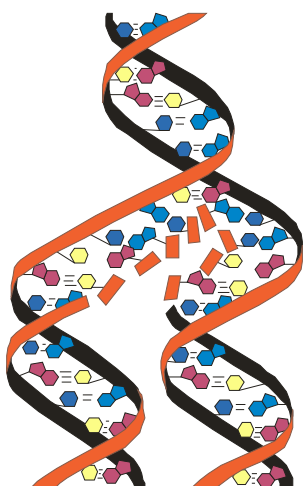


Всеукраїнська громадська наукова організація "Українська академія наук"
ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського"

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

3(48) TOM 13
2011

- ❖ *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 № 4 від 27 вересня 2011 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", 2011
© Scientific Journal "Medical Chemistry", 2011

Зміст

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Великий М. М., Апуховська Л. І., Хоменко А. В., Шиманський І. О., Василевська В. М., Лотоцька О. Ю., Безусяк А. І., Макарова О. О. (Київ) ОСОБЛИВОСТІ ГІПОКАЛЬЦІЄМІЧНОЇ ДІЇ ПРЕДНІЗОЛОНУ ЗА РІЗНОЇ ЗАБЕЗПЕЧЕНОСТІ ОРГАНІЗМУ ЩУРІВ ВІТАМІНОМ D₃

5

Жукова А. І., Краснобрижа Є. М., Гаврилюк С. П., Волков Г. Л. (Київ, Монголія) РОЗРОБКА МЕТОДІВ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ЦІЛЬОВИХ БІЛКІВ ОТРУТИ ЗМІЙ РОДУ *AGKISTRODON*

13

Воробець Н. М. (Львів) *CALAMINTHA OFFICINALIS* ЯК ДЖЕРЕЛО ЖИРНИХ КИСЛОТ

20

Длябога Ю. З. (Львів) КОНЦЕНТРАЦІЯ НЕЕТЕРИФІКОВАНИХ ФОРМ ЖИРНИХ КИСЛОТ У ПЛАЗМІ КРОВІ, ПЕЧІНЦІ ТА СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗАХ ЩУРІВ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМІЇ ТА ВПЛИВУ РИБ'ЯЧОГО ЖИРУ

24

Іскра Р. Я. (Львів) МІКРОЕЛЕМЕНТИ ТКАНИН ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ ЩУРІВ ЗА ДІЇ ХЛОРИДУ І НАНОЦИТРАТУ ХРОМУ

31

Хара М. Р., Михайлюк В. М. (Тернопіль) СТАТЕВІ ОСОБЛИВОСТІ МЕТАБОЛІЧНИХ ЗМІН У МІОКАРДІ ТВАРИН З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ГІПОТИРЕОЗОМ

36

Алмохамад Жумаа Абдуллах, Гладисhev В. В., Лисянська А. П., Кечин І. Л. (Запоріжжя) ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ КОНЦЕНТРАЦІЇ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН НА ВИВІЛЬНЕННЯ КАПТОПРИЛУ З РЕКТАЛЬНИХ СУПОЗИТОРІВ

41

Мамедова С. О., Павлій О. І. (Харків) ВИВЧЕННЯ ЛІПОФІЛЬНИХ СПОЛУК ВЕГЕТАТИВНИХ ОРГАНІВ СУНИЦІ ЛІСОВОЇ

44

Попик А. І., Кисличенко В. С., Король В. В., Кочкіна О. С. (Харків) ХРОМАТО-МАС-СПЕКТРОМЕТРИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФІРНОЇ ОЛІЇ *SYRINGA VULGARIS* L.

47

Ісаєв С. Г., Бризицький О. А., Афанасьєва В. В., Єрьоміна З. Г., Динник К. В., Кизь О. В. (Харків) МЕТОКСИЗАМІЩЕНІ 5-НІТРО-9-Н-АРИЛАМІНОАКРИДИНИ, ЇХ СИНТЕЗ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ

51

Гарна С. В., Здорик О. А., Георгіянци В. А. (Харків) ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИК ЯКІСНОГО ТА КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ПІРИДОКСИНУ ГІДРОХЛОРИДУ В РОЗЧИНІ ДЛЯ ПИТТЯ "СЕДАВІТ"

55

Пругло Є. С., Гоцуля Т. С., Панасенко О. І., Книш Є. Г. (Запоріжжя) СИНТЕЗ ТА НЕЙРОТРОПНА АКТИВНІСТЬ ПОХІДНИХ ГАЛОГЕНІДІВ 1-R-4-(ФУРАН-2-ІЛ-МЕТИЛАМІНО)-4H-1,2,4-ТРИАЗОЛУ

60

Залізник М. С. (Тернопіль) КАЛЬЦІЙ-ФОСФОРНИЙ ОБМІН ТА СТАН МЕТАБОЛІЗМУ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ У ХВОРИХ НА ГЕНЕРАЛІЗОВАНИЙ ПАРОДОНТИТ ІЗ СУПУТНИМ ОСТЕОАРТРОЗОМ

63

Логойда Л. С., Вронська Л. В. (Тернопіль) КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ КИСЛОТИ РОЗМАРИНОВОЇ У ТАБЛЕТКАХ, ЯКІ МІСТЯТЬ СУХІ ЕКСТРАКТИ ВАЛЕРІАНИ І МЕЛІСИ ТА ГЛІЦИН

67

Contents

ORIGINAL INVESTIGATIONS

Velykyi M. M., Apukhovska L. I., Khomenko A. V., Shymanskyi I. O., Vasylevska V. M., Lototska O. Yu., Bezusiak A. I., Makarova O. O. (Kyiv) FEATURES OF HYPOCALCEMIC ACTION OF PREDNISOLONE AT DIFFERENT AVAILABILITY OF RATS WITH VITAMIN D₃

5

Zhukova A. I., Krasnobryzha Ye. M., Havrylyuk S. P., Volkov H. L. (Kyiv, Mongolia) THE METHODS DEVELOPMENT FOR TARGET PROTEINS IDENTIFICATION IN THE *AGKISTRODON* SNAKE VENOM

13

Vorobets N. M. (Lviv) *CALAMINTHA OFFICINALIS* AS A SOURCE OF FATTY ACIDS

20

Dlyaboha Yu. Z. (Lviv) CONCENTRATION OF NONETHERIFIED FORMS OF FATTY ACIDS IN THE PLASMA OF BLOOD, LIVER AND SKELETAL MUSCLES OF RATS AT EXPERIMENTAL HYPERCHOLESTERENEMIA AND INFLUENCE OF FISH OIL

24

Iskra R. Ya. (Lviv) RATS' INNER ORGANS TISSUES MICROELEMENTS AT ACTION OF CHLORIDE AND CHROMIUM NANOCITRATE

31

Khara M. R., Mykhailiuk V. M. (Ternopil) SEX PECULIARITIES OF METABOLIC CHANGES IN MYOCARDIUM OF ANIMALS WITH EXPERIMENTAL HYPOTHYREOSIS

36

Almohamad Zhumaa Abdullah, Hladyshev V. V., Lysianska A. P., Kechyn I. L. (Zaporizhzhya) STUDYING OF INFLUENCE OF CONCENTRATION OF SURFACE-ACTIVE SUBSTANCES ON RELEASE OF CAPTOPRIL FROM RECTAL SUPPOSITORIES

41

Mamedova S. O., Pavliy O. I. (Kharkiv) THE STUDY OF LIPOPHYLLIC COMPOUNDS OF VEGETATIVE PARTS OF STRAWBERRY

44

Popyk A. I., Kyslychenko V. S., Korol V. V., Kochkina O. S. (Kharkiv) CHROMATO-MASS-SPECTROMETRIC RESEARCH OF ESSENTIAL OIL OF *SYRINGA VULGARIS* L.

47

Isayev S. H., Bryzyskyi O. A., Afanasyeva V. V., Yeriomina Z. H., Dynnyk K. V., Kyz O. V. (Kharkiv) METOXISUBSTITUTED OF 5-NITRO-9-N-ARYLAMINOACRIDINES, SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY

51

Harna S. V., Zdoryk O. A., Heorhiyants V. A. (Kharkiv) THE VALIDATION OF THE QUALITATIVE AND QUANTITATIVE DETERMINATION METHODS OF PYRIDOXINE HYDROCHLORIDE IN THE SOLUTION FOR DRINK "SEDAVITUM"

55

Pruhlo Ye. S., Hotsulya T. S., Panasenko O. I., Knysh Ye. H. (Zaporizhzhya) SYNTHESIS AND NEUROTROPIC ACTIVITY OF DERIVATIVES OF 1-R-4-(FURAN-2-IL-METYLENAMINO)-4H-1,2,4-TRIAZOLE HALOGENIDES

60

Zalizniak M. S. (Ternopil) CALCIUM-PHOSPHORUS EXCHANGE AND BONE METABOLISM IN PATIENTS WITH GENERALIZED PERIODONTITIS WITH CONCOMITANT OSTEOARTHIRITIS

63

Lohoyda L. S., Vronska L. V. (Ternopil) QUANTITATIVE DETERMINATION OF ACID ROSMARINIC IN TABLETS, CONTAINING DRY VALERIAN EXTRACTS AND MELISSA AND GLYCINE

67

Андрейчин Ю. М. (Тернопіль) КЛІНІКО-ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ ПРИ ВЕРХНЬОЩЕЛЕПНОМУ СИНУСИТІ	72	Andreychyn Yu. M. (Ternopil) CLINICAL AND PATHOGENETIC SIGNIFICANCE OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN MAXILLARY SINUSITIS
Івануса І. Б. (Тернопіль) ВПЛИВ ТІОТРИАЗОЛІНУ НА ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ, ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ ТА ЕНДОГЕННІ ІНТОКСИКАЦІЇ У ЩУРІВ З ТОКСИЧНИМ УРАЖЕННЯМ АЦЕТАМІНОФЕНОМ НА ТЛІ ТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ ЕСТРОГЕНІВ І ПРОГЕСТИНІВ	75	Ivanusa I. B. (Ternopil) EFFECT OF THIOTRIAZOLINE ON SOME PARAMETERS OF ANTIOXIDANT SYSTEM, FREE RADICAL OXIDATION AND ENDOGENOUS INTOXICATION IN RATS WITH TOXIC AFFECTION BY ACETAMINOPHEN ON THE BACKGROUND OF LONG-TERM ESTROGEN AND PROGESTIN INTRODUCTION
Щербина Р. О., Панасенко О. І., Книш Є. Г. (Запоріжжя) PASS-СКРИНІНГ МОЖЛИВИХ ВИДІВ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ 2-(4Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ІЛТІО)АЦЕТАЛЬДЕГІДУ	81	Shcherbyna R. O., Panasenko O. I., Knysh Ye. H. (Zaporizhzhya) PASS-SCREENING OF POSSIBLE BIOLOGICAL ACTIVITY OF DERIVATES 2-(4H-1,2,4-TRIAZOLE-3-YLTHIO)ACETALDEHYDE
Привроцька І. Б., Покотило О. С. (Тернопіль) ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД ЛІПІДІВ ПЕЧІНКИ ЗА УМОВ ГОСТРОГО АРГІНІНОВОГО ПАНКРЕАТИТУ В ЩУРІВ	85	Pryvrotska I. B., Pokotylo O. S. (Ternopil) FATTY ACID COMPOSITION OF LIVER LIPID AT ACUTE ARGININE PANCREATITIS IN RATS
Колодницька Г. Б., Корда М. М. (Тернопіль) ПЕРЕБІГ ЛІПОПОЛІСАХАРИДНОГО ЗАПАЛЕННЯ ЯСЕН ПРИ ІНСУЛІНОЗАЛЕЖНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ	91	Kolodnytska H. B., Korda M. M. (Ternopil) PECULIARITIES OF LIPOPOLYSACCHARIDE INFLAMMATION OF GUMS AT INSULIN DEPENDENT DIABETES MELLITUS
Марчишин С. М., Амброзюк О. Б. (Тернопіль) ДОСЛІДЖЕННЯ ЛІПОФІЛЬНОЇ ФРАКЦІЇ ТРАВИ ПЕРСТАЧУ ГУСЯЧОГО (POTENTILLA ANSERINA L.)	96	Marchyshyn S. M., Ambroziuk O. B. (Ternopil) RESEARCH OF LIPOPHYLLIC FRACTION OF FINGER GOOSE (POTENTILLA ANSERINA L.)
Коровенкова О. М., Косуба Р. Б. (Чернівці) ВПЛИВ ОДНОРАЗОВОГО ТА БАГАТОРАЗОВОГО ВВЕДЕННЯ ТІОЦЕТАМУ НА ЕКСКРЕТОРНУ ФУНКЦІЮ НИРОК ЗА УМОВ ВОДНОГО НАВАНТАЖЕННЯ	100	Korovenkova O. M., Kosuba R. B. (Chernivtsi) EFFECT OF SINGLE AND MULTIPLE INTRODUCTION TIOTSETAMA FOR RENAL FUNCTION UNDER CONDITIONS OF WATER STRESS
Корнієнко В. І., Самура Б. А., Романенко М. І., Мартинюк О. О. (Харків, Запоріжжя) ВПЛИВ АМОНІЙНИХ СОЛЕЙ 1-Н-МЕТИЛБЕНЗИЛТЕОБРОМІН-8-АМІНООЦТОВОЇ КИСЛОТИ НА ЗБУДЛИВІСТЬ ВІСЦЕРАЛЬНИХ НОЦИЦЕПТОРІВ І ПЕРЕБІГ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ЗАПАЛЬНОЇ РЕАКЦІЇ У ЩУРІВ	105	Korniyenko V. I., Samura B. A., Romanenko M. I., Martyniuk O. O. (Kharkiv, Zaporizhzhya) INFLUENCE OF 1-N-METHYLBENZILTHEOBROMIN-8-AMINOACETIC ACID'S AMMONY SALTS TO EXCITABILITY OF VISCERAL NOCICEPTORS AND TENDENCY OF EXPERIMENTAL INFLAMMATORY REACTION ON RATS
Загайко А. Л., Филимоненко В. П., Красільнікова О. А., Вороніна Л. М., Сенюк І. В. (Харків) БІОДОСТУПНІСТЬ І АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ ПОЛІФЕНОЛІВ З НАСІННЯ ВИНОГРАДУ У ВІЛЬНОМУ ВИГЛЯДІ ТА У СКЛАДІ ФІТОСОМ	109	Zahayko A. L., Fylymonenko V. P., Krasilnikova O. A., Voronina L. M., Senyuk I. V. (Kharkiv) BIOAVAILABILITY AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF POLYPHENOLS FROM GRAPE'S SEEDS IN FREE KIND AND IN PHYTOSOMES
Сологуб В. А., Грицик Л. М., Грицик А. Р. (Івано-Франківськ) ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ ДІЇ МАЗІ З ЕКСТРАКТОМ ЗВІРОБОЮ ЗВИЧАЙНОГО	113	Solohub V. A., Hrytsyk L. M., Hrytsyk A. R. (Ivano-Frankivsk) RESEARCH OF ANTI-INFLAMMATORY EFFECT OF OINTMENT WITH AN EXTRACT OF HYPERICUM PERFORATUM L.
Кузьмак І. П., Клішч І. М. (Тернопіль) ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ПРОТЕІНАЗО-ІНГІБІТОРНОЇ СИСТЕМИ У ЩУРІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ ПЕРІОДІВ ЗА УМОВ ГОСТРОГО ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ БЛІДОЮ ПОГАНКОЮ	116	Kuzmak I. P., Klishch I. M. (Ternopil) THE CHANGES OF PROTEINASE-INHIBITORY SYSTEM INDICES IN RATS OF DIFFERENT AGE IN CASE OF AMANITA PHALLOIDES INJURY
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ		LITERATURE REVIEW
Цубер В. Ю., Тарасенко Л. М. (Полтава) СЛИННА АЛЬФА-АМІЛАЗА ЯК МАРКЕР СТРЕСОРНОЇ РЕАКЦІЇ ОРГАНІЗМУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	121	Tsuber V. Yu., Tarasenko L. M. (Poltava) SALIVARY ALPHA-AMYLASE AS A MARKER OF STRESSOR REACTION OF THE ORGANISM (LITERATURE REVIEW)
ІСТОРІЯ БІОХІМІЇ		HISTORY OF BIOCHEMISTRY
Барштейн В. Ю. (Київ) УСПІХИ ХІМІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ СЕЧІ В КІНЦІ ХVІІІ-ПЕРШІЙ ТРЕТИНИ ХІХ СТ. У ПАМ'ЯТКАХ МАТЕРІАЛЬНОЇ КУЛЬТУРИ	126	Barshteyn V. Yu. (Kyiv) SUCCESSES OF URINE CHEMICAL RESEARCHES AT THE END OF XVII AND IN THE FIRST THIRD OF XIX CENTURY IN THE MONUMENTS OF MATERIAL CULTURE

М. М. Великий, Л. І. Апуховська, А. В. Хоменко, І. О. Шиманський,
В. М. Василевська, О. Ю. Лотоцька, А. І. Безусяк, О. О. Макарова
ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМЕНІ О. В. ПАЛЛАДІНА НАН УКРАЇНИ, КИЇВ

ОСОБЛИВОСТІ ГІПОКАЛЬЦІЄМІЧНОЇ ДІЇ ПРЕДНІЗОЛОНУ ЗА РІЗНОЇ ЗАБЕЗПЕЧЕНОСТІ ОРГАНІЗМУ ЩУРІВ ВІТАМІНОМ D₃

Досліджено гіпокальціємічну дію преднізолону залежно від забезпеченості організму вітаміном D₃. Показано, що введення преднізолону контрольним та D-гіпервітамінозним щурам знижує вміст кальцію, фосфору в сироватці крові та регулює активність лужної фосфатази в основному за рахунок її кісткової ізоформи. Механізм дії преднізолону на мінеральний обмін полягає у гальмуванні метаболізму вітаміну D₃.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: преднізолон, вітамін D₃, 25ОНD₃, вітамін D₃ 25-гідроксилазна активність, мінеральний обмін.

ВСТУП. Глюкокортикоїди, завдяки яскраво вираженим протизапальним та імунодепресивним властивостям, широко використовують у сучасній медицині, зокрема в лікуванні хронічних запальних процесів, таких, як ревматоїдні артрити (запальні патології суглобів), бронхіальна астма, алергії, колагенози. Для більшості аутоімунних захворювань глюкокортикоїди є базовими терапевтичними засобами. Однак довготривале застосування глюкокортикоїдів має ряд побічних ефектів, серед яких найбільш вираженим є розвиток остеопорозу – патології кісткової тканини, що призводить до втрати маси та щільності кісткової тканини, порушень архітектоники скелета, вірогідного збільшення ризику переломів кісток [7, 16, 19]. Одним із важливих факторів, що сприяють розвитку остеопорозу, є недостатність кальцію в організмі внаслідок хронічного D-гіповітамінозу, зумовленого або недостатнім надходженням холекальциферолу в організм, або порушенням його обміну, зокрема процесів гідроксилювання з утворенням активних форм – 25ОНD₃ та 1,25(ОН)₂D₃ [13, 20]. Особливо виражена недостатність вітаміну D₃ спостерігається у людей похилого віку, жінок постклімактеричного періоду, при довготривалому призначенні кортикостероїдів та онкологічних захворюваннях кісткової тканини [1, 21].

© М. М. Великий, Л. І. Апуховська, А. В. Хоменко, І. О. Шиманський, В. М. Василевська, О. Ю. Лотоцька, А. І. Безусяк, О. О. Макарова, 2011.

Адекватним та найбільш інформативним показником забезпеченості організму вітаміном D₃ вважають вміст його гідроксильованої форми 25ОНD₃ у сироватці крові. В нормі вміст 25ОНD₃ повинен перебувати в межах 100–150 нмоль·л⁻¹ (40–60 нг·мл⁻¹), що досягається завдяки щоденному прийманню щонайменше 2000 МО вітаміну D₃. Зниження вмісту 25ОНD₃ у сироватці крові менше 75 нмоль·л⁻¹ свідчить про недостатність вітаміну D₃, яка посилює ризик загострення хронічних захворювань, а вміст, менший 50 нмоль·л⁻¹, є показником глибокого D-гіповітамінозного стану (D-вітамінний дефіцит), що призводить до розвитку рахіту в дітей та остеомалачії у дорослих [14, 24]. Гіперкальціємія та гіпервітаміноз мають місце за концентрації 25ОНD₃ – 375–500 нмоль·л⁻¹, а токсичні прояви гіпервітамінозу D спостерігаються при рівні 25ОНD₃ у сироватці крові понад 750 нмоль·л⁻¹ (300 нг·мл⁻¹), що можливо при прийманні щодоби понад 40 000 МО вітаміну D₃ протягом тривалого часу [15].

