription factor ATF4 // *J. Biol. Chem.* – 2004. – **279**. – P. 14844-14852.
47. Selhub J., Morris M.S., Jacques P.F., Rosenberg I.H. Folate-vitamin B-12 interaction in relation to cognitive impairment, anemia, and biochemical indicators of vitamin B-12 deficiency // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2009. – **89** (2). – P. 702-706.
48. Stipanuk M.H., Dominy J.E., Lee J.I., Coloso R.M. Mammalian cysteine metabolism: new insights into regulation of cysteine metabolism // *J. Nutr.* – 2006. – **136**, № 6. – P. 1652-1659.

49. Tolmunen T., Hintikka J., Voutilainen S. et al. Association between depressive symptoms and serum concentrations of homocysteine in men: a population study // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2004. – **80**. – P. 1574-1578.
50. Tyagi N., Sedoris K.C., Steed M., Ovechkin A.V. Mechanisms of homocysteine-induced oxidative stress // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2005. – **289**. – P. 2649-2656.
51. Ueland P.M., Hustad S., Schneede J. et al. Biological and clinical implications of the MTHFR C677T polymorphism // *Trends Pharmacol. Sci.* – 2001. – **22**, № 4. – P. 195-201.
52. Whiteman M., Li L., Kostetski I. et al. Evidence for the formation of a novel nitrosothiol from the gaseous mediators nitric oxide and hydrogen sulphide // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2006. – **343**, № 1. – P. 303-310.
53. Yang Z.Z., Zou A.P. Homocysteine enhances TIMP-1 expression and cell proliferation associated with NADH oxidase in rat mesangial cells // *Kidney Int.* – 2003. – **63** (3). – P. 1012-1020.
54. Yap S., Naughten E.R., Wilcken B. et al. Vascular complications of severe hyperhomocysteinemia in patients with homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency: effects of homocysteine-lowering therapy // *Semin. Thromb. Hemost.* – 2000. – **26**, № 3. – P. 335-340.

**В.М. Нечипорук, М.М. Корда**

ВИННИЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ М.И. ПИРОГОВА  
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

## СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ОБМЕНА СЕРОСОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТ

### Резюме

В обзоре представлены результаты исследований по обмену гомоцистеина (ГЦ), метионина, цистеина и их роли в физиологических и патологических процессах. Рассмотрены процессы утилизации ГЦ метиониновым и цистеиновым путями, полиморфизм ферментов обмена ГЦ, пути вхождения метионина в процессы метилирования субстратов, источники и формы ГЦ, уровень ГЦ в плазме крови, роль гипергомоцистеинемии, гомоцистинурии в патогенезе сердечно-сосудистых и других заболеваний. Описаны метаболизм цистеина и образование из него глутатиона. Рассмотрено влияние ГЦ на антиоксидантную защиту клетки. Описаны возможные механизмы синтеза регуляторной газовой молекулы  $H_2S$  из цистеина и ГЦ. Отмечена роль витаминов  $B_2$ ,  $B_6$ ,  $B_9$  и  $B_{12}$  в обмене серосодержащих аминокислот, в частности ГЦ, их взаимосвязь с развитием гипергомоцистеинемии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гомоцистеин, метионин, цистеин, глутатион, водорода сульфид, витамины  $B_2$ ,  $B_6$ ,  $B_9$  и  $B_{12}$ , гипергомоцистеинемия, обмен, регуляция.

**V.M. Nechiporuk, M.M. Korda**

M.I. PIROHOV VINNITSA NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY  
I.YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

## MODERN ASPECTS OF SULFUR CONTAINING AMINO ACIDS METABOLISM

### Summary

The review elucidates the results of research on metabolism of homocysteine (HC), methionine, cysteine and their role in physiological and pathological processes. The following processes are considered: mechanism of homocysteine utilization by methionine and cysteine pathways, polymorphism of homocysteine metabolism enzymes, entry ways of methionine into the process of substrates methylation, sources and forms of homocysteine and its level in blood plasma, role of hyperhomocysteinemia and homocysteinuria in the pathogenesis of cardiovascular and other diseases. Metabolism of cysteine and formation of glutathione have been described. Considered The HC effects on antioxidant cell system has been shown. The possible mechanisms of the synthesis of regulatory gaseous molecule  $H_2S$  from cysteine and HC have been described. The role of vitamins  $B_2$ ,  $B_6$ ,  $B_9$  and  $B_{12}$  in the metabolism of sulfur-containing amino acids, in particular homocysteine, and their relation to the development of hyperhomocysteinemia have been also considered.

KEY WORDS: homocysteine, methionine, cysteine, glutathione, hydrogen sulfide, vitamins  $B_2$ ,  $B_6$ ,  $B_9$  and  $B_{12}$ , hyperhomocysteinemia, metabolism.

Отримано 17.05.10

Адреса для листування: В.М. Нечипорук, Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, вул. Пирогова, 56, Вінниця, 21018, Україна.

## Шановні колеги!

Ми звертаємося до всієї 350-тисячної армії працівників фармацевтичної галузі. Незалежно від того, де ви працюєте – в аптеці чи оптовій фармацевтичній фірмі, на промисловому підприємстві чи у лабораторії з аналізу якості лікарських засобів, у дистриб'юторській компанії, у вищому навчальному закладі чи науково-дослідному інституті, у Держлікинспекції чи представництві фармацевтичної компанії, видавництві – ми впевнені, що вам не байдужа доля галузі. І ця доля – в наших руках.

Хочеться, щоб цей форум запам'ятався фахівцям галузі не тільки дружньою атмосферою, але й окреслив напрямки розвитку фармації у найближчий період, надав галузі нові, такі необхідні нормативні документи, що дозволять ефективно працювати в умовах сьогодення, і створять передумови для визнання України фармацевтичною державою.

Ми пам'ятаємо визначні події, які відбулися під час проведення попередніх з'їздів фармацевтів України: запровадження нашого професійного свята – Дня фармацевтичного працівника, та звання «Заслужений працівник фармації України». Давайте разом докладемо всіх можливих зусиль, щоб і VII Національний з'їзд фармацевтів України залишив яскравий слід у наших серцях та добру згадку для нащадків.

Запрошуємо вас, шановні колеги, до активного спілкування напередодні нашого фармацевтичного форуму. Впевнені, що загальними зусиллями ми допоможемо нашій галузі впевнено крокувати вперед, мати оновлену нормативну базу, цивілізований фармацевтичний ринок, високопрофесійну команду виробників, науковців, освітян.

*З повагою, В. Черних,  
ректор Національного фармацевтичного університету*

*З приводу організації та проведення з'їзду звертайтеся в оргкомітет: Харків, Національний фармацевтичний університет, тел.: (057) 758-82-02 – Котвіцька Алла Анатоліївна, проректор з навчально-педагогічної роботи, E-mail з'їзду: [pharmcongress@ukr.net](mailto:pharmcongress@ukr.net)*