Біологічні ефекти вітаміну D₃ реалізуються завдяки наявності специфічних ядерних рецепторів для активних метаболітів вітаміну D₃ (1,25(ОН)₂D₃ і 24,25(ОН)₂D₃) та через зміни експресії ряду генів. Зокрема, 1,25(ОН)₂D₃ регулює метаболізм кальцію шляхом підвищення абсорбції кальцію та фосфату в тонкій кишці, мобілізації кальцію з кісткової тканини й посилення реабсорбції кальцію в нирках [12]. Некальціємічна дія 1,25(ОН)₂D₃ полягає в його здатності прямо чи опосередковано вплива-

ти на експресію генів, залучених у регуляцію процесів проліферації, диференціації клітин, апоптозу та ангиогенезу. Основні ефекти $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ полягають у гальмуванні проліферації нормальних і трансформованих клітин та активації диференціації клітин різних типів [11, 22]. Тому за недостатності вітаміну D_3 порушується не лише мінеральний обмін, але й перш за все процеси проліферації та диференціації клітин, синтез специфічних протеїнів та ензимів, що забезпечують нормальне функціонування клітин і тканин організму [5].

Метою роботи було дослідити вплив преднізолону – синтетичної похідної гідрокортизону на метаболізм вітаміну D_3 і мінеральний обмін у щурів за нормального та надмірного надходження вітаміну D_3 (D-гіпервітаміноз).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на білих безпородних щурах масою (100 ± 5) г, яким щодобово вводили 0,5 та 1,0 мг преднізолону у вигляді водного розчину протягом 14 діб. D-гіпервітаміноз викликали шляхом щодобового введення тваринам по 30 000 МО (750 мкг) вітаміну D_3 у вигляді масляного розчину впродовж 5 діб. Препарати вводили внутрішньошлунково за допомогою зонда. Тварин з D-гіпервітамінозом поділили на дві групи: одну використовували в дослідженнях на 2-гу добу після закінчення введення вітаміну D_3 , іншу – на 9-ту. D-гіпервітамінозним щурам через 2 доби після закінчення введення холекальциферолу вводили протягом 5 діб по 9,0 мг преднізолону. Контрольну та дослідні групи тварин утримували на раціоні виварію.

Вміст активного метаболіту вітаміну D_3 – $25\text{OH}\text{D}_3$ у сироватці крові визначали після екстракції 0,5 мл сироватки сумішшю хлороформ–метанол (2:1), послідовного хроматографічного розділення на колонках з окисом алюмінію та LH-20 із наступним кількісним визначенням методом радіоконкурентного зв'язування [^3H] холекальциферолу згідно з описаним [3, 9]. Вітамін D_3 25-гідроксилазну активність визначали після інкубації гепатоцитів при 37°C протягом 2 год у середовищі, що містило: 0,146 мМ NaCl, 5,4 мМ KCl, 0,8 мМ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 2,0 мМ CaCl_2 , 0,7 мМ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 0,7 мМ KH_2PO_4 , 20 мМ HEPES, 1 % альбуміну та 100 мкМ неміченого вітаміну D_3 (вносили в 20 мкл абсолютного етанолу). Вітамін D_3 попередньо преінкубували протягом 30 хв у буфері з альбуміном для зв'язування холекальциферолу з транспортним протеїном-альбуміном [9]. рН середовища складало 7,4. Реакцію зупиняли шляхом внесення у проби

суміші розчинників хлороформ–метанол (2:1). Екстракцію, колонкову хроматографію та кількісне визначення утвореного в процесі реакції $25\text{OH}\text{D}_3$ проводили згідно з описаним для сироватки крові. Вітамін D_3 25-гідроксилазну активність виражали в пмолях утвореного $25\text{OH}\text{D}_3$ за 2 год інкубації на 10^6 гепатоцитів.

Гепатоцити отримували після інкубації тканини печінки у фосфатному буфері, що містив 0,05 % колагенази, при 37°C протягом 0,5 год з подальшим диференційним центрифугуванням [23]. Чистоту фракції гепатоцитів контролювали гістохімічним методом після їх фарбування гематоксилином Бомера. Кількість клітин підраховували у камері Горяєва.

Вміст кальцію та активність загальної лужної фосфатази (ЛФ) у сироватці крові визначали за допомогою біотест-наборів (ЛАХЕМА, Чехія), активність ізоензимів лужної фосфатази – з використанням інгібіторів відповідно до описаного [4]. Вміст неорганічного фосфору в сироватці крові визначали після осадження білків 12 % розчином ТХО кислоти методом Дусе [10].

Усі маніпуляції зі щурами проводили під легким ефірним наркозом та без порушень норм гуманного поводження з лабораторними тваринами, що не суперечить загальноприйнятим біоетичним нормам з дотриманням відповідних міжнародних положень стосовно проведення експериментальних робіт. Статистичну достовірність результатів оцінювали в програмі SigmaPlot2000 з використанням t-критерію Стюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Оскільки глюкокортикоїди залучені в регуляцію мінерального обміну, зокрема обміну кальцію, шляхом зниження його абсорбції у кишечнику й реабсорбції у нирках, було проведено дослідження впливу преднізолону на мінеральний обмін в організмі щурів. Наведені в таблиці 1 результати досліджень вказують на те, що введення 0,5 і 1,0 мг преднізолону щодоби протягом 14 діб викликало дозозалежне зменшення вмісту загального кальцію в сироватці крові на 15 та 25 % відповідно. При цьому зниження загального кальцію відбувалось за рахунок його фізіологічно активної (ультрафільтрувальної) фракції, оскільки кальцій у сироватці крові представлений декількома функціональними формами. Зокрема, невелика його частина зв'язана з протеїнами (альбуміном та глобулінами), тоді як переважна більшість кальцію перебуває в ультрафільтрувальній формі, що об'єднує іонізований (85 %) та хелатований (до 15 %) з

цитратом, фосфатами та бікарбонатом кальцій. За дії преднізолону в дозі 1,0 мг знижувався вміст як протеїнзв'язаної (на 48,2 %), так і ультрафільтрувальної (на 27,3 %) фракцій кальцію.

Відомо, що співвідношення між різними формами кальцію може змінюватись залежно від фізіологічного стану організму. Виявлене в наших дослідженнях зростання співвідношення ультрафільтрувальної форми до протеїнзв'язаної з 7,5 в контролі до 11,0 та 10,5 за введення різних доз преднізолону свідчить про виражене порушення мінерального обміну. Гіпокальціємія, зумовлена дією преднізолону, супроводжувалась слабовираженою гіпофосфатемією: вміст фосфору в сироватці крові знижувався на 17,1 %. На тлі гіпокальціємії та гіпофосфатемії, які було охарактеризовано за змінами вмісту різних форм кальцію та фосфатів у сироватці крові, прослідковувалась перерозподіл мінеральних компонентів у кістковій тканині. За відсутності змін зольності великогомілкової кістки щурів, яким вводили преднізолон, у золі, порівняно з контролем, знижувався вміст кальцію з (44,8±0,2) до (32,4±0,7) і (33,6±1,0) % та зростав вміст фосфору з (15,0±0,2) до (17,8±0,7) і (19,2±0,7) % відповідно залежно від дози преднізолону.

Порушення мінерального обміну в організмі супроводжувались збільшенням у сироватці крові активності загальної лужної фосфатази та її кишкового і кісткового ізоензимів (табл. 1). Основною ізоформою лужної фосфатази у сироватці крові є кісткова ізоформа, активність якої значно (в 4 рази) перевищує активність кишкової ізоформи ензиму. Активність загальної лужної фосфатази, порівняно з контролем, зростала на 43,3 і 64,2 % відповідно при введенні 0,5 і 1,0 мг преднізолону. Зміни активності кишкового і кісткового ізоензимів також були більш вираженими за ве-

дення великих доз преднізолону (1,0 мг), що свідчить про глибокі зміни в структурі та функції відповідних тканин. Зокрема, суттєве (в 2,2 раза) зростання активності кишкового ізоензиму лужної фосфатази у сироватці крові може бути показником посиленого виходу цього ізоензиму з еритроцитів у кров'яне русло, подібно як це має місце за умови D-гіповітамінозу [3]. Підвищення активності кісткового ізоензиму лужної фосфатази (на 65,2 %) свідчить про порушення структурно-функціонального стану цієї тканини та посилення процесу демінералізації кісток, індукованого преднізолоном.

Активність лужної фосфатази – ензиму, що забезпечує гідроліз фосфорноефірних зв'язків та перенесення фосфат-іонів на органічні компоненти перичелюлярного матриксу кісткової тканини, разом із вмістом кальцію та фосфатів, є важливим показником інтенсивності мінерального обміну в організмі. Наявність кісткової, кишкової та плацентарної ізоформ ензиму дає можливість використовувати визначення їх активності з метою діагностики захворювань відповідних органів [1]. Підвищення активності ензиму в сироватці крові виявляють при рахіті у дітей, при захворюваннях кісткової тканини, пов'язаних із збільшенням активності остеобластів чи розпадом кісткової тканини, карциномі кісткової тканини, метастазах пухлин у кістковій тканині, лімфогранулематозі з ураженням кісткової тканини. Тобто підвищення активності лужної фосфатази спостерігається не тільки у період інтенсивного росту кісткової тканини, але й при її ураженнях – остеопорозі, остеомаліції. При захворюваннях кісткової тканини підвищення активності загальної лужної фосфатази відбувається, головним чином, за рахунок кісткового ізоензиму, який вважають маркером захворювання на остеопороз.

Таблиця 1 – Вплив преднізолону на мінеральний обмін у сироватці крові контрольних щурів (M±m, n=10)

Досліджуваний показник	Контроль	Контроль+0,5 мг преднізолону	Контроль+1,0 мг преднізолону
Кальцій, ммоль·л ⁻¹			
загальний,	2,26±0,09	1,92±0,02*	1,71±0,02**
протеїнзв'язаний,	0,27±0,01	0,16±0,01	0,14±0,01*
ультрафільтрувальний	2,02±0,06	1,76±0,02*	1,47±0,04**
Фосфор неорганічний, ммоль·л ⁻¹	2,05±0,01	1,90±0,02*	1,70±0,02**
ЛФ, Од·л ⁻¹			
загальна,	249,0±0,8	356,8±1,7*	409,0±1,6**
кишкова ізоформа,	48,2±1,2	90,7±3,0*	108,0±2,0**
кісткова ізоформа	207,0±1,0	287,6±2,2*	342,0±3,0**

Примітка. * – різниця, порівняно з контролем, вірогідна (p<0,05); # – різниця, порівняно з введенням 0,5 мг преднізолону, вірогідна (p<0,05).

З огляду на визначальну роль вітаміну D_3 у регуляції мінерального обміну організму та підтриманні структурно-функціонального стану кісткової тканини, ми дослідили вплив преднізолону на інтенсивність метаболізму вітаміну D_3 , а саме вітамін D_3 25-гідроксилазну активність гепатоцитів та вміст його біологічно активної форми – 25-гідроксихолекальциферолу в сироватці крові як найбільш оптимального показника забезпеченості організму вітаміном D_3 .

Введення преднізолону контрольним щурам викликало дозозалежне зниження вітаміну D_3 25-гідроксилазної активності (сумарна активність CYP27A1 – ізоензиму мітохондрій та CYP2R1 – ізоензиму ендоплазматичного ретикулама) гепатоцитів. Так, при введенні 0,5 мг преднізолону щодоби протягом 14 днів (загальна кількість введеного препарату складала 7 мг) активність знижувалась на 41,0 %. При збільшенні дози гормону у 2 рази (1 мг щодобово, загальна кількість введеного препарату дорівнювала 14 мг) активність зменшувалась на 72,3 % порівняно з контролем і на 53,1 % порівняно з групою, якій вводили 0,5 мг преднізолону (рис. 1). Тобто отримані результати свідчать про те, що преднізолон негативно впливає на функціональну активність гепатоцитів, знижуючи вітамін D_3 25-гідроксилазну активність.

Інгібування вітаміну D_3 25-гідроксилазної активності супроводжувалось зниженням рівня 25OHD₃ у сироватці крові. Так, при введенні 0,5 мг преднізолону вміст 25OHD₃ зменшувався у 3 рази порівняно з контрольними показниками (рис. 1). За таких умов діагностували D-вітамінний дефіцит, тобто найглибший стан порушення забезпеченості організму холекальциферолом. При збільшенні дози преднізолону в 2 рази (1 мг щодоби) вміст 25OHD₃

зменшувався в 2,3 рази порівняно з контролем, але був дещо вищим, ніж у групі, яка отримувала 0,5 мг препарату. Відсутність кореляції змін вмісту 25OHD₃ та вітамін D_3 25-гідроксилазної активності за введення високих доз преднізолону можна пояснити інгібувальним впливом кортикостероїдів на активність 25OHD₃-1 α -гідроксилази (CYP27B1) та поліфункціонального ензиму – 25OHD₃-24-гідроксилази (CYP24A1), які використовують 25OHD₃ як субстрат [20, 21]. Як наслідок вміст 25OHD₃ в сироватці крові може підтримуватись на високому рівні за зниження вітаміну D_3 25-гідроксилазної активності в гепатоцитах. Це припущення підтверджується даними літератури щодо зменшення рівня гормональних форм вітаміну D_3 у крові осіб, які отримували тривалу глюкокортикоїдну терапію [12]. Отже, в основі гіпокальціємічної дії преднізолону лежать гальмування вітаміну D_3 25-гідроксилазної активності та зниження забезпеченості організму гідроксильованою формою вітаміну D_3 – 25OHD₃.

Враховуючи виражений гіпокальціємічний ефект глюкокортикоїдів, ці гормональні препарати використовують з метою запобігання появі гіперкальціємічних станів у пацієнтів [6]. Відомо, що рівень кальцію в сироватці крові є однією з найбільш сталих біохімічних величин організму і складає 2,0–2,65 ммоль/л (8,0–10,6 мг/дл), причому переважає іонізований кальцій. Регулюють рівень кальцію та кальцієво-фосфорний обмін чотири основні фактори: паратиреоїдний гормон (ПТГ), вітамін D_3 , кальцитонін та паратгормоноподібний поліпептид (ПТГпП). Підвищення кальцію в крові може відбуватись за рахунок виходу кальцію з депо (мінерали кісткової тканини), посиленого всмоктування кальцію в кишечнику та зниження ниркового кліренсу [1]. Гіперкальціємічний стан відміча-

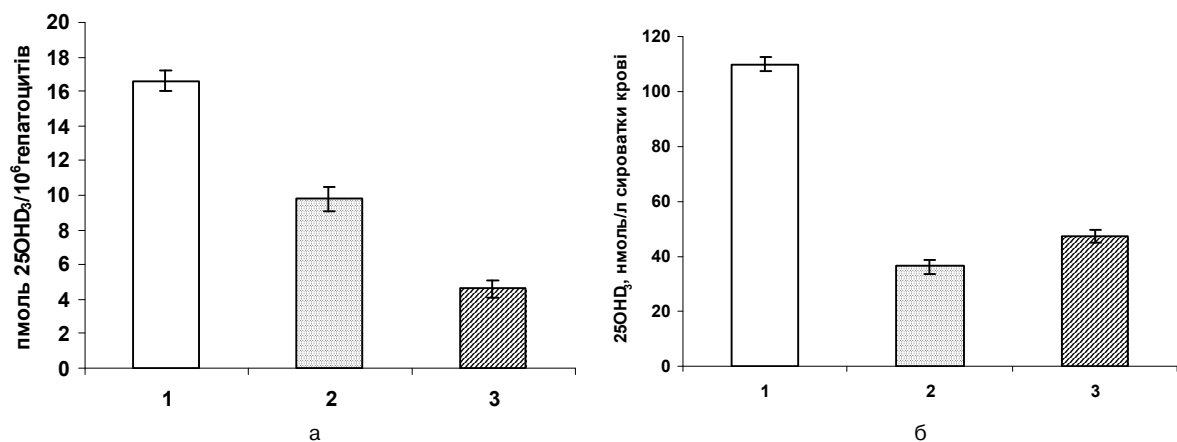


Рис. 1. Вітамін D_3 25-гідроксилазна активність гепатоцитів (а) та вміст 25OHD₃ в сироватці крові щурів (б) за введення преднізолону: 1 – контроль; 2 – 0,5 мг преднізолону; 3 – 1,0 мг преднізолону.

ють при зростанні вмісту кальцію в крові понад 3,5 ммоль/л (>14,0 мг/дл).

Найбільш частими причинами виникнення гіперкальціємії є первинний гіперпаратиреоз, зумовлений надлишковим утворенням ПТГ, та паранеопластичні процеси, які сумарно дають до 90 % всіх випадків захворювань. У нормі підвищення синтезу ПТГ відбувається у відповідь на зниження вмісту іонізованого кальцію в крові. ПТГ посилює кісткову резорбцію, підвищує реабсорбцію кальцію в ниркових канальцях та стимулює утворення біологічно активної форми вітаміну D₃ – 1,25(OH)₂D₃, що сукупно нормалізує вміст кальцію. Однак неконтрольоване зростання синтезу ПТГ призводить до надмірного підвищення рівня кальцію в крові. Безпосередніми причинами паранеопластичної гіперкальціємії є руйнування кісткової тканини під дією росту метастазів солідних пухлин у кістці (рак молочної залози, рак легень тощо) та патологічно висока секреція ПТГ-подібних пептидів, зумовлена злякисними новоутвореннями поза парацинтоподібною залозою [6, 17].

Менш поширеними, але так само небезпечними причинами виникнення гіперкальціємії є порушення обміну або передозування вітаміну D₃, посилення метаболізму кісткової тканини за тиреотоксикозу чи при довготривалій іммобілізації, ниркова недостатність. З метою зниження вмісту кальцію в крові застосовують як загальнотерапевтичні заходи (поповнення об'єму циркулюючої крові, форсований діурез тощо), так і медикаментозне лікування (препарати бісфосфонатів, кальцитонін, глюкокортикоїди, деякі протипухлинні препарати) [8, 17].

Глюкокортикоїди найбільш часто застосовують при гіперкальціємії, викликаній порушеннями обміну або передозуванням вітаміну D₃ та його аналогів за лікування постменопаузального остеопорозу та вторинного

гіперпаратиреозу [12]. За ряду патологічних станів (гемобластози, мієломна хвороба, кісткові метастази раку молочних залоз) спостерігається посилення синтезу 1,25(OH)₂D₃ за рахунок активації позаникової 25OHD₃-1α-гідроксилази, що значно прискорює обмінні процеси в трансформованих клітинах [2, 18].

Як модель гіперкальціємічного стану нами було обрано D-гіпервітаміноз. Токсичні прояви за введення високих доз вітаміну D₃ (по 30 000 МО протягом 5 діб) характеризувались вираженою гіперкальціємією та гіперфосфатемією. В сироватці крові щурів як на 2-й, так і на 9-й дні після припинення введення вітаміну D₃ зростали вміст кальцію, фосфору та активність лужної фосфатази (табл. 2). Зокрема, на 9-й день вміст кальцію підвищувався на 41,6 % (переважно за рахунок збільшення на 50,1 % фракції ультрафільтрувального кальцію), фосфору – на 10,7 %, активність лужної фосфатази зростала на 34,1 %. Преднізолон виявляв чітко виражений гіпокальціємічний ефект за його введення D-гіпервітамінозним щурам: зменшувався вміст кальцію (на 31,6 %), фосфору (на 13,2 %) та гальмувалась активність лужної фосфатази (на 30,0 %).

Оскільки механізм гіпокальціємічної дії глюкокортикоїдів має поліфакторний характер, ми висловили припущення, що в основі здатності преднізолону знижувати рівень кальцію в сироватці крові за гіперкальціємічних станів може лежати гальмування метаболізму вітаміну D₃ в тканинах. Тому провели дослідження впливу преднізолону на обмін вітаміну D₃ за D-гіпервітамінозу, тобто за умови посиленого синтезу біологічно активних форм вітаміну D₃. Продемонстровано, що введення щурам високих доз вітаміну D₃ супроводжувалось значним зростанням вмісту 25OHD₃ в сироватці крові. Так, на 2-гу добу після припинення введення вітаміну D₃ рівень 25OHD₃ в сироватці крові більш ніж у 10 разів перевищував зна-

Таблиця 2 – Вплив преднізолону на мінеральний обмін у сироватці крові при D-гіпервітамінозі (M±m, n=9)

Досліджуваний показник	D-гіпервітаміноз, 2-га доба	D-гіпервітаміноз, 9-та доба	D-гіпервітаміноз+ преднізолон
Кальцій, ммоль·л ⁻¹			
загальний,	3,07±0,04	3,20±0,01	2,19±0,06*
протеїнзв'язний,	0,30±0,01	0,27±0,02	0,18±0,02*
ультрафільтрувальний	2,78±0,01	3,03±0,02	2,01±0,02*
Фосфор неорганічний, ммоль·л ⁻¹	2,47±0,04	2,27±0,01	1,97±0,03*
ЛФ, Од·л ⁻¹			
загальна,	298,±3,0	334,0±4,0	234,0±3,0*
кишкова ізоформа,	68,6±3,0	73,0±2,0	70,6±1,4
кісткова ізоформа	278,0±6,0	315,0±2,0	219,0±3,0*

Примітка. * – різниця, порівняно з групою тварин із D-гіпервітамінозом (9-та доба), вірогідна (p<0,05).

чення контрольних тварин (рис. 2). В подальшому вміст вітаміну D_3 поступово знижувався і на 9-ту добу складав 29,8 % від вмісту на 2-гу добу, хоча все ще перевищував контрольні значення, тобто у контрольних тварин спостерігалось швидке використання $25OHD_3$ в реакціях подальшого його перетворення на $1,25(OH)_2D_3$.

Інша закономірність спостерігалась за введення преднізолону D-гіпервітамінозним щурам. Вміст $25OHD_3$ в сироватці крові під дією преднізолону знижувався, порівняно з 2-ю добою, лише на 21,1 % і був вищим на 164,5 % від його вмісту в контрольних тварин на 9-ту добу після припинення введення холекальциферолу. Тобто при введенні преднізолону на тлі D-гіпервітамінозу спостерігався чітко виражений ефект гальмування використання $25OHD_3$ як субстрату в його подальшому перетворенні на гормонально активні метаболіти – $1,25(OH)_2D_3$ та $24,25(OH)_2D_3$. Фізіологічний сенс інгібування преднізолоном метаболізму вітаміну D_3 може полягати у зниженні рівня $1,25(OH)_2D_3$ та, відповідно, проявів токсичності високих доз холекальциферолу, оскільки $25OHD_3$ (транспортна та запасальна форма вітаміну) є значно менш функціонально активним порівняно з гормональними його формами. У свою чергу, інгібування синтезу $1,25(OH)_2D_3$ зумовлює гіпокальціємічну дію преднізолону за рахунок зниження всмоктування та реабсорбції кальцію.

Гальмування обміну холекальциферолу під дією преднізолону підтверджується змінами вітаміну D_3 25-гідроксилазної активності гепатоцитів. Як у контролі, так і за D-гіпервітамінозу преднізолон суттєво (щонайменше у 2 рази) гальмував вітаміну D_3 25-гідроксилазну активність. Однак, якщо в контролі гальмуван-

ня вітаміну D_3 25-гідроксилазної активності призводило до значного зменшення вмісту $25OHD_3$ в сироватці крові, то за D-гіпервітамінозу не спостерігалось прямої залежності між активністю вітаміну D_3 гідроксильюючої системи та вмістом $25OHD_3$ (рис. 2). Зокрема, при введенні преднізолону вміст $25OHD_3$ залишався у 2,6 рази вищим порівняно з групою тварин на 9-ту добу після припинення введення вітаміну D_3 , але за цих умов щонайменше у 2 рази гальмувалась вітаміну D_3 25-гідроксилазна активність у гепатоцитах. Тобто спостерігалось гальмування подальшого гідроксильювання $25OHD_3$ з утворенням дигідроксипохідних холекальциферолу. Аналогічний, хоча і менш виражений, ефект відмічали при збільшенні введеної дози преднізолону в контрольних тварин. Зокрема, за введення 1,0 мг, порівняно з 0,5 мг, преднізолону виявлено, що на тлі зниження практично у 2 рази вітаміну D_3 25-гідроксилазної активності вміст $25OHD_3$ в сироватці крові зростав у 1,3 рази.

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що гіпокальціємічний та гіпофосфатемічний ефекти преднізолону залежать від дози його введення і стану забезпеченості організму вітаміном D_3 . Виявлене інгібування вітаміну D_3 25-гідроксилазної активності та зниження швидкості перетворення $25OHD_3$ на дигідроксипохідні холекальциферолу під дією преднізолону роблять небажаним використання глюкокортикоїдів як гіпокальціємічних засобів.

ВИСНОВКИ. 1. Преднізолон як у контролі, так і за D-гіпервітамінозу знижує вміст кальцію, фосфору та підвищує активність лужної фосфатази в сироватці крові в основному за рахунок її кісткової ізоформи.

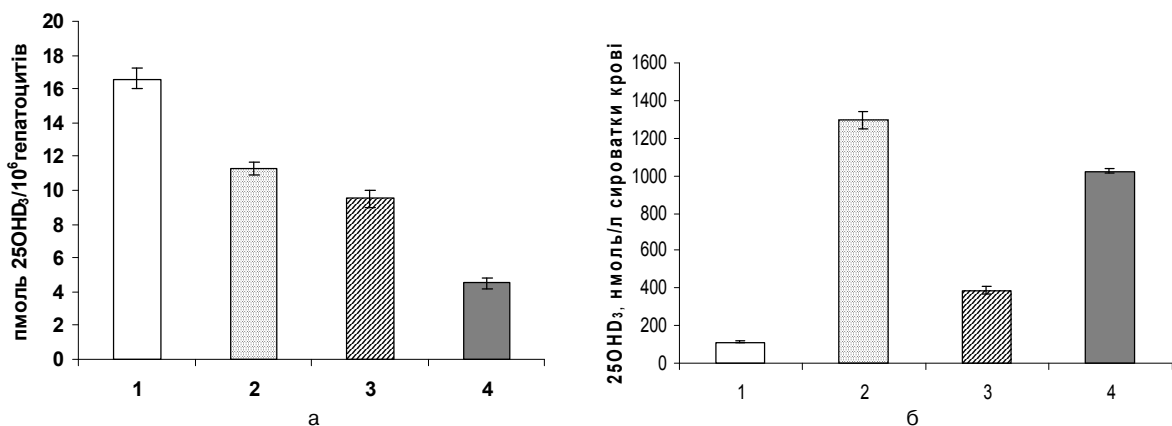


Рис. 2. Вітаміну D_3 25-гідроксилазна активність гепатоцитів (а) та вміст $25OHD_3$ в сироватці крові щурів (б) за введення преднізолону на тлі D-гіпервітамінозу: 1 – контроль; 2 – D-гіпервітаміноз, 2-га доба після припинення введення вітаміну D_3 ; 3 – D-гіпервітаміноз, 9-та доба після припинення введення вітаміну D_3 ; 4 – введення преднізолону D-гіпервітамінозним щурам.

2. Прояв гіпокальціємічного та гіпофосфатемічного ефекту преднізолону залежить від дози його введення і стану забезпеченості організму вітаміном D₃.

3. Механізм дії преднізолону на мінеральний обмін реалізується шляхом гальмування обміну вітаміну D₃: введення преднізолону дозозалежно гальмує вітамін D₃ 25-гідроксилазну активність гепатоцитів та знижує вміст 25OHD₃ в сироватці крові.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гайко Г. В. Вітамін D и костная система / Г. В. Гайко, Ан. В. Калашников, А. Т. Бруско. – К. : Книга плюс, 2008. – 176 с.
2. Особливості гідроксилювання холекальциферолу в печінці щурів в умовах D-гіпервітамінозу та дії α -токоферолу / М. М. Великий, Л. І. Апуховська, В. М. Василевська [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2010. – **82**, № 2. – С. 67–74.
3. Роль вітаміну E в регуляції гідроксилювання холекальциферолу за D-гіповітамінозу та D-гіпервітамінозу / Л. І. Апуховська, М. М. Великий, О. Ю. Лотоцька, А. В. Хоменко // Укр. біохім. журн. – 2009. – **81**, № 5. – С. 50–57.
4. Щелочная фосфатаза: современное состояние вопроса / Б. Плеханов, Т. Цветкова, Т. Пиперков, М. Чиговская // Лаб. дело. – 1989. – № 11. – С. 4–7.
5. Bikle D. Nonclassic action of vitamin D / D. Bikle // J. Clin. Endocrin. Metab. – 2009. – **94**, № 1. – P. 26–34.
6. Carroll M. F. A practical approach to hypercalcemia / M. F. Carroll, D. S. Schade // Am. Family Physician. – 2003. – **67**, № 9. – P. 1959–1966.
7. De Nijs R. N. Glucocorticoid-induced osteoporosis: a review on pathophysiology and treatment options / R. N. De Nijs // Minerva Med. – 2008. – **99**, № 1. – P. 23–43.
8. Drake M. T. Bisphosphonates: Mechanism of Action and Role in Clinical Practice / M. T. Drake, B. L. Clarke, S. Khosla // Mayo. Clin. Proc. – 2008. – **83**, № 9. – P. 1032–1045.
9. Ducland S. Uptake and 25-hydroxylation of vitamin D₃ isolated rat liver cells / S. Ducland, A. Holmberg, T. Bergs // J. Biol. Chem. – 1981. – **256**, № 20. – P. 10430–10433.
10. Dyce B. J. A rapid nonenzymatic assay for 2,3-DPG in multiple specimens of blood / B. J. Dyce, S. P. Besman // Arch. Environ. Health. – 1973. – **27**, № 2. – P. 112–115.
11. Heaney R. P. Vitamin D: criteria for safety and efficacy / R. P. Heaney // Nutr. Rev. – 2008. – **66**, S2. – P. 178–181.
12. Hidalgo A. A. Glucocorticoid regulation of the vitamin D receptor / A. A. Hidalgo, D. L. Trump, C. S. Johnson // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. – 2010. – **121**, № 1–2. – P. 372–375.
13. Holick M. F. MrOs Is D-ficient / M. F. Holick // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2009. – **94**, № 4. – P. 1092–1093.
14. Holick M. F. Vitamin D deficiency / M. F. Holick // N. Engl. J. Med. – 2007. – **357**, № 3. – P. 266–281.
15. Jones G. Pharmacokinetics of vitamin D toxicity / G. Jones // Am. J. Clin. Nutr. – 2008. – **88**, № 2. – P. 582–586.
16. Patschan D. Molecular mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis / D. Patschan, K. Loddenkemper, F. Buttgerit // Bone. – 2001. – **29**, № 6. – P. 498–505.
17. Pecherstorfer M. Current management strategies for hypercalcemia / M. Pecherstorfer, K. Brenner, N. Zojer // Treat. Endocrinol. – 2003. – **2**, № 4. – P. 273–292.
18. Phase II trial of high dose intermittent calcitriol (1,25-dihydroxyvitamin D₃) and dexametasone in androgen-independent prostate cancer / D. L. Trump, D. M. Potter, J. Muindi // Cancer. – 2006. – **106**, № 10. – P. 2136–2142.
19. Sambrook P. Corticosteroid osteoporosis, Bal-lier's best practice and research / P. Sambrook, N. E. Lane // Clin. Rheumatol. – 2001. – **15**, № 3. – P. 401–413.
20. Sambrook P. Glucocorticoids and Vitamin D / In: Vitamin D, Ed. D. Feldman. – New York: Elsevir. – 2005. – P. 1239–1251.
21. Summary of evidence-based review on vitamin D efficacy and safety in relation to bone health / A. Cranney, H. A. Weiler, S. O'Donnell, L. Puil // Am. J. Clin. Nutr. – 2008. – **88**, № 2. – P. 513–519.
22. Vieth R. Vitamin D toxicity, policy, and science / R. Vieth // J. Bone Mineral Res. – 2007. – **22**, S2. – P. 64–68.
23. Weiskirchen R. Isolation and culture of hepatic stellate cells / R. Weiskirchen, H. M. Gressner // Methods Mol. Med. – 2005. – **117**. – P. 99–113.
24. Zinser G. M. The vitamin D signaling pathway in mammary gland and breast cancer / G. M. Zinser, C. J. Narvaes, J. E. Welsh // In: Vitamin D and Cancer, Ed. D. L. Trump, C. S. Johnson. – Springer. – 2011. – P. 279–294.

Н. Н. Великий, Л. И. Апуховская, А. В. Хоменко, И. А. Шиманский,
В. Н. Василевская, Е. Е. Лотоцкая, А. И. Безусяк, Е. А. Макарова
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ ИМЕНИ О. В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАИНЫ, КИЕВ

ОСОБЕННОСТИ ГИПОКАЛЬЦИЕМИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕДНИЗОЛОНА ПРИ РАЗНОЙ ОБЕСПЕЧЕННОСТИ ОРГАНИЗМА КРЫС ВИТАМИНОМ D₃

Резюме

Исследовано гипокальциемическое действие преднизолона в зависимости от обеспеченности организма витамином D₃. Показано, что введение преднизолона контрольным и D-гипервитаминозным крысам снижает содержание кальция, фосфора в сыворотке крови и регулирует активность щелочной фосфатазы в основном за счет ее костной изоформы. Механизм действия преднизолона на минеральный обмен состоит в ингибировании метаболизма витамина D₃.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: преднизолон, витамин D₃, 25OHD₃, витамин D₃ 25-гидроксилазная активность, минеральный обмен.

M. M. Velykyi, L. I. Apukhovska, A. V. Khomenko, I. O. Shymanskyi,
V. M. Vasylevska, O. Yu. Lototska, A. I. Bezusiak, O. O. Makarova
O. V. PALLADIN INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY OF NAS OF UKRAINE

FEATURES OF HYPOCALCEMIC ACTION OF PREDNISOLONE AT DIFFERENT AVAILABILITY OF RATS WITH VITAMIN D₃

Summary

It was investigated hypocalcemic effect of prednisolone in relation to body supply with vitamin D₃. Prednisolone administration to control and D-hypovitaminosis rats resulted in decreased contents of calcium and phosphorus. Serum alkaline phosphatase activity was also found to be regulated by prednisolone mainly due to its bone isoform. The mechanism of prednisolone action on mineral metabolism is associated with the inhibition of the metabolism of vitamin D₃.

KEY WORDS: prednisolone, vitamin D₃, 25OHD₃, vitamin D₃ 25-hydroxylase activity, mineral metabolism.

Отримано 03.08.11

Адреса для листування: М. М. Великий, Інститут біохімії імені О. В. Палладіна НАН України, вул. Леонтовича, 9, Київ, 01601, Україна.

РОЗРОБКА МЕТОДІВ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ЦІЛЬОВИХ БІЛКІВ ОТРУТИ ЗМІЙ РОДУ *AGKISTRODON*

На основі отрути *Agkistrodon blomhoffi ussuriensis* розроблено комплекс методів вхідного контролю отрути змії роду *Agkistrodon*, який включає два етапи хроматографічного розділення цільної отрути та методи визначення біологічної активності цільових білків. З використанням методів було визначено вміст таких цільових білків: тромбінподібного ферменту, активаторів протромбіну та протеїну С, фібрин(ген)олітичного ферменту, інгібітора агрегації тромбоцитів та фосфоліпази А₂. Універсальність розробленого вхідного контролю отрути змії роду *Agkistrodon* було доведено шляхом задовільного його застосування для отрути видів *A. halys halys*, *A. acutus* та *A. brevicadus*. Наведено порівняльну характеристику декількох серій отрути *A. brevicadus*; вивчено цитотоксичність для всіх досліджуваних отрут; проведено порівняльну характеристику.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: отрута змії роду *Agkistrodon*, контроль якості, рідинна хроматографія, цитотоксичність.

ВСТУП. Одним із пріоритетних напрямків роботи пілотного або промислового підприємства, пов'язаного з виробництвом діагностикумів для системи гемостазу людини, є розвиток та вдосконалення системи контролю якості відповідно до стандартів GMP, це головна умова досягнення гарантії якості продукції [4, 21, 24, 25].

Якість сировини та методи її контролю є актуальним питанням будь-якого біотехнологічного виробництва та має свої особливості залежно від джерела сировини.

Предметом детального вивчення є вхідний контроль сировини, такої, як отрута змії, для біотехнологічного процесу, а саме етап визначення придатності конкретної партії (або серії) отрути для отримання цільових продуктів. Вочевидь, даний етап виробництва потребує розробки швидких та простих методів ідентифікації цільових білків. На прикладі виробництва декількох цільових білків з отрути змії розглянемо контроль якості цільної отрути роду *Agkistrodon* на вхідному етапі технологічного процесу.

На відміну від достатньо консервативних природних джерел біологічно активних речовин (рослини, плазма крові тощо) склад отрути змії суттєво залежить від багатьох факторів [14]. Такі фактори, як вік змії, ореол мешкання і, як наслідок, умови харчування, значно впли-

вають на кількісний та якісний вміст білків [8, 10]. Тому помилка вхідного контролю призводить до збільшення собівартості препаратів або неможливості виробництва фармпрепаратів із заданою якістю у задані строки.

Отрута змії роду *Agkistrodon* містить білки, важливі для діагностики гемостазу людини, потенційні фармацевтичні агенти або білки, що можуть бути використані як інструменти для досліджень. Ідентифікація таких білків у цільній отруті ускладнена їх протилежною біологічною дією або токсичними компонентами, тому для розробки принципів вхідного контролю сировини було запропоновано проводити двохетапне хроматографічне розділення білковопептидного складу цільної отрути із застосуванням методів визначення біологічної активності, специфічної для цільових білків, на кожному етапі фракціонування. Ми вважали, що такий підхід дозволить розділити антагоністичні цільові білки і визначити їх активності у досліджуваній отруті. Оскільки отрута змії є сильним токсином, визначення її цитотоксичності стало одним із необхідних етапів вхідного контролю [2].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Усі експериментальні роботи було проведено на базі біотехнологічного Center of Excellence НВП Shijir International Co. Ltd. (Монголія, Долина Дощів).

У роботі використовували хроматографи серії АКТА (АКТАexplorer, АКТАbasic) з програмою

UNICORN 5.01. Хроматографію проводили на упакованих колонках RESOURCE Q та сорбентах Superose 6, Superose 12, Superdex 75 та 200 PG (GE Healthcare AB, Швеція, Уппсала).

Кристалічну отруту щитомордників (*A. blomhoffii ussuriensis*, *A. halys halys*, *A. acutus* та *A. brevicadus*) отримували від Beijing Neutronics Imports & Exports Trading Co. Ltd. (Китай, Пекін).

Фібриноген бика одержували з плазми шляхом осадження 16 % розчином Na_2SO_4 з наступним відділенням кріофібриногену за методом Варецької [1].

Сертифіковану плазму крові донорів отримували на Центральній станції переливання крові МОЗ Монголії (м. Улаанбаатар).

Плазму, збагачену тромбоцитами, одержували шляхом центрифугування стабілізованої крові за 150 г протягом 10 хв при 20 °С. Кров відбирали з вушної вени кролів у пластикову пробірку у співвідношенні 9:1 до 3,8 % розчину лимоннокислого натрію.

Фібриногенолітичну активність (FgLE) визначали шляхом 30-хвилинної інкубації білків при 37 °С із фібриногеном бика з наступним додаванням 10 NIH тромбіну. Активність оцінювали якісно за фібриновим згустком. Тромбіноподібну (TLE) активність визначали за анцистроновим часом згортання нормальної плазми крові [3, 20]. Активність фосфоліпази A_2 (PLA2) визначали за розщепленням специфічного флюорогенного субстрату PED-6 (Invitrogen corp., США) [12]. Активність інгібітора агрегації тромбоцитів (IATh) визначали за зниженням агрегації тромбоцитів, індукованої 2,5 мкМ АДФ (“Технологія-Стандарт”, Росія), у збагаченій тромбоцитами плазмі (не довше 3 год зберігання) на агрегометрі AP2110 (“Солар”, Білорусь). Активність активатора протеїну С (APC) визначали з використанням хромогенного субстрату S_{2366} [22], активатора протромбіну (ApTh) – субстрату S_{2238} [23] за стандартними методиками. Вміст білків визначали за методом Бредфорда [5], калібрувальним білком слугував тромбін.

Клітинні лінії PC-12 (феохромцитомома щура) та C-1300 (нейробластома миші) було отримано з Європейського банку клітинних ліній (European Collection of Cell Cultures (ECACC)). Використовували ростове середовище DMEM з 2 мМ глутаміну, 100 МО/мл пеніциліну та 100 мкг/мл стрептоміцину. Середовище для PC-12 містило 10 % сироватки коня (HS) та 5 % телячої ембріональної сироватки (FBS); для C-1300 – 10 % FBS.

Для визначення цитотоксичності клітини висаджували у 24-лункові планшети і вирощували до досягнення 80 % конфлюентності.

Потім ростове середовище видаляли, клітини промивали фосфатним буфером та в кожну лунку додавали 1 мл безсироваткового середовища, в яке вносили досліджуваний зразок в об'ємі, що не перевищував 10 % загального об'єму середовища в лунці; в контрольні лунки додавали такий самий об'єм буфера, в якому розчиняли зразок. Через 48 год культивування визначали кількість живих клітин методом включення триазолілу блакитного [15].

Для вивчення диференціювання клітини лінії PC-12 висаджували у 24-лункові планшети, вкриті полі-D-лізином у щільності 4×10^4 кл.см². Після прикріплення клітин (приблизно через 6 год) ростове середовище замінювали середовищем для стимулювання DMEM, що містила 2 мМ глутаміну, 1 % HS, 0,5 % FBS, 100 МО·мл⁻¹ пеніциліну, 100 мкг·мл⁻¹ стрептоміцину. Білкові фракції отрути вносили у середовище стимулювання так, щоб об'єм доданої фракції не перевищував 10 % об'єму середовища в лунці. За позитивний контроль слугував фактор росту нервів миші 2,5-S NGF у концентрації 50 нг·мл⁻¹, за негативний контроль – такий самий об'єм DMEM без досліджуваного білка. Протягом 3–8 днів результати диференціювання фотодокументували.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Розробка методів ідентифікації цільових білків для вхідного контролю отрути змії роду *Agkistrodon*. Завданням вхідного контролю було визначити такі цільові білки, як тромбіноподібний фермент (TLE), активатори протромбіну (ApTh) та протеїну С (APC), фібрино(гено)літичні ферменти (FgLE), інгібітори агрегації тромбоцитів (IATh), та фосфоліпазу A_2 (PLA2) у цільній отруті *Agkistrodon blomhoffii ussuriensis*. Попередні дослідження показали, що цільові білки та пептиди мають молекулярні маси в діапазоні 5–60 кДа, тому на першому етапі оптимальним було застосувати хроматографію, що розділяє за розміром. Ми провели порівняльний аналіз з підбору ефективного сорбенту для фракціонування білково-пептидної фракції цільної отрути. Протестували такі сорбенти: Superose 6, Superose 12, Superdex 75 PG та Superdex 200 PG, що мали високу фізико-хімічну стабільність та практично не проявляли неспецифічної взаємодії з компонентами зразка. Було показано, що оптимальне розділення білково-пептидного складу отрути досягається за використання колонки HiLoad 26/60 Superdex 75 PG зі швидкістю потоку 1 мл·хв⁻¹, об'ємом зразка до 2 мл та концентрацією загального білка не більш ніж 40 мг·мл⁻¹ (рис. 1). Процес хроматографуван-

ня проводили у Tris-HCl буфері, pH 7,4, що містив 0,15 M NaCl. Використання даного буфера або буфера еквівалентної іонної сили дозволило запобігти неіонним взаємодіям зразка з матрицею сорбенту.

У результаті фракціонування цільної отрути у підібраних умовах було отримано 9 білкових фракцій, в яких вдалося ідентифікувати більшість цільових білків (рис. 2). FgLE виявлено у фракціях 1 та 4. Оскільки ці фракції містять білки різної молекулярної маси, було припущено, що в досліджуваній отруті присутні два різні за фізико-хімічними властивостями фібрино(гено)літичні ферменти. Фракція 2 містила 95 % TLE, інші 5 % розмивалися по фракціях 1 та 3. Питома активність TLE складала $1,9 \text{ NIH} \cdot \text{мг}^{-1}$ білка отрути. Фракція 5 містила 99 % PLA2, її питома активність дорівнювала $1050 \text{ MO} \cdot \text{мг}^{-1}$ білка отрути. Фракція 7 містила пептид, який інгібував АДФ-індуковану агрегацію тромбоцитів (IATh) на 21 % порівняно з контролем (рис. 3).

Таким чином, після першого етапу фракціонування цільної отрути було визначено чотири із шести цільових білків. Виходячи з літературних даних про молекулярну масу активаторів протеїну С та протромбіну в отруті цього роду змії [6, 13, 17, 19], ми припустили, що активності активаторів протеїну С та протромбіну маскувалися вкрай високими тромбіно-

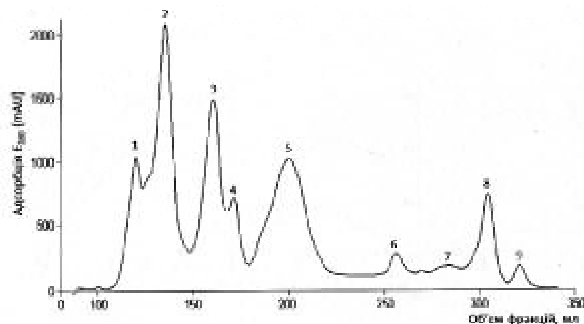


Рис. 1. Хроматографічне розділення білково-пептидної фракції з отрути *Agkistrodon blomhoffi ussuriensis* на колонці HiLoad 26/60 Superdex 75 PG (1–9 – піки білків, фракції яких збирали й аналізували).

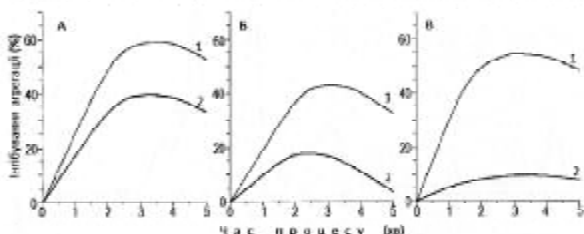


Рис. 2. АДФ-індукована агрегація тромбоцитів під впливом фракції (А) № 7 з отрути *A. blomhoffi ussuriensis* (10 мкг); (Б) № 6 з отрути *A. halys halys* (10 мкг); (В) № 7 з отрути *A. acutus* (10 мкг), отриманих з колонки HiLoad 26/60 Superdex 75 PG.

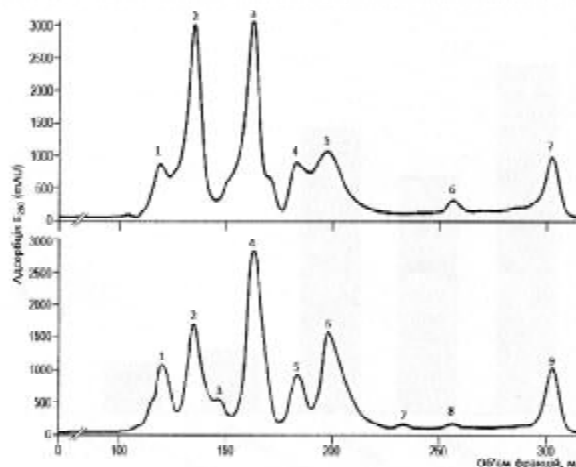


Рис. 3. Порівняльний аналіз хроматографічного розділення білково-пептидної фракції з отрути *Agkistrodon halys halys* (зверху) та *Agkistrodon acutus* (знизу) на колонці HiLoad 26/60 Superdex 75 PG (1–9 – піки білків, фракції яких збирали й аналізували).

подібною та протеїназними активностями інших білків у фракціях. Тому необхідно було застосувати другий етап хроматографії, який розділяв би білки за іншими фізико-хімічними властивостями, наприклад іонообмінну хроматографію. Даний тип хроматографії дозволяє розділити білки, які перебувають в одному діапазоні молекулярних мас, але мають різні ізоелектричні точки, а також зберегти біологічну активність. Для другого етапу вхідного контролю оптимальною виявилася аніонообмінна хроматографія на носії SOURCE Q в лінійному зростаючому NaCl-градієнті елюції. Розділення проводили з використанням 20 мМ трис-HCl буфера, pH 8,2, градієнт елюції NaCl складав від 1 до 60 мS·см⁻¹ об'ємом 20 Vc зі швидкістю 0,2 Vc·хв⁻¹, де Vc – об'єм колонки.

Для фракціонування методом аніонообмінної хроматографії було використано фракції 2, 3, 4, отримані на першому етапі вхідного контролю, оскільки білки у цих фракціях відповідають передбачуваній молекулярній масі цільових білків. У результаті проведення хроматографії було виявлено APC із питоמוю активністю $0,092 \text{ MO} \cdot \text{мг}^{-1}$ білка отрути та ApTh – $0,0064 \text{ MO} \cdot \text{мг}^{-1}$ білка отрути.

Таким чином, розроблений нами двохетапний підхід для контролю якості цільної отрути *Agkistrodon blomhoffi ussuriensis* дозволив виявити в ній усі цільові білки виробництва.

Застосування розробленого комплексного підходу для отрути змії *A. halys halys* та *A. Acutus*. Можливість використання розробленого підходу для контролю отрути змії інших видів роду *Agkistrodon* перевірили, застосувавши його для отрути *A. halys halys* та *A. acutus*. В результаті першого етапу фрак-

ціонування цільної отрути *A. halys halys* було отримано 7 білкових фракцій (рис. 4). Аналіз одержаних фракцій виявив присутність у фракції 2 TLE з питомою активністю 3,9 NIH·мг⁻¹ білка отрути. Крім того, фракція 2 містила до 99 % FgLE. PLA2 елюювали з колонки у фракціях 4 та 5; її питома активність складала 807 МО·мг⁻¹ білка отрути. У фракції 6 було виявлено IATh; ступінь інгібування агрегації складав 27 % відносно контролю (рис. 3).

Другий етап розділення з використанням іонообмінної хроматографії фракцій 2, 3, 4 показав, що дана отрута містить APC з питомою активністю 0,02 МО·мг⁻¹ білка отрути. На відміну від отрути *A. blomhoffi ussuriensis* ApTh у даній отруті не було виявлено.

Застосувавши той самий підхід для фракціонування цільної отрути *A. acutus*, в результаті першого етапу фракціонування отримали 9 білкових фракцій (рис. 4). Тестування зразків виявило, що фракція 2 містила 90 % TLE з питомою активністю 5,8 NIH·мг⁻¹ білка отрути, решту визначили у фракціях 1 та 3. FgLE знайшли у фракціях 2 та 5, що дозволило припустити наявність двох молекулярних форм ферменту в даній отруті. Фракція 6 містила 99 % PLA2 цільної отрути з питомою активністю 720 МО·мг⁻¹ білка отрути. Фракція 7 містила IATh; ступінь інгібування агрегації складав 45 % відносно контролю (рис. 3).

У результаті застосування аніонообмінної хроматографії до фракцій 2, 3, 4, отриманих в результаті першого етапу фракціонування отрути *A. acutus*, було виявлено ApTh з питомою активністю 0,02 МО·мг⁻¹ білка отрути. APC в отриманих фракціях не було ідентифіковано.

На основі одержаних даних було проведено порівняльний аналіз отрути трьох різних

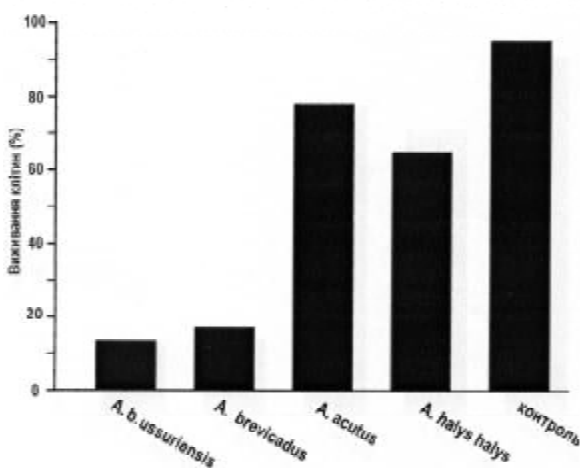


Рис. 4. Вживання клітин лінії PC-12 через 48 год культивування з отрутою змій, доданою у ростове середовище. За контроль брали клітини, що культивувалися без отрути.

видів змій роду *Agkistrodon*. Найбільша питома активність TLE характерна для отрути *A. Acutus*, а найменша спостерігалася в отруті *A. blomhoffi ussuriensis*. APC не виявлено в отруті *A. acutus*, тоді як найвища його питома активність була властива отруті *A. blomhoffi ussuriensis*. Питома активність ApTh була найбільшою в отруті *A. Acutus* і порівняно однаковою в отруті *A. blomhoffi ussuriensis* і *A. halys halys*. Найсильніше інгібування агрегації тромбоцитів спостерігалася в результаті дії IATh з отрути *A. acutus*, а інгібуючий ефект пептидів з отрути двох інших видів був практично у 2 рази слабшим. Найбільша питома активність PLA2 була в отруті *A. blomhoffi ussuriensis*, а найменша – в отруті *A. acutus*.

Визначення цитотоксичності отрути змій роду *Agkistrodon*. Порівняльна характеристика. Цитотоксичність є важливою характеристикою для вхідного контролю отрути. Ми провели порівняльну характеристику цитотоксичності отрут раніше описаних видів змій та включили отруту змії виду *A. brevicadus*. Цитотоксичність отрути визначали на клітинах лінії C-1300 (нейробластома миші) та PC-12 (феохромцитомо щура). Результати експериментів виражали у відсотку клітин, які вижили, беручи кількість клітин, що культивувалися без додавання отрути, за 100 %.

Для клітинної лінії PC-12 було показано, що після додавання отрути *A. blomhoffi ussuriensis* виживало 14 % клітин, *A. brevicadus* – 17 %, *A. halys halys* – 82 % та *A. Acutus* – 68 % (рис. 5). Спрямованість дії отрути на клітини лінії C1300 виявилася відповідною, але ці клітини мали дещо меншу чутливість: з отрутою *A. blomhoffi ussuriensis* вижило 20 % клітин, *A. brevicadus* – 21 %, *A. halys halys* – 86 % та *A. Acutus* – 79 % (рис. 6). Таким чином, найбільш цитотоксичними виявилися отрути змій *A. blomhoffi ussuriensis* та *A. brevicadus*. Ці результати корелюють з такими дослідженнями, де показано, що саме для даних отрут характерна найбільша питома активність PLA2. Цитотоксичність PLA2 з отрути *A. blomhoffi ussuriensis* було описано раніше [7, 9].

Вхідний контроль отрути *A. brevicadus*. Наступним завданням була перевірка, чи відповідатиме отрута змії виду *A. brevicadus* вимогам виробництва для отримання цільових білків – FgLE, PLA2, IATh, APC та фактора росту нервів (NGF). Оскільки вищеописаний комплексний підхід дозволяв виявляти згадані білки (окрім NGF), ми застосували його для вхідного контролю отрути *A. brevicadus*.

У результаті першого етапу фракціонування отрути було отримано 12 білкових фракцій

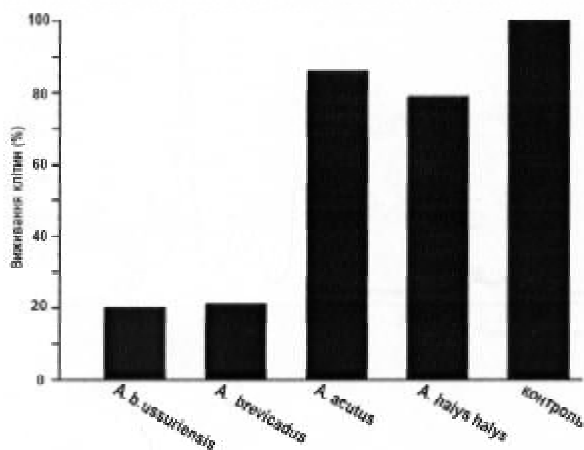


Рис. 5. Вживання клітин лінії PC-1200 через 48 год культивування з отрутою змій, доданою у ростове середовище. За контроль брали клітини, які культивувалися без отрути.

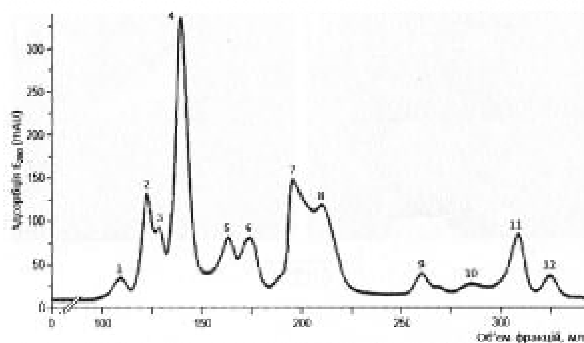


Рис. 6. Хроматографічне розділення білково-пептидної фракції з отрути *A. brevicadus* на колонці *HiLoad 26/60 Superdex 75 PG* (1–12 – піки білків, фракції яких збирали й аналізували).

(рис. 7). FgLE виявлено у фракціях 1–3 і 6, що свідчить про наявність двох різних FgLE або його ізоформ, як і у випадку з отрутою *A. ussuriensis*. PLA2 елюювали з колонки у фракціях 7 і 8 з питомою активністю в об'єднаній фракції 980 МО·мг⁻¹. IATh було виявлено у фракції 10; ступінь інгібування становив 37 % порівняно з контролем (рис. 8). На другому етапі (аніонообмінна хроматографія) в отруті *A. brevicadus* було визначено APC.

Для визначення наявності NGF у досліджуваній отруті білкові фракції, отримані в результаті першого етапу, вносили в середовище культивування клітин лінії PC-12, що є прийнятною моделлю визначення активності NGF, який стимулює їх диференціювання, що виявляється у специфічному фенотипі – великі дендрити, які легко ідентифікуються у мікроскопі [18]. Позитивним контролем слугував 2,5 S-NGF миші.

Культивування клітин лінії PC-12 за присутності білків з фракцій отрути *A. brevicadus* не виявило NGF. Жодна з внесених фракцій

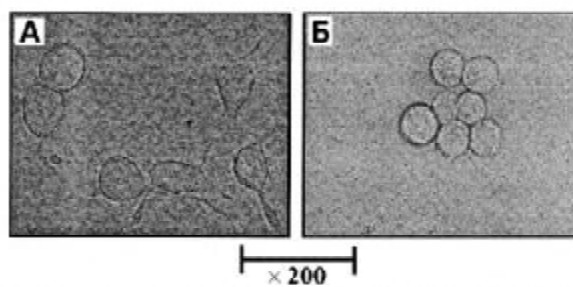


Рис. 7. Диференціювання клітин лінії PC-12 під дією: А – фактора росту нервів миші 2,5 S-NGF; Б – однієї з фракцій отрути *A. brevicadus*, отриманої з колонки *HiLoad 26/60 Superdex 75 PG* (інші фракції не проявляли ефекту росту дендритів або проявляли сильну токсичність).

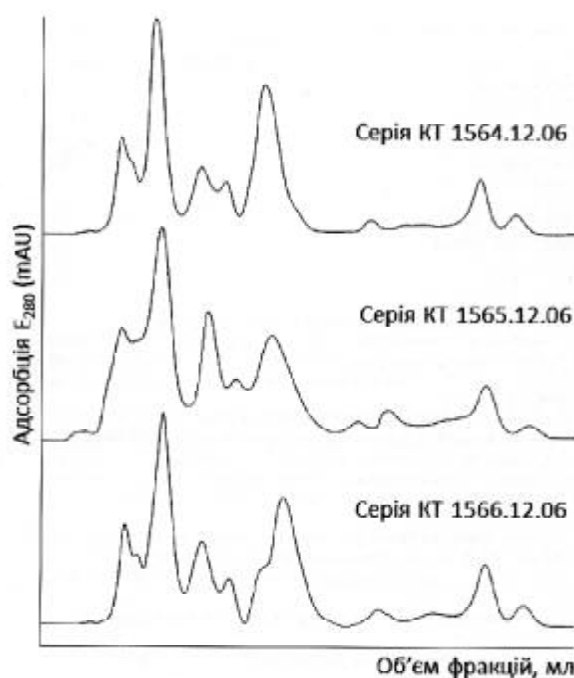


Рис. 8. Хроматографічне розділення білків з отрути *A. brevicadus* трьох різних серій на колонці *HiLoad 26/60 Superdex 75 PG*.

не викликала диференціювання клітин, на відміну від позитивного контролю. Відомо, що отрути змій роду *Agistrodon* містять NGF [11], але останнім часом було показано, що існує залежність синтезу NGF від віку змії [16] – чим вік змії більший, тим менше фактора виявляють в отруті, а зрілі змії зовсім його не мають.

Отже, вхідний контроль отрути *A. brevicadus* показав, що в ній присутні такі цільові білки: FgLE, PLA2, IATh і APC. NGF не було виявлено. Отрута мала сильний цитотоксичний ефект.

Інформація про ідентичність різних серій сировини є невід'ємним етапом вхідного контролю, а у випадку отрути змій набуває особливого значення. Зміни у складі сировини автоматично призводять до необхідності корегування технологічних процесів, тому важ-

ливо мати таку інформацію до початку фракціонування цільної отрути. Ми застосували розроблений комплексний підхід для порівняння білково-пептидного складу трьох різних серій отрути *A. brevicaudus*. Отруту фракціонували, як описано вище для першого етапу вхідного контролю, а отримані хроматограми порівнювали щодо часу утримання піків на колонці та їх інтенсивності.

Аналіз білково-пептидного складу трьох серій отрути *A. brevicaudus* показав незначні відмінності між ними, а також з попередньо використаною серією отрути. Такі відмінності не потребували внесення коректив у технологію отримання цільових білків, однак вказували на зміни у кількісному виході цільових білків у процесі очищення.

ВИСНОВКИ. На прикладі сировини від трьох видів змій роду *Agistrodon* було доведено, що розроблений підхід для вхідного конт-

ролю є комплексом простих і швидких методів ідентифікації цільових продуктів в отруті змій, а також ідентифікації та порівняння різних серій отрути змій одного виду. Процедура двоетапного хроматографічного фракціонування дала можливість розділити ферменти протилежної біологічної дії, що дозволило ідентифікувати цільові білки та оцінити їх кількість у цільній отруті. Представлений комплекс методів надав можливість провести якісне та кількісне визначення тромбіноподібного і фібрино(гено)літичних ферментів, фосфоліпази A₂, активаторів протеїну C та протромбіну, інгібітора активації тромбоцитів. Крім того, відсутність фактора росту нервів у складі отрути, визначена за допомогою розроблених підходів, довела, що всі серії отрути отримані від зрілих змій. Показано, що цитотоксичність отрути змій роду *Agistrodon* відрізняється залежно від виду змій та є важливою характеристикою для вхідного контролю.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Варецкая Т. В. Микрогетерогенность фибриногена. Криофибриноген / Т. В. Варецкая // Укр. біохім. журн. – 1960. – **32**. – С. 13–24.
2. Культура клеток как инструмент в разработке препаратов из компонентов яда змей. Цитотоксичность / А. И. Жукова, О. Ганболд, В. Н. Карбовская [и др.] // Биофарм. журн. – 2010. – **2**, № 2. – С. 3–8.
3. Меньшиков В. В. Лабораторные методы исследования в клинике / В. В. Меньшиков. – М., 1987. – С. 310.
4. Anurag S. Quality by design for biopharmaceuticals / S. Anurag, Rathore & Helen Winkle // Nature Biotech. – 2009. – **27**. – P. 26–34.
5. Bradford M. A rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M. Bradford // Anal. Biochem. – 1976. – **78**. – P. 248–254.
6. Carolyn L. Orthner. Characterization of a Protein C activator from the venom of *Agkistrodon contortrix* / Carolyn L. Orthner, Prabir Brattacharia, K. Dudley Strickland // Biochemistry. – 1988. – **27**, № 7. – P. 2558–2564.
7. Comparative study of the cytolytic activity of myotoxic phospholipases A₂ on mouse endothelial (tEnd) and skeletal muscle (C2C12) cells in vitro / B. Lomonte, Y. Angulo, S. Rufini [et al.] // Toxicon. – 1999. – **37**, № 1. – P. 145–158.
8. Daltry J. C. Diet and snake venom evolution / J. C. Daltry, W. Wuster, R. S. Thorpe // Nature. – 1996 – **379**. – P. 537–540.
9. Effect of a recombinant Lys49PLA₂ myotoxin and Lys49PLA₂-derived synthetic peptides from *Agkistrodon* species on membrane permeability to water / Leite R.S., Giuliani C.D., Lomonte B. [et al.] // Toxicon. – 2004. – **44**, № 2. – P.157–159.
10. Francis S. Markland. Snake venoms and the hemostatic system / S. Francis Markland // Toxicon. – 1997 – **36**. – P. 1749–1800.
11. Liying Guo. Nerve growth factor activity of several immunal related serine proteases / Liying Guo, Hong Zhu, Yuancong Zhou // Chinese J. Biochem. Mol. Biol. – 1999. – **43**, № 22. – P. 1886–1891.
12. Li Z. Phosphatidylcholine homeostasis and liver failure / Z. Li, L. B. Agelon, D. E. Vance // J. Biol. Chem. – 2005. – **280**, № 45. – P. 37798–37802.
13. Manjunatha Kini. The intriguing world of prothrombin activators from snake venom / Manjunatha Kini // Toxicon – 2005. – **45**, № 8. – P.1133–1145.
14. Matsui T. Snake venom proteases affecting haemostasis and thrombosis / T. Matsui, Y. Fujimura, K. Titani // Biochem. Biophys. Acta. – 2000. – **14** (77). – P. 146–156.
15. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays / T. Mosmann // J. Immunol. Methods. – 1983. – **65**, No. 1-2. – P. 55–63.
16. Ontogenetic variations in the venom proteome of the Amazonian snake *Bothrops atrox* / R. A. Guercio, A. Shevchenko, A. Shevchenko [et al.] // Proteome Sci. – 2006. – **4**. – P. 11–25.
17. Protein C activators in snake venoms / K. Stocker, H. Fisher, J. Meir [et al.] // Behring Inst. Mitt. – 1986. – **79**. – P. 37–47.
18. Robinson C. J. An in vitro Bioassay for nerve growth factor based on 24-hour survival of PC-12 cells / C. J. Robinson, R. Stammers // Growth Factors. – 1994. – **10**. – P. 193.

19. Rosinga Jan. Structural and functional properties of Snake venom prothrombin activators / Jan Rosinga, Guido Tansa // *Toxicon* – 1992. – **30**, № 12. – P. 1515–1527.

20. Seligson D. CRC Handbook Series in Clinical Laboratory Science. Section I / D. Seligson // *Hematology*. – 1980. – **3**. – P. 301.

21. The diversity of bioactive proteins in Australian snake venoms / G. W. Birrell, S. T. H. Earl, T. P. Wallis [et al.] // *Molecular and Cellular Proteomics*. Ed. The American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Inc. – 2007. – P. 973–986.

22. http://www.diapharma.com/products/hemostasis/chromogenic_substrates/activated_protein_c_apc/s821090_821090

23. http://www.diapharma.com/products/hemostasis/chromogenic_substrates/thrombin/s820324_820324

24. http://www.gmpua.com/Biotechnology/USA/InternationalBiotechnologyGMP/International_BiotechnologyGMP.PDF Anisfeld M.H. // *International Bio technology, Bulk Chemical, and Pharmaceutical GMPs*. Fifth edition. USA, Englewood: Interpharm Press.— P. 757.

25. http://www.farosplus.ru/index.htm?/bad/bad_36/bad_36.htm

А. И. Жукова^{1,2}, Е. Н. Краснобрыжая², С. П. Гаврилюк², Г. Л. Волков^{1,2}
ТОВ “НЕЙТРОМИКС УКРАЇНА”¹, КИЇВ
SHIJIR INTERNATIONAL CO. LTD.², ДОЛИНА ДОЖДІЙ, МОНГОЛІЯ

РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ИДЕНТИФИКАЦИИ ЦЕЛЕВЫХ БЕЛКОВ ЯДА ЗМЕЙ РОДА *AGKISTRODON*

Резюме

На основе яда *Agkistrodon blomhoffi ussuriensis* разработан комплекс методов входящего контроля ядов змей рода *Agkistrodon*, который включает два этапа хроматографического разделения цельного яда и методы определения биологической активности целевых белков. С использованием методов было определено содержание следующих целевых белков: тромбиноподобного фермента, активаторов протромбина и протеина С, фибрино(гено)литического фермента, ингибитора агрегации тромбоцитов и фосфолипазы A_2 . Универсальность разработанного входящего контроля яда змей рода *Agkistrodon* была доказана путём удовлетворительного его применения для ядов видов *A. halys halys*, *A. Acutus* и *A. brevicadus*. Приведена сравнительная характеристика нескольких серий яда *A. brevicadus*; изучена цитотоксичность для всех исследуемых ядов; проведена сравнительная характеристика.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: яд змей рода *Agkistrodon*, контроль качества, жидкостная хроматография, цитотоксичность.

A. I. Zhukova^{1,2}, Ye. M. Krasnobryzha², S. P. Havrylyuk², H. L. Volkov^{1,2}
JSC “NEUTROMICS UKRAINE”¹, KYIV
SHIJIR INTERNATIONAL CO. LTD.², BORO VALLEY, MONGOLIA

THE METHODS DEVELOPMENT FOR TARGET PROTEINS IDENTIFICATION IN THE *AGKISTRODON* SNAKE VENOM

Summary

On the basis of *Agkistrodon blomhoffi ussuriensis* venom we developed a complex of methods for the incoming control included two stages of chromatographic crude venom fractionating and biological activity determination reactions of the target proteins. Using this approach we managed a determination following target proteins: thrombin-like enzyme, prothrombin and protein C activators, fibrino(genolytic) enzymes, platelet aggregation inhibitor and phospholipase A_2 . Universality of the developed approach was approved by its application for the incoming control *A. halys halys*, *A. Acutus* and *A. brevicadus* venoms. Comparative characteristics of the several different batches of *A. brevicadus* venom was held. A cytotoxicity for all investigated venoms was studied.

KEY WORDS: *Agkistrodon* snake venom, quality control, chromatography, cytotoxicity.

Отримано 12.09.11

Адреса для листування: А. І. Жукова, просп. Героїв Сталінграда, 16-Д, кв. 183, Київ, 04210, Україна.

CALAMINTHA OFFICINALIS ЯК ДЖЕРЕЛО ЖИРНИХ КИСЛОТ

Вивчено жирні кислоти у надземній частині *Calamintha officinalis* Moench. Виявлено 15 жирних кислот. Показано високий вміст ненасичених жирних кислот: ліноленової (52,10%), лінолевої (15,68%), олеїнової (5,75%), що є обґрунтуванням подальшого вивчення і застосування рослини при лікуванні шкірних, серцево-судинних і шлунково-кишкових захворювань.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: *Calamintha officinalis* Moench., насичені та ненасичені жирні кислоти.

ВСТУП. *Calamintha officinalis* Moench. (Lamiatae) належить до рослин, які здавна використовують з медичною метою в регіонах з теплим кліматом, зокрема у Середземномор'ї. У надземній частині рослини накопичуються ефірні олії, які надають усій рослині специфічного трав'янистого аромату, що нагадує запах болотної м'яти. В складі есенціальних олій переважають пулегон, карвон, 1,8-цинеол, лимонен, які й зумовлюють використання рослини для косметичних, медичних і кулінарних потреб [9]. Інші складові виду вивчено мало. Виявлено, що витяжки з рослини допомагають при переохолодженні, болю у м'язах, ревматизмі, різних видах уражень шкіри, хворобах шлунка і кишечника, нервових розладах, зокрема безсонні, нервовому напруженні, різних захворюваннях, викликаних стресом [7, 8]. В Україні рослина є інтродукованою. Останнім часом з'явилися повідомлення про антидіабетичну активність витяжок каламінти та здатність інгібувати утворення вільних радикалів [7, 8]. Припускають, що позитивний вплив при лікуванні захворювань пов'язаний з антиоксидантною дією каламінти [7]. Вивчення ФАР проведено здебільшого щодо вмісту ефірних олій [9] та їх антимікробної активності [2, 9]. Відомо, що ефірні олії, виділені шляхом перегонки з водяною парою з подрібнених частин рослин, мають складну структуру, накопичуються в процесі фотосинтезу і мають характерний запах. Жирні рослинні олії (*Olea pinguis*) – суміші складних ефірів гліцерину і вищих жирних кислот (ЖК). Рослини також містять у своєму складі ненасичені ЖК. Комплекс ЖК, які є в рослинних оліях, сприяє

засвоєнню жирів, впливає на процеси, які відбуваються в репродуктивній сфері, а також мають антисклеротичну дію.

Розширення переліку видів, які можуть бути використані як лікарська рослинна сировина (ЛРС), зокрема інтродукованих, передбачає їх всебічне фармакогностичне дослідження. *Calamintha officinalis*, введена в культуру в умовах Львівщини, потребує ретельного дослідження. Зважаючи на те, що різні види рослин родини глухокропивових різняться за складом діючих речовин, фізіологічно активні речовини в складі недостатньо досліджено, а крім того, на їх накопичення впливає багато факторів, зокрема природно-кліматичні, метою даної роботи було вивчити склад жирних кислот надземної частини *Calamintha officinalis*.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктом досліджень була надземна частина *Calamintha officinalis* Moench., вирощеної в Ботанічному саду Львівського національного університету імені Івана Франка, де даний вид було інтродуковано в 2006–2007 рр. з насіння, одержаного з Ботанічного саду Бухареста та Вітебського педагогічного інституту. Заготовлену в період цвітіння і плодоношення у 2010 р. ЛРС висушували в умовах доброго провітрювання до сухого стану. Жирнокислотний склад досліджували з використанням хромато-маспектrometerичної системи на хроматографі Hewlett Packard HP-6890 [3–5, 10]. Розділення проводили на колонці sp-2560 (100 мх 0,25 ммх0,2 мкм). Температурна програма та швидкість потоку: 1,2 мл/хв – 60 хв; 0,2 мл/хв² – 1,1 мл/хв – 20 хв; 0,3 мл/хв² – 1,3 мл/хв – 4,49 хв. Коефіцієнт поділу потоку – 50:1. Тем-

© Н. М. Воробець, 2011.

пература інжектора – 280 °С. Температура детектора – 290 °С. Програма термостата: 60° – 7,50 хв; 4°/хв 150 – 10 хв; 3°/хв 180 – 5 хв; 3°/хв 190 – 2 хв; 3°/хв 230 – 2 хв; 4°/хв 245 – 6,59 хв. Час аналізу – 86,0 хв. Інжектований об'єм – 1,0 мкл. Результати аналізу реєстрували у вигляді хроматограм. Ідентифікацію розділених компонентів проводили з використанням спектральних бібліотек Wiley 275 та NIST 98.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Нами виявлено, що у каламіні містяться як насичені, так і ненасичені ЖК (табл.). При цьому ненасичені суттєво переважають.

Насичені ЖК представлені лауриною, міристиною, пальмітиною, стеариною, нонадеканою, арахіною, трикозаною кислотами. Їх сумарний вміст становить 14,38 %. Серед насичених найбільший вміст пальмітинової кислоти. Велике число карбонових кислот у складі каламіни особливо звертає на себе увагу, оскільки зазвичай є 4–5 основних. Серед ненасичених ЖК найбільший вміст α -ліноленової кислоти – 52,10 %. Вміст інших ненасичених ЖК (пальмітолеїнової, петроселінової, цис-вакценової і транс-вакценової, елаїдинової не перевищує 1 %. Лише вміст олеїнової та лінолевої кислот високий. Особливо цікавими є карбонові кислоти з положенням подвійного зв'язку між $C_{(3)}$ та $C_{(4)}$ вуглецевими атомами, якщо рахувати з кінця вуглеводної частини ланцюга, тобто кислоти, які одержали назву “Омега-3” (ω -3), а також “Омега-6” (ω -6), зокрема ліноленова та ліолева [1]. Представники ω -3 та ω -6 рядів не взаємоперетворюються і утворюють самостійні ряди. Вони мають великий комплекс корисних для людини влас-

тностей: є незамінними у харчовому раціоні людини і надходять лише ззовні з їжею (лінолева, ліноленова, арахідонова кислоти – вітамін F); в складі ліпідів беруть участь у побудові біологічних мембран, забезпечуючи їх плинність і необхідну проникність; слугують попередниками для побудови в клітинах ейкозаноїдів, які включають простагландини, лейкотриєни, тромбоксани та їх похідні; сприяють непроникності шкіри і допомагають розкладу та виведенню з організму холестерину; діють сумісно з фосфоліпідами плазми і можуть впливати на процеси перерозподілу незамінних жирних кислот з плазми та ліпідів еритроцитів в інші внутрішні органи; сприяють внутрішньоутробному розвитку плода.

Результати нашого дослідження свідчать про те, що у каламіні найбільший вміст ліноленової кислоти. Відомо, що вона сприяє швидкому перетворенню холестерину в жовчні кислоти і виведенню його з організму; укріплює стінки кровоносних судин і знижує ризик атеросклерозу, бере участь в обміні вітаміну B_1 та аскорбінової кислоти і покращує провідність нервових імпульсів у центральній і периферичній нервовій системі [7, 8].

Наступною в кількісному відношенні визначено лінолеву кислоту – 15,68 %. Вважають, що наявність ω -6 ЖК в медикаментозних засобах важлива при лікуванні вугрів, алергії, серцево-судинних та імунних захворюваннях, хронічній втомі, остеоартритах, передменструальному синдромі, регулюванні ваги [1]. Застосовуючи рослинні жирні олії, які містять вітаміни та антиоксиданти, ми використовуємо їх природні консервуючі властивості. Це дозволяє не додавати хімічні консерванти та анти-

Таблиця – Вміст жирних кислот у ЛРС *Calamintha officinalis*, % (відносно загальної кількості)

Жирна кислота систематична назва (тривіальна назва)	Молекулярна формула	IUPAC- формула	%
Додеканова (лауринова)	$C_{12}H_{24}O_2$	12:0	1,00
Тетрадеканова (міристинова)	$C_{14}H_{28}O_2$	14:0	2,12
Гексадеканова (пальмітинова)	$C_{16}H_{32}O_2$	16:0	16,07
Цис-9-гексадекенова (пальмітолеїнова)	$C_{16}H_{30}O_2$	16: ω 7	0,72
Октадеканова (стеаринова)	$C_{18}H_{36}O_2$	18:0	0,52
Нонадеканова (-)	$C_{19}H_{38}O_2$	19:0	3,28
Цис-6-октадекенова (петроселінова)	$C_{18}H_{34}O_2$	18:1 ω 12	0,05
Транс-9-октадеценена (елаїдинова)	$C_{17}H_{33}O_2$	18:1 ω 9t	0,06
Транс-11-октадеканова (транс-вакценова)	$C_{18}H_{34}O_2$	C18:1 ω 7t	0,30
Цис-11-октадеканова (олеїнова)	$C_{18}H_{34}O_2$	C18:1 ω 9	5,75
Цис-11-октадеканова (цис-вакценова)	$C_{18}H_{34}O_2$	C18:1 ω 7c	0,80
Цис-цис-9,12-октадекадієнова (ліолева)	$C_{18}H_{32}O_2$	C18:2 ω 6	15,68
Ейкозанова (арахінова)	$C_{20}H_{40}O_2$	C20:0	0,56
Цис-цис-цис-9,12,15-октадекатрієнова (α -ліноленова)	$C_{18}H_{30}O_2$	C18:3 ω 3	52,10
Трикозанова (-)	$C_{23}H_{46}O_2$	C22:0	0,83

біотики для запобігання окисненню компонентів суміші. Отже, можна констатувати біологічну цінність екстрактів з каламінти та прогнозувати, що її використання не обмежене лише в якості косметичних препаратів. Можна припустити позитивний ефект застосування каламінти при серцево-судинних та шлунково-кишкових захворюваннях.

На даний час поліненасичені ЖК одержують, головним чином, з гідробіонтів (препарати "Омега-3" (Єгипет, фірма "Sedico"), "EPAMAX" (Німеччина, фірма "Merck"), "OMEGA-3" (США, фірма "Healthyway production"). Усі вони виготовлені на основі рибачого жиру. Зважаючи

на глобальне забруднення біосфери екоотоксикантами і фіксацію їх у жирових тканинах тварин, актуальною є заміна існуючого сировинного джерела. Результати наших досліджень каламінти свідчать про перспективність її використання. Тим більше, що її можна виростити в повністю контрольованих умовах, відповідно до сучасних вимог.

ВИСНОВОК. Усе вищезазначене може бути аргументацією на користь подальшого вивчення ФАР витяжок з каламінти, виділення з неї цінних органічних компонентів і подальшого їх використання.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Шиков А. Н. Растительные масла и масляные экстракты: технология, стандартизация, свойства / А. Н. Шиков, В. Г. Макаров, В. Е. Рыженков. Издат. Дом. "Русский врач", 2004. – 264 с.
2. Chemical Composition and Biological Activities of *Calamintha officinalis* Moench Essential Oil / M. T. Monforte, O. Tzakou, A. Nostro // Journal of Medicinal Food. – 2011. – **14**, № 3. – P. 297–303.
3. Christie W. W. A practical guide to the analysis of conjugated linoleic acid / W. W. Christie // Inform. – 2001. – **12**. – P. 147–152.
4. Christie W. W. Gas chromatographic analysis of fatty acid derivatives / W. N. Christie // Gas chromatography and lipids: a practical guide. – Bridgewater : The oily press, 1990. – P. 48–75.
5. Chromatographic separation and identification of conjugated linoleic acid isomers / J. A. G. Roach, M. M. Mossova, M. P. Yurawecz [et al.] // Anal. Chim. Acta. – 2002. – **464**. – P. 207–226.
6. Efficiency of *Calamintha officinalis* essential oil as preservative in two topical product types / A. Nostro, M. A. Cannatelli, I. Morelli [et al.] // J. of Applied Microbiology. – 2004. – **97**. – 395–401.
7. In vitro Antioxidant and Anti-rhizopus activities of Lamiaceae herbal extracts / V. Lopez, S. Akerreta, E. Casanova [et al.] // Plant Foods Hum. Nutr. – 2007. – **62**. – P. 151–155.
8. In vitro inhibitory activities of plants used in Lebanon traditional medicine against angiotensin converting enzyme (ACE) and digestive enzymes related to diabetes / M. R. Loizzo, A. M. Saab, R. Tundis [et al.] // J. Ethnopharmacology. – 2008. – **119**. – P. 109–116.
9. Preservative properties of *Calamintha officinalis* essential oil with and without EDTA / A. Nostro, M. A. Cannatelli, I. Morelli [et al.] // Let. In Applied Microbiology. – 2002. – **35**. – P. 385–389.
10. Wolff L. R. Improvement in the resolution of individual trans 18:1 isomers by capillary gas liquid chromatography: use of a 100 m CP-Sil 88 column / L. R. Wolff, C. C. Bayard // J. AOACS. – 1995. – **72**. – P. 1197–1201.

Н. Н. Воробец

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

CALAMINTHA OFFICINALIS КАК ИСТОЧНИК ЖИРНЫХ КИСЛОТ

Резюме

Изучено жирные кислоты в надземной части *Calamintha officinalis* Moench. Обнаружено 15 жирных кислот. Показано высокое содержание ненасыщенных жирных кислот: линоленовой (52,10%), линолевой

(15,68 %), олеиновой (5,75 %), что является обоснованием дальнейшего изучения и применения растения при лечении кожных, сердечно-сосудистых и желудочно-кишечных заболеваний.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *Calamintha officinalis* Moench., насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты.

N. M. Vorobets

DANYLO HALYTSKYI LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

CALAMINTHA OFFICINALIS AS A SOURCE OF FATTY ACIDS

Summary

There were studied fatty acids in aboveground parts of Calamintha officinalis Moench. 15 fatty acids were determined. It was shown a high level of linolenic (52,10 %), linoleic (15,68 %), oleic (5,75 %) acids, which is a substantiation for further investigation and useful for treatment of cutaneous, heart and digestive system.

KEY WORDS: *Calamintha officinalis* Moench., saturated and non-saturated fatty acids.

Отримано 03.08.11

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

**КОНЦЕНТРАЦІЯ НЕЕТЕРИФІКОВАНИХ ФОРМ ЖИРНИХ КИСЛОТ
У ПЛАЗМІ КРОВІ, ПЕЧІНЦІ ТА СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗАХ ЩУРІВ
ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМІЇ ТА ВПЛИВУ
РИБ'ЯЧОГО ЖИРУ**

Вміст неетерифікованих форм жирних кислот у плазмі крові, печінці та скелетних м'язах щурів з експериментальною гіперхолестеринемією та експериментальною гіперхолестеринемією, коригованою згодовуваним риб'ячим жиром, зменшується за рахунок насичених жирних кислот з парним і непарним числами вуглецевих атомів у ланцюгу, мононенасичених жирних кислот родин n-7 і n-9 та поліненасичених жирних кислот родин n-3 і n-6. Щури інтактні, з експериментальною гіперхолестеринемією та з експериментальною гіперхолестеринемією, коригованою згодовуваним риб'ячим жиром, за період досліджу (90 днів) збільшують свою живу масу, відповідно, в 1,04, 1,24 і 1,08 рази.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: щури, плазма крові, печінка, скелетні м'язи, жирні кислоти, експериментальна гіперхолестеринемія, риб'ячий жир.

ВСТУП. Високий рівень холестеролу в плазмі крові вважають одним з найважливіших факторів, з яким пов'язаний патогенез атеросклерозу та ішемічних захворювань серця у людини [2, 5, 16, 19, 20]. В останні роки "холестеролова" концепція патогенезу атеросклерозу доповнена рядом нових положень, зокрема положенням про порушення поглинання клітинами стінки коронарних судин етерифікованого холестеролу [8–10].

При вивченні впливу гіперхолестеринемії на розвиток атеросклерозу і способів його попередження широко використовують лабораторних тварин з гіперхолестеринемією, яку викликають шляхом навантаження холестеролом [14]. При цьому в таких дослідженнях основну увагу звертають на зміни вмісту холестеролу в окремих класах ліпопротеїнів крові лабораторних тварин [12, 17], а зміни концентрації жирних кислот і, як наслідок, їх відкладання у тканинах вивчено значно менше [13].

Дослідження вмісту жирних кислот, насамперед їх неетерифікованих форм, у плазмі крові, печінці та скелетних м'язах тварин у зв'язку з гіперхолестеринемією є дуже актуальним, оскільки ці кислоти здатні перетворювати шкідливу для організму людини і тварин неетерифіковану форму холестеролу в хімічно

нейтральну – етерифіковану. Є дані літератури про те, що процес етерифікації холестеролу неетерифікованими формами жирних кислот проходить прямо у плазмі крові людини і тварин з участю такого ферменту, як лецитинхолестеролацилтрансфераза [1].

Важливу роль при гіперхолестеринемії та метаболічних перетвореннях холестеролу в організмі людини і тварин відіграють поліненасичені жирні кислоти родин n-6 і, особливо, n-3, які містяться у риб'ячому жирі та проявляють антихолестериногенну й антиліпогенну дії, що призводить до зменшення концентрації холестеролу і триацилгліцеролів у плазмі крові. Крім того, поліненасичені жирні кислоти в організмі людини і тварин є джерелом для синтезу біологічно активних речовин – ейкозаноїдів. До останніх належать так звані гормони місцевої дії – простагландини [11, 18].

Про особливості впливу поліненасичених жирних кислот родин n-3 і n-6 в організмі в основному судять за змінами вмісту та співвідношення окремих класів ліпопротеїнів і вмісту холестеролу в плазмі крові [15]. Особливості обміну самих жирних кислот в організмі людини і тварин залишаються нез'ясованими.

Тому, зважаючи на зазначене, метою даної роботи було вивчити вплив згодовуваного

риб'ячого жиру на вміст неетерифікованих форм жирних кислот у плазмі крові, печінці та скелетних м'язах щурів за експериментальної гіперхолестеринемії.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено в умовах віварію на білих щурах-самцях живою масою 180–200 г. Було сформовано три групи щурів (по три тварини у кожній), аналогів за віком і живою масою. Щури контрольної групи отримували стандартний розсипний комбікорм, а тварини 1-ї і 2-ї дослідних груп – такий самий комбікорм, але з добавкою, відповідно, хімічно чистого холестеролу ("Merck", Німеччина) та суміші цього ж холестеролу з фармакопейним риб'ячим жиром. Кількість холестеролу, який додавали до комбікорму, становила 300 мг/кг живої маси на добу, а риб'ячого жиру – 1,0 мл/кг живої маси. Перед додаванням холестеролу до комбікорму його розтирали до борошноподібного стану у фарфоровій ступці. Після цього холестерол і риб'ячий жир ретельно перемішували з комбікормом. Тривалість дослідження становила 90 днів. У кінці дослідження визначили живу масу піддослідних щурів і провели їх забій шляхом декапітації під ефірним наркозом. Отримані від тварин зразки крові, печінки та скелетних м'язів використали для лабораторних досліджень.

Усі втручання та забій тварин проводили з дотриманням вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), та ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001).

В одержаному біологічному матеріалі (плазма крові, печінка, скелетні м'язи) газохроматографічно визначали концентрацію окремих неетерифікованих форм жирних кислот загальних ліпідів [6, 7]. Для цього до відібраних зразків додавали кислоту внутрішнього стандарту (гептадеканоат). Далі проводили екстракцію ліпідів хлороформ-метанольною сумішшю (2:1 за об'ємом), звільнення ліпідів від хлороформу, виділення з ліпідів неетерифікованих форм жирних кислот, їх очищення та метилування метанолом за присутності хлористого ацетилену (каталізатора). Отримані метилові ефіри жирних кислот вводили у випарувач газорідного хроматографічного апарата.

Для досліджень метилових ефірів жирних кислот використано газорідний хроматографічний апарат "Chrom-5" (Laboratori pristroje, Praha), який мав нержавіючу сталеву колонку довжиною 3700 мм і внутрішнім діаметром 3 мм. Колонку заповнювали Chro-

maton-N-AW, зернінням 60–80 меш, силанізованим HMDS (гексаметилдисиланом), покритим полідіетиленглікольадипінатом (нерухомою рідкою фазою) у кількості 10 %. Розхід газу-носія, хімічно чистого та осушеного азоту (рухома фаза) через колонку при вхідному тиску $1,5 \times 10^5$ Па склав близько 65 мл/хв. Горіння полум'я забезпечувалося воднем (25 мл/хв) і повітрям (380 мл/хв). Ізотермічний режим роботи набивної колонки з полярною рідкою фазою утримувався при 196 °С, а випарувача та детектора – 245 °С. Детектор – полум'яно-іонізаційний (FID) як один із найбільш чутливих. Запис результатів хроматографічного аналізу диференціальний. Ефективність колонки, визначена за Мак-Нейр і Бонеллі для загальноприйнятого середнього піку на хроматограмі – метилового ефіру пальмітинової кислоти, склала (1920 ± 82) теоретичних тарілок.

Ідентифікацію піків на хроматограмі проводили методом розрахунку "вуглецевих чисел", а також з використанням хімічно чистих, стандартних, гексанових розчинів метилових ефірів жирних кислот. Розрахунок вмісту окремих жирних кислот за результатами газохроматографічного аналізу проводили за формулою [7], яка включає в себе поправкові коефіцієнти для кожної досліджуваної жирної кислоти. Поправкові коефіцієнти знаходили як відношення площ піків (зокрема висот піків) гептадеканової (внутрішня норма та внутрішній стандарт) та досліджуваної жирної кислоти при концентрації 1:1 й ізотермічному режимі роботи газорідного хроматографічного апарата.

Отриманий цифровий матеріал оброблено методом варіаційної статистики з використанням критерію Стюдента. Розраховували середні арифметичні величини та похибки середніх арифметичних [4]. Зміни вважали вірогідними при $p < 0,05$. Для розрахунків використано спеціальну комп'ютерну програму Origin 6.0, Excel (Microsoft, USA).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Відповідно до даних, наведених у таблиці 1, в плазмі крові щурів з експериментальною гіперхолестеринемією та експериментальною гіперхолестеринемією, коригованою згодовуванням риб'ячим жиром, порівняно з інтактними тваринами, знижувався рівень неетерифікованих форм жирних кислот за рахунок насичених, мононенасичених і поліненасичених жирних кислот. Причому вміст насичених жирних кислот в обох випадках (у плазмі крові щурів з експериментальною гіперхолестеринемією та експериментальною гіперхолестеринемією, коригованою згодовуванням риб'ячим жиром,

порівняно з інтактними тваринами) зменшувався за рахунок жирних кислот з парним (відповідно, до 26,26 і 26,57 проти 30,56 г³/л) і непарним (0,49 і 0,51 проти 0,59) числами вуглецевих атомів у ланцюгу, мононенасичених – жирних кислот родин n-7 (1,53 і 1,57 проти 1,76) і n-9 (64,02 і 64,54 проти 68,90), поліненасичених – жирних кислот родин n-3 (33,40 і 34,30 проти 39,31) і n-6 (39,76 і 40,58 проти 45,92 г³/л). При цьому дещо знижувалося відношення поліненасичених жирних кислот родини n-3 до поліненасичених жирних кислот родини n-6.

Також у плазмі крові щурів з експериментальною гіперхолестеринемією та експериментальною гіперхолестеринемією, коригованою згодовуванням риб'ячим жиром, порівняно з інтактними тваринами, достовірно знижувався рівень неетерифікованих насичених жирних кислот – каприлової, капринової та лауринової, мононенасичених жирних кислот – пальмітоолеїнової та олеїнової, поліненасичених жир-

них кислот – ліноленової, докозадієнової, ейкозапентаєнової. Крім того, в плазмі крові щурів з експериментальною гіперхолестеринемією вірогідно зменшувався вміст такої неетерифікованої насиченої жирної кислоти, як арахінова, такої мононенасиченої жирної кислоти, як ейкозаєнова, таких поліненасичених жирних кислот, як ейкозатриєнова, докозатриєнова, докозатетраєнова та докозапентаєнова.

Наявність змін вмісту неетерифікованих форм насичених, мононенасичених і поліненасичених жирних кислот у плазмі крові щурів з експериментальною гіперхолестеринемією та експериментальною гіперхолестеринемією, коригованою згодовуванням риб'ячим жиром, може вказувати на більш інтенсивне їх використання для етерифікації ліпідів. Цей процес є бажаним, оскільки прямо у плазмі крові за допомогою специфічної ферментної системи (холестеролацилтрансферази) проходить етерифікація дуже шкідливої неетерифікованої форми холестеролу [3].

Таблиця 1 – Вміст неетерифікованих форм жирних кислот у плазмі крові щурів за експериментальної гіперхолестеринемії та її корекції риб'ячим жиром, г³/л (M±m, n=3)

Жирна кислота та її код	Група тварин		
	контрольна (OP)	1-ша дослідна (OP+холестерол)	2-га дослідна (OP+холестерол+риб'ячий жир)
Каприлова, 8:0	0,20±0,011	0,14±0,011*	0,15±0,011*
Капринова, 10:0	0,39±0,018	0,32±0,011*	0,33±0,011*
Лауринова, 12:0	0,59±0,024	0,50±0,014*	0,51±0,014*
Міристинова, 14:0	1,12±0,089	0,86±0,035	0,89±0,038
Пентадеканова, 15:0	0,59±0,018	0,49±0,020	0,51±0,020
Пальмітинова, 16:0	10,72±0,896	9,03±0,159	9,11±0,152
Пальмітоолеїнова, 16:1	1,76±0,046	1,53±0,041*	1,57±0,040*
Стеаринова, 18:0	17,02±0,650	15,00±0,462	15,15±0,459
Олеїнова, 18:1	68,55±0,996	63,74±1,294*	64,21±1,191*
Лінолева, 18:2	26,00±1,425	22,42±0,887	23,02±0,946
Ліноленова, 18:3	13,76±0,543	11,00±0,511*	23,02±0,507*
Арахінова, 20:0	0,52±0,026	0,41±0,017*	0,43±0,017
Ейкозаєнова, 20:1	0,35±0,014	0,28±0,014*	0,33±0,021
Ейкозадієнова, 20:2	0,51±0,024	0,41±0,017*	0,43±0,011*
Ейкозатриєнова, 20:3	3,55±0,111	3,17±0,044*	3,22±0,053
Ейкозатетраєнова-арахідонова, 20:4	10,82±0,659	9,17±0,093	9,27±0,110
Ейкозапентаєнова, 20:5	3,07±0,084	2,57±0,105*	2,69±0,098*
Докозадієнова, 22:2	2,07±0,040	1,78±0,046**	0,83±0,055*
Докозатриєнова, 22:3	2,49±0,075	2,23±0,032*	2,27±0,035
Докозатетраєнова, 22:4	5,04±0,121	4,59±0,081*	4,64±0,087
Докозапентаєнова, 22:5	9,84±0,216	9,08±0,058*	9,24±0,106
Докозагексаєнова, 22:6	10,15±0,704	8,52±0,142	8,64±0,168
Загальний вміст жирних кислот	189,11	167,24	169,90
У т. ч. насичені	31,15	26,75	27,08
мононенасичені	70,66	65,55	66,11
поліненасичені	87,30	74,94	76,71
n-3/n-6	0,86	0,84	0,84

Примітка. Тут і в наступних таблицях: * – p<0,02–0,05; ** – p<0,01.

Результати, які наведено в таблиці 2, свідчать про те, що в печінці щурів з експериментальною гіперхолестеринемією та експериментальною гіперхолестеринемією, коригованою згодовуваним риб'ячим жиром, порівняно з інтактними тваринами, зменшувався вміст неетерифікованих форм жирних кислот за рахунок мононенасичених і поліненасичених жирних кислот. Причому вміст мононенасичених жирних кислот знижувався за рахунок жирних кислот родин n-7 (15,53 і 15,70 проти 18,39) і n-9 (556,80 і 561,17 проти 611,31), а поліненасичених – жирних кислот родин n-3 (364,84 і 371,85 проти 425,74) і n-6 (474,87 і 475,48 проти 529,03 г³/л). Тут відзначено і незначне зниження відношення поліненасичених жирних кислот родини n-3 до поліненасичених жирних кислот родини n-6.

У печінці щурів з експериментальною гіперхолестеринемією та експериментальною гіперхолестеринемією, коригованою згодовуваним риб'ячим жиром, порівняно з інтактними тваринами, достовірно зменшувався вміст

неетерифікованих насичених жирних кислот – капронової, лауринової та стеаринової, мононенасичених жирних кислот – олеїнової та ейкозаєнової і поліненасичених жирних кислот – ейкозатриєнової, докозадієнової, докозапентаєнової та докозагексаєнової. Крім того, в печінці щурів з експериментальною гіперхолестеринемією вірогідно був нижчим рівень таких неетерифікованих насичених жирних кислот, як пентадеканова та пальмітинова, такої мононенасиченої жирної кислоти, як пальмітоолеїнова, таких поліненасичених жирних кислот, як лінолева, ліноленова та ейкозатетраєнова-арахідонова.

Привертає увагу те, що зміни рівня неетерифікованих форм насичених, мононенасичених і поліненасичених жирних кислот у печінці з експериментальною гіперхолестеринемією та експериментальною гіперхолестеринемією, коригованою згодовуваним риб'ячим жиром, можуть вказувати на більш інтенсивне їх використання для етерифікації ліпідів.

Таблиця 2 – Концентрація неетерифікованих форм жирних кислот у печінці щурів за експериментальної гіперхолестеринемії та її корекції риб'ячим жиром, г³/кг (M±m, n=3)

Жирна кислота та її код	Група тварин		
	контрольна (OP)	1-ша дослідна (OP+холестерол)	2-га дослідна (OP+холестерол+риб'ячий жир)
Каприлова, 8:0	2,01±0,104	1,68±0,046*	1,72±0,046
Капринова, 10:0	4,14±0,119	3,61±0,098*	3,69±0,104*
Лауринова, 12:0	6,24±1,130	5,70±0,078*	5,77±0,079*
Міристинова, 14:0	10,11±0,545	8,56±0,172	8,94±0,073
Пентадеканова, 15:0	5,66±0,166	4,98±0,090*	5,11±0,111
Пальмітинова, 16:0	112,16±5,533	90,77±4,463*	92,64±4,651
Пальмітоолеїнова, 16:1	18,39±0,947	15,53±0,234*	15,70±0,262
Стеаринова, 18:0	308,62±6,540	280,77±5,149*	285,36±3,940*
Олеїнова, 18:1	608,16±9,297	553,99±8,829*	558,83±10,135*
Лінолева, 18:2	299,85±12,532	257,20±5,078*	261,50±6,224
Ліноленова, 18:3	142,34±7,595	114,68±5,005*	119,12±5,848
Арахінова, 20:0	4,15±0,075	4,08±0,284	3,96±0,175
Ейкозаєнова, 20:1	3,15±0,063	2,81±0,070*	2,87±0,075*
Ейкозадієнова, 20:2	4,25±0,137	3,85±0,040	3,91±0,052
Ейкозатриєнова, 20:3	48,47±1,121	43,14±1,136*	43,61±1,158*
Ейкозатетраєнова-арахідонова, 20:4	118,41±2,468	106,43±2,912*	108,93±3,204
Ейкозапентаєнова, 20:5	31,40±2,013	26,80±0,358	27,13±0,421
Докозадієнова, 22:2	23,01±1,198	17,50±0,828*	17,73±0,827*
Докозатриєнова, 22:3	25,36±1,383	22,38±0,234	22,58±0,261
Докозатетраєнова, 22:4	58,05±1,229	64,25±7,398	57,53±1,280
Докозапентаєнова, 22:5	101,77±3,452	85,65±2,895*	87,42±2,932*
Докозагексаєнова, 22:6	124,87±2,875	115,33±1,397*	115,60±1,417*
Загальна концентрація жирних кислот	2060,57	1829,69	1849,65
У т. ч. насичені	453,09	400,15	407,19
мононенасичені	629,70	572,33	577,40
поліненасичені	977,78	857,21	865,06
n-3/n-6	0,80	0,77	0,78

Аналізуючи результати досліджень, можна констатувати, що у скелетних м'язах щурів з експериментальною гіперхолестеринемією та експериментальною гіперхолестеринемією, коригованою згодовуваним риба́чим жиром, порівняно з інтактними тваринами, знижувався рівень неетерифікованих форм жирних кислот за рахунок насичених, мононенасичених і поліненасичених жирних кислот (табл. 3). Причому вміст насичених жирних кислот був нижчим за рахунок жирних кислот з парним (відповідно, до 172,38 і 175,97 проти 202,52 г³/л) і непарним (2,24 і 2,30 проти 2,61) числами вуглецевих атомів у ланцюгу, мононенасичених – жирних кислот родин n-7 (7,76 і 7,86 проти 8,25) і n-9 (318,62 і 331,48 проти 404,86), поліненасичених – жирних кислот родин n-3 (113,24 і 114,51 проти 128,58) і n-6 (119,17 і 121,75 проти 136,45 г³/л). Слід відзначити, що при цьому не змінювалось відношення поліненасичених жирних кислот родини n-3 до поліненасичених жирних кислот родини n-6.

Необхідно вказати, що у скелетних м'язах щурів з експериментальною гіперхолестеринемією та експериментальною гіперхолестеринемією, коригованою згодовуваним риба́чим жиром, порівняно з інтактними тваринами, вірогідно знижувався рівень таких неетерифікованих насичених жирних кислот, як лауринова, пентадеканова, пальмітинова та арахісова, мононенасиченої жирної кислоти – ейкозаєнової та поліненасиченої жирної кислоти – докозадієнової. Також у скелетних м'язах щурів з експериментальною гіперхолестеринемією достовірно зменшувався вміст таких неетерифікованих насичених жирних кислот, як каприлова, капронова, міристинова та стеаринова, мононенасичених жирних кислот – пальмітоолеїнової та олеїнової і поліненасичених жирних кислот – лінолевої та ліноленової.

Зміни вмісту неетерифікованих форм насичених, мононенасичених і поліненасичених жирних кислот у скелетних м'язах щурів з експериментальною гіперхолестеринемією та

Таблиця 3 – Рівень неетерифікованих форм жирних кислот у скелетних м'язах щурів за експериментальної гіперхолестеринемії та її корекції риба́чим жиром, г³/кг (M±m, n=3)

Жирна кислота та її код	Група тварин		
	контрольна (OP)	1-ша дослідна (OP+холестерол)	2-га дослідна (OP+холестерол+риба́чий жир)
Каприлова, 8:0	0,85±0,029	0,72±0,017*	0,75±0,023
Капринова, 10:0	1,69±0,113	1,34±0,046*	1,38±0,053
Лауринова, 12:0	2,55±0,093	2,08±0,075*	2,15±0,093*
Міристинова, 14:0	4,35±0,139	3,87±0,061*	3,94±0,069
Пентадеканова, 15:0	2,61±0,085	2,24±0,055*	2,30±0,061*
Пальмітинова, 16:0	80,21±2,659	70,08±1,307*	70,93±1,389*
Пальмітоолеїнова, 16:1	8,25±0,124	7,76±0,065*	7,86±0,087
Стеаринова, 18:0	110,42±3,828	92,30±4,005*	94,74±4,342
Олеїнова, 18:1	403,24±21,26	317,47±14,52*	330,23±16,88
Лінолева, 18:2	67,69±3,013	56,58±2,249*	58,52±1,479
Ліноленова, 18:3	39,47±1,715	33,00±1,143*	33,68±1,428
Арахінова, 20:0	2,45±0,089	1,99±0,048*	2,08±0,076*
Ейкозаєнова, 20:1	1,62±0,078	1,15±0,093*	1,25±0,100*
Ейкозадієнова, 20:2	2,54±0,075	2,13±0,072*	2,22±0,084*
Ейкозатриєнова, 20:3	13,42±0,410	11,91±0,112	12,11±0,168
Ейкозатетраєнова-арахідонова, 20:4	35,38±1,151	32,25±0,298	32,43±0,301
Ейкозапентаєнова, 20:5	10,49±0,462	9,57±0,061	9,66±0,072
Докозадієнова, 22:2	7,35±0,341	6,48±0,064	6,58±0,081
Докозатриєнова, 22:3	7,49±0,323	6,70±0,751	6,79±0,072
Докозатетраєнова, 22:4	17,42±0,355	16,30±0,155	16,47±0,168
Докозапентаєнова, 22:5	32,38±1,539	28,59±0,185	28,81±0,204
Докозагексаєнова, 22:6	38,75±1,778	35,38±0,151	35,57±0,162
Загальний рівень жирних кислот	890,62	739,89	760,45
У т. ч. насичені	205,13	174,62	178,27
мононенасичені	413,11	326,38	339,34
поліненасичені	272,38	238,89	242,84
n-3/n-6	0,94	0,95	0,94

експериментальною гіперхолестеринемією, коригованою згодовуванням риба́чим жиром, можуть вказувати на більш інтенсивне їх використання для етерифікації ліпідів.

Щури інтактні, з експериментальною гіперхолестеринемією та з експериментальною гіперхолестеринемією, коригованою згодовуванням риба́чим жиром, за період досліду (90 днів) збільшували свою живу масу, відповідно, в 1,04, 1,24 і 1,08 раза.

Отже, згодовуваний риба́чий жир суттєво коригує концентрацію неетерифікованих форм жирних кислот у плазмі крові, печінці та скелетних м'язах, а також ріст щурів з експериментальною гіперхолестеринемією.

ВИСНОВКИ. 1. Вміст неетерифікованих форм жирних кислот у плазмі крові, печінці

та скелетних м'язах щурів з експериментальною гіперхолестеринемією та експериментальною гіперхолестеринемією, коригованою згодовуванням риба́чим жиром, зменшується за рахунок мононенасичених жирних кислот родин n-7 і n-9 та поліненасичених жирних кислот родин n-3 і n-6. Крім того, у плазмі крові та скелетних м'язах він зменшується також за рахунок насичених жирних кислот з парним і непарним числами вуглецевих атомів у ланцюгу.

2. Щури інтактні, з експериментальною гіперхолестеринемією та з експериментальною гіперхолестеринемією, коригованою згодовуванням риба́чим жиром, за період досліду (90 днів) збільшують свою живу масу, відповідно, в 1,04, 1,24 і 1,08 раза.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Биохимия человека : в 2 т. / Р. Марри, Д. Греннер, П. Мейес, В. Родуэлл. – М. : Мир, 1993. – Т. 1. – 384 с.
2. Климов А. Н. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения : руководство для врачей / А. Н. Климов, Н. Г. Никульчева. – СПб. : Питер Ком, 1999. – 512 с.
3. Ленинджер А. Молекулярные основы структуры и функций клетки / А. Ленинджер ; пер. с англ. ; под ред. А. А. Бабаева и Я. М. Варшавского. – М. : Мир, 1974. – 957 с.
4. Лопач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях Excel / А. В. Губенко, П. Н. Бабич. – К. : Мартон, 2001. – 410 с.
5. Митченко Е. И. Дислипидемия как фактор развития сердечно-сосудистых заболеваний / Е. И. Митченко // Укр. кардіол. журн. – 2004. – Додаток 1. – С. 28–39.
6. Одночасне хроматографічне визначення окремих етерифікованих і неетерифікованих високомолекулярних жирних кислот (ВЖК) в біологічному матеріалі / Й. Ф. Рівіс, І. В. Скорохід, Б. Б. Данилик, Я. М. Процик // Укр. біохім. журн. – 1997. – **69**, № 2. – С. 110–115.
7. Рівіс Й.Ф. Кількісні хроматографічні методи визначення окремих класів ліпідів і жирних кислот у біологічному матеріалі / Й. Ф. Рівіс, Р. С. Федорук. – Львів : Сполом, 2010. – 109 с.
8. Титов В.Н. Атеросклероз – патология полиеновых жирных кислот / В. Н. Титов // Клин. лаб. диагностика. – 2001. – № 1. – С. 3–8.
9. Титов В. Н. Патогенез атеросклероза для XXI века / В. Н. Титов // Клин. лаб. диагностика. – 1998. – № 1. – С. 3–11.
10. Титов В. Н. Филогенез и становление транспорта жирных кислот / Титов В.Н // Клиническая лабораторная диагностика. – 1999. – № 2. – С.1-6.
11. Цюпко В. В. Структура та значення поліненасичених жирних кислот в обміні речовин людини і тварини / В. В. Цюпко // http://www.nbuv.gov.ua/portal/gol_gum/znpknpu_boil/2008_10/16.html
12. Adipose tissue is required for the antidiabetic, but not for the hypolipidemic, effect of thiazolidinediones / L. Chao, B. Marcus-Samuels, M. M. Mason, [et al.] // J. Clin. Invest. – 2000. – **106**. – P.1221–1228.
13. Dietschy J. M. Control of Cholesterol Turnover in the Mouse / J. M. Dietschy, S. D. Turley // J. Biol. Chem. – 2002. – **277**. – P. 3801–3804.
14. Fernandez M. L. Mechanisms by which dietary fatty acids modulate plasma lipids / M. L. Fernandez, K. L. West // J. Nutr. – 2005. – **135**. – P. 2075–2078.
15. Kris-Etherton, P. Individual fatty acids on plasma lipids and lipoproteins human studies / P. Kris-Etherton, S. Yu // Am. J. Clin. Nutr. – 1997. – **65**. – P. 1628.
16. Mc Lennen P. The cardioprotective role of docosahexanoic acid / P. Mc Lennen // J. Pharmac. – 1996. – **300**. – P. 83–89.
17. Morgado N. Comparative effect of fish oil feeding and other dietary fatty acids on plasma lipoproteins, biliary lipids and hepatic expression of proteins involved in reverse cholesterol transport in the rat / N. Morgado, A. Rigotti, A. Valenzuela // Ann. Nutr. Metab. – 2005. – **49**(6). – P. 397–406.
18. Mori Trevor A. Docosahexaenoic acid but not eicosapentaenoic acid lowers ambulatory blood pressure and heart rate in humans / A. Mori Trevor, Q. Bao Danny, Burke Valerie [et al.] // Hypertension. – 1993. – **34** (2). – P. 253–260.

19. Tanasescu M. Dietary fat and cholesterol and the risk of cardiovascular disease among women with type 2 diabetes / M. Tanasescu // Am. J. Clin. Nutr. – 2004. – **79**. – P. 999–1005.

20. Weggemans K. Dietary cholesterol from eggs increases the ratio of total cholesterol to high-density lipoprotein cholesterol in humans: a meta-analysis / K. Weggemans // Am. J. Clin. Nutr. – 2001. – **73**. – P. 885–891.

Ю. З. Дябога

ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЖИВОТНЫХ НААН, ЛЬВОВ

КОНЦЕНТРАЦИЯ НЕЭТЕРИФИЦИРОВАННЫХ ФОРМ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ПЛАЗМЕ КРОВИ, ПЕЧЕНИ И СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ И ВЛИЯНИИ РЫБЬЕГО ЖИРА

Резюме

Содержание неэтерифицированных форм жирных кислот в плазме крови, печени и скелетных мышцах крыс с экспериментальной гиперхолестеринемией и экспериментальной гиперхолестеринемией, корректуемой скармливаемым рыбьим жиром, уменьшается за счет насыщенных жирных кислот с парным и непарным числом углеродных атомов в цепи, мононенасыщенных жирных кислот семейств n-7, n-9 и полиненасыщенных жирных кислот семейств n-3, n-6. Крысы интактные, с с экспериментальной гиперхолестеринемией и экспериментальной гиперхолестеринемией, корректуемой скармливаемым рыбьим жиром, за период опыта (90 дней) увеличивают свою живую массу, соответственно, в 1,04, 1,24 и 1,08 раза.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: крысы, плазма крови, печень, скелетные мышцы, жирные кислоты, экспериментальная гиперхолестеринемия, рыбий жир.

Yu. Z. Dlyaboha

INSTITUTE OF ANIMAL BIOLOGY OF NAAS, LVIV

CONCENTRATION OF NONETHERIFIED FORMS OF FATTY ACIDS IN THE PLASMA OF BLOOD, LIVER AND SKELETAL MUSCLES OF RATS AT EXPERIMENTAL HYPERCHOLESTERINEMIA AND INFLUENCE OF FISH OIL

Summary

The content of nonetherified forms of fatty acids in the plasma of blood and skeletal muscles of rats at experimental hypercholesterinemia and experimental hypercholesterinemia corrected by way of fish oil feeding decreases due to saturated fatty acids with an even and odd number of carbon atoms in the chain, monounsaturated fatty acids of the n-7 and the n-9 family as well as polyunsaturated fatty acids of the n-3 and the n-6 families. Intact rats with experimental hypercholesterinemia and with experimental hypercholesterinemia corrected by way of fish oil feeding increase their live weight over the period of the experiment (90 days) correspondingly 1,04, 1,24 and 1,08 times.

KEY WORDS: rats, fish oil, plasma of blood, liver, skeletal muscles, experimental hypercholesterinemia.

Отримано 25.05.11

Адреса для листування: Ю. З. Дябога, Інститут біології тварин НААН, вул. В. Стуса, 38, Львів, 79034, Україна.

**МІКРОЕЛЕМЕНТИ ТКАНИН ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ ЩУРІВ
ЗА ДІЇ ХЛОРИДУ І НАНОЦИТРАТУ ХРОМУ**

Вивчали вплив сполук хрому на вміст есенціальних елементів у тканинах внутрішніх органів щурів. Виявлено підвищення вмісту хрому в легенях, печінці, нирках і селезінці, цинку – в легенях, печінці й нирках, міді – в селезінці, марганцю – в легенях і селезінці тварин дослідних груп. Знижувався вміст заліза у всіх досліджуваних тканинах, міді – в печінці й нирках, марганцю – в печінці, кобальту – в нирках і селезінці. Встановлено інтенсивніший вплив наноцитрату хрому на вміст цих мікроелементів у тканинах порівняно з хлоридом хрому.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: мікроелементи, щури, наноцитрат хрому, хлорид хрому.

ВСТУП. Мікроелементи регулюють життєво необхідні процеси в організмі людини і тварин, їх висока біологічна активність пов'язана з участю в синтезі вітамінів, гормонів та їх роллю як структурних одиниць у молекулах ферментних систем [4]. Надзвичайно важлива роль у забезпеченні елементного статусу належить механізмам регуляції взаємодії хімічних елементів між собою та з іншими біологічно активними речовинами, що проявляється у вигляді синергічних і антагоністичних ефектів.

Одним із найменш вивчених, але найважливіших мінеральних елементів для людей і тварин є хром (Cr^{3+}), який підтримує нормальну функцію інсуліну, сприяє транспорту глюкози з крові в клітини печінки, м'язів і жирової тканини [16]. Додатки хрому використовують у вигляді неорганічних (в основному це хлорид хрому) та органічних (піколінат, нікотинат, цитрат хрому) сполук, які мають вищий рівень засвоєння цього елемента в організмі [16]. В останні декілька років досліджують використання органічних сполук мікроелементів, у т. ч. хрому, у вигляді наночастинок, в яких присутність мікроелементів зведена до мінімуму зі збереженням високої їх біологічної активності. Є повідомлення, що при додаванні Cr^{3+} в дозах 75, 150, 300, 450, 600 мкг/кг у вигляді наночастинок збільшувалися середньодобові прирости щурів, кількість спожитої їжі та підвищувалася концентрація хрому в окремих тканинах залежно від дози [10]. Однак відсутні дані щодо біологічного впливу наноцитрату

хрому як найбільш наближеної до метаболічно нативної сполуки для організму ссавців. Тому метою цієї роботи було вивчити дію хлориду хрому і наноцитрату хрому на вміст мікроелементів у тканинах внутрішніх органів щурів – печінці, нирках, селезінці й легенях, де, згідно з даними літератури, найбільше може накопичуватися хром [14].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для проведення досліджень було підбрано 3 групи білих лабораторних щурів-самців лінії Вістар, яким згодували стандартний комбікорм. Тваринам контрольної групи випоювали дистильовану воду без вмісту хрому. Дослідні групи щурів отримували хром, розчинений у воді? в дозах: 1-ша дослідна – 200 мкг Cr^{3+} /л у вигляді $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 2-га дослідна – 50 мкг Cr^{3+} /л у вигляді водного розчину наноцитрату хрому ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CrO}_7$), отриманого за методом Каплуненка-Косінова [6]. Після 30-денного випоювання розчинів хрому щурів під легким ефірним наркозом декапітувати. Матеріалом для досліджень були тканини внутрішніх органів щурів: легені, нирки, печінка, селезінка. Вміст мікроелементів у тканинах визначали на атомно-абсорбційному спектрофотометрі СП-115ПК після сухої мінералізації зразків [5]. Одержані цифрові дані обробляли статистично за допомогою програми Microsoft EXCEL.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Згідно з результатами наших досліджень (рис. 1–4), при додаванні щурам хлориду та наноцитрату хрому його вміст у тканинах внутрішніх органів

зростає. Так, у легенях тварин 1-ї та 2-ї дослідних груп вміст Cr^{3+} збільшувався, відповідно, у 2,6 і 7,3 раза, в печінці – у 2,4 і 2,5 раза, в нирках – у 2,1 і 1,6 раза, в селезінці – у 2,2 і 1,5 раза. Найвищий вміст Cr^{3+} у тканинах легень щурів, яким виводили наночастинок хрому, може свідчити про вибіркиму здатність органа до нагромадження наночастинок цього елемента.

Ці результати підтверджують дослідження інших авторів на свинях [8], які визначали вміст хрому в тканинах при додаванні тваринам різної кількості піколінаату хрому (0, 200, 600 і 1000 мкг Cr^{3+} /кг корму). Концентрації Cr^{3+} лінійно зростали залежно від доз у надниркових залозах, нирках і печінці.

Відомо, що найбільш розповсюдженим в організмі мікроелементом є залізо (Fe), яке бере активну участь у різних фізіологічних процесах – тканинному диханні, біологічному окисненні, мітозі, біосинтезі колагену, тирозину, катехоламінів та ДНК [2]. Метаболізм заліза тісно пов'язаний з обміном інших мікро-

елементів в організмі, в т. ч. хрому. Зв'язок між Cr^{3+} і Fe був досліджений багатьма авторами, оскільки обидва ці елементи транспортуються трансферином [14] і, відповідно, конкурують за сайти зв'язування. Це причина низьких концентрацій Cr^{3+} у пацієнтів, які страждають від гемохроматозу, порівняно зі здоровими особами [15].

У наших дослідженнях (рис. 1–4) спостерігали зниження концентрації заліза у тканинах тварин 1-ї і 2-ї дослідних груп: у печінці – в 1,2 і 1,8 раза відповідно, у нирках – в 1,3 і 1,4 раза, у селезінці – в 1,1 і 1,2 раза, у легенях лише в 2-й дослідній групі – в 3,8 раза. Характерно, що в досліджуваних тканинах відзначали обернену залежність між вмістом Cr^{3+} і Fe, яка найбільш виражена для тканин легень щурів 2-ї дослідної групи – зростання вмісту Cr^{3+} в 7,3 раза зумовлювало зменшення рівня Fe у 3,8 раза. Встановлені залежності узгоджуються з даними інших авторів про зниження концентрації Fe у тканинах організму у відповідь на добавки Cr^{3+} [9].

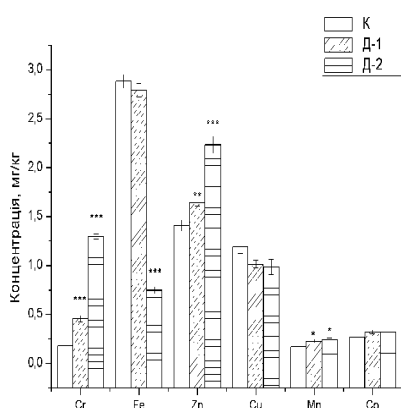


Рис. 1. Вміст мікроелементів у легенях за дії сполук хрому.

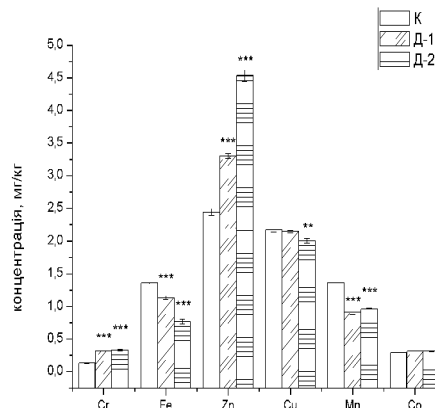


Рис. 2. Вміст мікроелементів у печінці за дії сполук хрому.

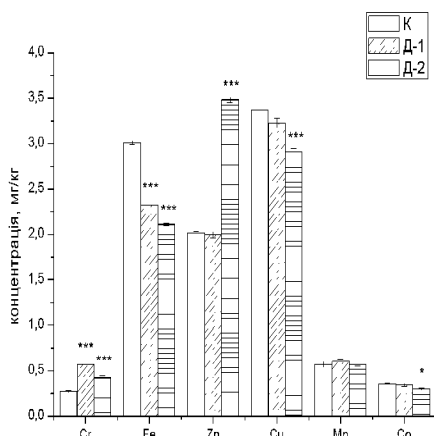


Рис. 3. Вміст мікроелементів у нирках за дії сполук хрому.

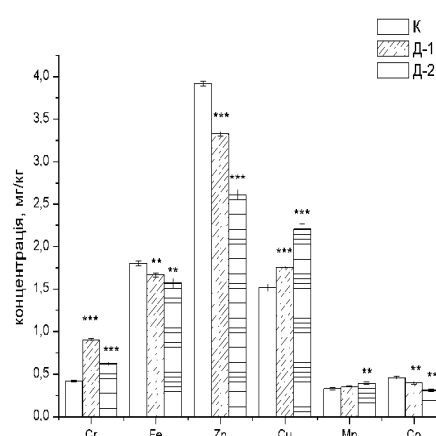


Рис. 4. Вміст мікроелементів у селезінці за дії сполук хрому.

Примітка. Вірогідні відмінності показників у щурів дослідних груп порівняно з контрольною: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$.

Не менш важливим для життєдіяльності організму є цинк (Zn), який необхідний для функціонування більш ніж 100 ферментів, у тому числі ДНК- та РНК-полімерази, карбокси-пептидази, оксидоредуктази, трансферази, алкогольдегідрогенази, що пов'язані з обміном вуглеводів, білків, синтезом нуклеїнових кислот і гему, транспортом CO₂ тощо [7]. Однак ми не знайшли даних щодо взаємозв'язку Zn із Cr³⁺ в організмі тварин, у т. ч. з його наносполуками.

Згідно з результатами наших досліджень, концентрація Zn зростала як у 1-й, так і в 2-й дослідних групах: у легенях – в 1,2 і 1,6 разів відповідно, у печінці – в 1,3 і 1,8 разів та у нирках – в 1,7 разів (лише в 2-й дослідній групі), тоді як у селезінці вміст Zn знижувався у тварин 1-ї (в 1,2 разів) та 2-ї (в 1,5 разів) дослідних груп порівняно з контролем.

Отже, одержані результати вказують на прямий зв'язок між вмістом Cr³⁺ і Zn у тканинах легень і печінки незалежно від застосованої мінеральної чи органічної його сполуки та зворотний зв'язок для вмісту даних елементів у селезінці, що може зумовлюватися функціями цього органа. Характерним є різний вміст Cr³⁺ і Zn у тканинах нирок щурів дослідних груп. Менш виражене збільшення рівня хрому в тканинах нирок тварин 2-ї дослідної групи, порівняно з 1-ю, супроводжувалося вірогідним підвищенням вмісту Zn у цих тканинах. Очевидно, наноцитрат хрому в застосованій кількості стимулює нагромадження Zn у тканинах нирок, але на нижчому рівні, ніж у печінці.

Цинк є конкурентом міді у процесах абсорбції в кишечнику, тому при високій його концентрації може розвинути дефіцит міді в організмі. А мідь (Cu), у свою чергу, входить до складу всіх оксидаз і, таким чином, є важливим елементом окисно-відновних реакцій організму [1] та може виявляти антагоністичний чи синергічний зв'язок із Cr³⁺.

За результатами наших досліджень (рис. 1–4), вміст Cu у тканинах окремих органів тварин специфічно реагував на добавки хрому. Так, вміст Cu зростав у селезінці щурів в 1,2 разів в 1-й дослідній групі та в 1,5 разів – в 2-й. Проте встановлено дещо нижчий рівень Cu у легенях тварин обох дослідних груп на тлі високого вмісту Cr³⁺, тоді як у печінці й нирках вміст Cu зменшувався, відповідно, в 1,1 і 1,2 разів в 2-й дослідній групі при невисокому рівні Cr³⁺, що може зумовлюватися метаболічними і функціональними відмінностями тканин цих органів. Отримані нами результати під-

тверджують дані літератури, згідно з якими при експериментально індукованому Cr-дефіциті у кіз [12] виявлено підвищення концентрації Cu в нирках і печінці порівняно з контролем. Є повідомлення про те, що знижуються втрачені деяких мікроелементів (Zn, Fe, Cu і Mn) під час стресу в мишей після додавання Cr³⁺ [11].

Отримані нами експериментальні дані свідчать про те, що найбільше марганцю (Mn) міститься в печінці тварин як контрольної, так і дослідних груп. Відомо, що печінка є депо Mn в організмі, а з кров'ю він транспортується трансферином і, можливо, α₂-макроглобуліном та альбуміном [13].

У наших дослідженнях встановлено зменшення рівня Mn у тканинах печінки тварин 1-ї (в 1,5 разів) та 2-ї (в 1,4 разів) дослідних груп на тлі підвищеного вмісту Cr³⁺ у цих тканинах, що може свідчити про його інгібуючий вплив на депонування Mn. Зростання концентрації Mn спостерігалось у легенях тварин 1-ї (в 1,3 разів) та 2-ї (в 1,4 разів) дослідних груп, а також у селезінці (в 1,2 разів) лише в 2-й дослідній групі, однак рівень її був нижчим, ніж у печінці. Очевидно, невисокий вміст Mn у тканинах цих органів може зумовлюватися вищим вмістом Cr³⁺.

Важливо було також з'ясувати зв'язок Cr³⁺ з кобальтом (Co) – мікроелементом, який впливає на обмін вуглеводів, жирів і білків, синтез нуклеїнових кислот, перебіг окисно-відновних реакцій в організмі. Біологічна активність кобальту визначається його участю в складі вітаміну B₁₂ і його коферментних форм у засвоєнні заліза і, таким чином, запобіганні розвитку анемії [3]. Проте не з'ясовано фізіологічну залежність вмісту цього мікроелемента від дії Cr³⁺ в цілому і його наноформи зокрема.

При додаванні сполук хрому спостерігалась тенденція до вищого рівня Co в тканинах легень і печінки щурів дослідних груп. Разом із тим, за впливу хлориду хрому відбувалось незначне зниження вмісту Co в селезінці (в 1,1 разів), а за дії наноцитрату хрому – зменшення вмісту Co в селезінці (в 1,5 разів) та нирках (в 1,2 разів), що корелює із вмістом Fe у цих тканинах і може мати антагоністичний механізм впливу Cr³⁺ на рівень даних елементів у селезінці та нирках. Отримані нами результати певною мірою доповнюють дані інших авторів, які спостерігали збільшення концентрації Co в нирках при експериментальному Cr-дефіциті у кіз [12].

Таким чином, проведені експериментальні дослідження свідчать про органо-тканинну специфічність впливу Cr³⁺, що надходить з

неорганічних і органічних сполук на фізіологічні рівні інших мікроелементів в організмі, їх синергічні й антагоністичні взаємозв'язки, які необхідно ще вивчити і враховувати у майбутніх експериментальних дослідженнях.

ВИСНОВОК. Наноцитрат хрому, незважаючи на в 4 рази нижчу його концентрацію, порівняно з хлоридом хрому, в тканинах печінки, нирок, легень і селезінки щурів, інтенсивніше впливає на вміст інших мікроелементів.

Це свідчить про те, що наноцитрат хрому, очевидно, краще всмоктується в травному каналі й, незважаючи на невеликі концентрації введення в організм, проявляє вищу біологічну активність. Використання органічних сполук мінеральних елементів у вигляді наночастинок, в яких присутність мікроелементів зведена до мінімуму зі збереженням високої їх біологічної активності та безпеки для організму, є перспективним науковим напрямком у нанобіології.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бабенко Г. А. Биологическая роль меди / Г. А. Бабенко. – М. : Наука, 1997. – 239 с.
2. Ермоленко В. М. Физиология метаболизма железа / В. М. Ермоленко, Н. Н. Филатов // Анемия. – 2004. – № 1. – С. 3–10.
3. Жаворонков А. А. Микроэлементозы – новый класс болезней человека, животных и растений / А. А. Жаворонков, Л. М. Михалева, А. П. Авцын // Проблемы биогеохимии и геохимической экологии. – М. : Наука, 1999. – С.189–199.
4. Маркевич В. Е. Порушення мікроелементного балансу у дітей / В. Е. Маркевич, А. М. Лобода // Вісник СумДУ. – 2009. – № 1. – С. 117–123. – (Серія "Медицина").
5. Межгосударственный стандарт "Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения токсических продуктов" : ГОСТ 30178-96. – [Введ. 1998-01-01]. – Минск : Изд-во стандартов, 2003. – 11 с.
6. Пат. України на корисну модель № 29856. МПК (2006): В01J 13/00, В82В 3/00. Спосіб отримання аквахелатів нанометалів "Ерозійно-вибухова нанотехнологія отримання аквахелатів нанометалів" / Косінов М. В., Каплуненко В. Г. ; Опубл. 25.01.08, Бюл. № 2/2008.
7. Скальный А. В. Микроэлементозы у детей: распространенность и пути коррекции : практическое пособие для врачей / А. В. Скальный, Г. В. Яцык, Н. Д. Одинаева. – М. : Изд-во КМК, 2002. – 86 с.
8. A regional evaluation of chromium tripicolinate supplementation of diets fed to reproducing sows M. D. Lindemann, S. D. Carter, L. I. Chiba [et al.] // Journal of Animal Science. – 2004. – **82**. – P. 2972–2077.
9. Dietary chromium effects on tissue chromium concentrations and chromium absorption in rats / R. A. Anderson, N. A. Bryden, M. M. Polansky, K. Gautschi // Journal of Trace Elements in Experimental Medicine. – 1996. – **9**. – P. 11–25.
10. Effects of chromium nanoparticle dosage on growth, body composition, serum hormones and tissue chromium in Sprague-Dawley rats / L. Y. Zha, Z. R. Xu, M. Q. Wang, L. Y. Gu // J. Zhejiang Univ Sci B. – 2007. – **8**, № 5. – P. 323–330.
11. Effects of chromium supplementation on feed energy utilization and the trace element composition in the liver and heart of glucose-exposed young mice G. N. Schrauzer, K. P. Shresta, T. B. Molenaar, S. Mead // Biological Trace Element Research. – 1986. – **9**. – P. 79–87.
12. Frank A. Experimental copper and chromium deficiency and additional molybdenum supplementation in goats / A. Frank, R. Danielsson, B. Jones // Science of the Total Environment. – 2000. – **249**. – P. 143–170.
13. Identification of transferrin as the major plasma carrier protein for manganese introduced orally or intravenously or after in vitro addition in the rat / L. Davidsson, B. Lonnerdal, B. Sandstrom [et al.] // J. Nutr. – 1989. – **119**. – P. 1461–1464.
14. Pechova A. Chromium as an essential nutrient: a review / A. Pechova, L. Palvata // Veterinarni Medicina. – 2007. – **52**, № 1. – P. 1–18.
15. Sargeant T. Reduced chromium retention in patients with hemochromatosis: a possible basis of hemochromatotic diabetes / T. Sargeant, T. H. Lim, R. L. Jenson // Metabolism. – 1979. – **28**. – P. 70–79.
16. Vincent J. B. The Nutritional Biochemistry of Chromium(III). Department of Chemistry The University of Alabama Tuscaloosa, USA, 2007. – 277 p.

МИКРОЭЛЕМЕНТЫ ТКАНЕЙ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ ХЛОРИДА И НАНОЦИТРАТА ХРОМА

Резюме

Изучали влияние соединений хрома на содержание эссенциальных элементов в тканях внутренних органов крыс. Обнаружено повышение содержания хрома в легких, печени, почках и селезенке, цинка – в легких, печени и почках, меди – в селезенке, марганца – в легких и селезенке животных опытных групп. Снижалось содержание железа во всех исследуемых тканях, меди – в печени и почках, марганца – в печени, кобальта – в почках и селезенке. Установлено более интенсивное влияние наноцитрата хрома на содержание этих микроэлементов в тканях в сравнении с хлоридом хрома.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **микроэлементы, крысы, наноцитрат хрома, хлорид хрома.**

R. Ya. Iskra
INSTITUTE OF ANIMAL BIOLOGY OF NAAS OF UKRAINE, LVIV

RATS' INNER ORGANS TISSUES MICROELEMENTS AT ACTION OF CHLORIDE AND CHROMIUM NANOCITRATE

Summary

Influence of nanocompounds of chromium on essential elements content in rats' inner organs tissues was studied. The increase of chromium content in lungs, liver, kidneys and spleen, zinc – in lungs, liver and kidneys, copper – in spleen, manganese – in lungs and spleen of experimental group animals was revealed. Iron content decreased in all researched tissues, copper – in lungs and liver, manganese – in liver, cobalt – in kidneys and spleen. Intensive influence of chromium nanocitrate on these microelements content in comparison with chromium chloride was established.

KEY WORDS: **microelements, rats, chromium nanocitrate, chromium chloride.**

Отримано 18.07.11

Адреса для листування: Р. Я. Искра, Інститут біології тварин НААН, вул. В. Стуса, 38, Львів, 79034, Україна.

СТАТЕВІ ОСОБЛИВОСТІ МЕТАБОЛІЧНИХ ЗМІН У МІОКАРДІ ТВАРИН З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ГІПОТИРЕОЗОМ

У досліджах на самцях і самках щурів з експериментальним гіпотиреозом було визначено активність перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), антиоксидантної системи (АОС), ферментів, що контролюють процеси енергозабезпечення в міокарді. Гіпотиреоз викликали шляхом щоденного згодовування 75 мг/кг мерказолілу. Через 5, 10 та 15 днів від початку експерименту в гомогенаті міокарда шлуночків досліджували вміст первинних та вторинних продуктів ПОЛ, активність ферментів антиоксидантної системи – супероксиддисмутази (СОД), каталази (КАТ), глутатіонпероксидази (ГП), глутатіонредуктази (ГР). Крім того, вивчали активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) і цитохромоксидази (ЦО). Встановили, що розвиток експериментального гіпотиреозу викликає накопичення в міокарді тварин обох статей первинних та вторинних продуктів ПОЛ, що в самців було більш суттєвим лише на ранньому етапі розвитку патології (5 днів). Прогресування дефіциту тиреоїдних гормонів гірше впливало на активність АОС міокарда самок, що підтверджувалося суттєвішим, ніж у самців, пригніченням активності СОД, ГП та ГР. Відсутність подальшої (10 та 15 днів експерименту) відмінності між самцями і самками за вмістом продуктів ПОЛ була результатом кращого у самців функціонування ферментів АОС. Прогресування гіпофункції щитоподібної залози викликало пригнічення активності сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази, що більшою мірою проявлялося в самок.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіпотиреоз, метаболізм міокарда, стать.

ВСТУП. В останні 10 років, за результатами численних досліджень, присвячених проблемі гіпотиреозу, суттєво змінилося ставлення до проблеми гіпотиреозу. Цю патологію віднесено до групи найбільш поширених ендокринопатій через те, що 10–12 % працездатного населення страждають від субклінічних варіантів. Поряд із тим, яскраво виражений за зміною рівня основних тиреоїдних гормонів гіпотиреоз може перебігати безсимптомно, що провокує розвиток ускладнень. У 70–80 % хворих на гіпотиреоз є симптоми ураження серця – гіпотиреоїдна міокардіодистрофія, порушення ритму та функціональної спроможності скоротливого міокарда, викликане структурною його дезорганізацією: порушенням транскapілярного проникнення білків, дистрофією і фіброзом міокарда [2, 8, 11, 13].

Зважаючи на низку наукових досліджень, які свідчать про особливості розвитку патології серця залежно від статі [12], та дані ВООЗ, які показують, що серед людей віком понад 60 років гіпотиреоз реєструється в 6 % жінок та лише в 2,5 % чоловіків [1], актуальним на сьогодні є вивчення особливостей патогенезу пошкодження серця за умов недостатньої гормонопродукуючої функції щитоподібної залози

© М. Р. Хара, В. М. Михайлюк, 2011.

зи в статевому аспекті. У доступних наукових джерелах немає інформації про особливості порушень метаболізму в міокарді при гіпотиреозі у людей чи тварин різної статі. Отримання таких даних сприяло б більш диференційованому підходу до лікування та профілактики ускладнень з боку серця у таких хворих. Метою дослідження було встановити статеві відмінності метаболічних порушень у міокарді щурів з експериментальним гіпотиреозом в динаміці його розвитку.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди провели на 48 статевозрілих самцях та самках щурів, у яких відтворювали гіпотиреоз шляхом введення мерказолілу (75 мг/кг) протягом 15 днів. Через 5, 10 та 15 діб експерименту в міокарді шлуночків досліджували вміст первинних (дієнові – ДК і триєнові кон'югати – ТК) [6] та вторинних (ТБК-активні продукти – ТБК-АП) продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) [7], активність ферментів антиоксидантної системи (АОС), зокрема супероксиддисмутази (СОД) [10], каталази (КАТ) [3], глутатіонпероксидази (ГП) та глутатіонредуктази (ГР) [5]. Для оцінки стану енергозабезпечення визначали активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) [9] та цитохромоксидази (ЦО) [4]. Усі

експерименти проводили з дотриманням принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985), ухвалених на Першому національному конгресі з біоетики (Київ, 2001). Результати дослідження піддавали математичній обробці з використанням параметричних методів статистичного аналізу з визначенням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Проведені дослідження показали, що експериментальне відтворення недостатньої гормонопродуруючої функції щитоподібної залози незалежно від статі тварин викликало розвиток метаболічних змін у міокарді (табл. 1). Це підтверджувалося накопиченням у ньому первинних та вторинних продуктів ПОЛ. Зокрема, через 5 днів від початку експерименту вміст ДК в міокарді самок зріс у 2 рази, ТК – у 2,2 раза. Через 10 днів спостереження дані показники стали меншими за попередні, відповідно, на 37 % та 2,9 раза, достовірно не відрізняючись від контролю. Друга хвиля підвищення вмісту первинних продуктів ПОЛ у міокарді самок з експериментальним гіпотиреозом відбулася через 15 днів від моменту згодовування мерказолілу. Приріст відносно контролю ДК та ТК на даному етапі спостереження склав 3,7 та 3,7 раза відповідно. Динаміка вмісту вторинних продуктів ПОЛ була подібною. Через 5 днів експерименту вміст ТБК-АП у міокарді самок зріс на 39 %, через 10 днів переважав контрольне значення лише на 5 %, через 15 днів – на 80 %.

Хвилеподібний характер змін зазначених вище показників може стати зрозумілим, зважаючи на динаміку активності ферментів АОС. Так, через 5 днів згодовування мерказолілу активність СОД зменшилася у 14,7 раза, через 10 днів залишалася меншою в 11 разів, через 15 днів – у 8,2 раза, що свідчило про ранню та значну депресію ферменту. Разом із тим, активність КАТ через 5 днів спостереження зросла у 2,6 раза, ГП – в 1,6 раза, ГР – у 2,5 раза. Через 10 днів експерименту показники активності КАТ та ГП переважали контроль, відповідно, в 2,5 та 2,8 раза, що пояснює значне зменшення вмісту ДК та ТК у міокарді в даний період маніфестації гіпотиреозу. Відсутність достовірної різниці за активністю ГР відображало фактичне її зменшення. Через 15 днів розвитку експериментального гіпотиреозу про напруження системи антиоксидантного захисту міокарда свідчила лише у 2,8 раза збільшена активність КАТ при незмінних, порівняно з контролем, значеннях ГП та ГР. Зважаючи на розвиток патологічного процесу і метаболічних порушень у міокарді, що підтверджувався суттєвим накопиченням первинних та вторинних продуктів ПОЛ, такий стан речей вказував на недостатню активність АОС та, за винятком КАТ, найімовірніше, був наслідком значної депресії вищезазначених ферментів.

У самців динаміка показників ПОЛ та АОС була подібною до такої в самок. Вміст ДК та ТК через 5 днів спостереження збільшився у 5,3 та 5,1 раза, через 10 днів переважав контрольне значення в 1,8 та 1,7 раза, через 15 днів – в 4,6 та 4,3 раза відповідно. Вміст ТБК-АП через 5 днів експерименту зріс у 5 разів, через

Таблиця 1 – Показники активності ліпопероксидації та антиоксидантного захисту міокарда самців і самок тварин з гіпотиреозом ($M \pm m$, $n=6$)

Показник	Стать	Термін спостереження			
		К	5 днів	10 днів	15 днів
ДК, (ум. од./г)·10 ⁻³	♀	78,8±6,0	162,3±16,1 ***###	103,0±17,1	290,0±2,4 ***
	♂	64,5±4,3	339,5±6,1 ***	117,3±22,6 *	295,7±4,2 ***
ТК, (ум. од./г)·10 ⁻³	♀	76,2±3,3	169,7±15,3 ***	109,0±17,3	284,3±2,9 ***
	♂	67,5±4,1	341,0±5,8 ***###	118,0±20,8 *	291,5±2,9 ***
ТБК-АП, (мкмоль/кг)·10 ⁻³	♀	323,8±4,2	449,7±3,9 ***	340,0±4,2 *	582,8±7,6 ***
	♂	382,8±7,6	853,2±21,8 ***###	395,5±5,8 ###	707,0±18,2 ***###
СОД, (ум. од./мг)·10 ⁻²	♀	65,0 ±1,6	4,4±0,6 ***	5,9±0,7 ***	7,9±0,2 ***
	♂	62,8±0,4	5,9±0,2 *** #	4,1±0,5 *** #	48,0±0,5 ***###
КАТ, мккат/кг	♀	1,94±0,12	5,05±0,02 ***	4,81±0,16 ***	5,35±0,04 ***
	♂	1,69±0,08	4,60±0,19 *** #	4,29±0,29 ***	5,75±0,12 *** #
ГП, ммоль/хв·кг	♀	0,09±0,03	0,14±0,02 *	0,25±0,03 ***	0,10±0,01
	♂	0,13±0,01	0,16±0,08	0,24±0,09	0,08±0,01 ***
ГР, ммоль/хв·кг	♀	0,024±0,003	0,061±0,010 *	0,030±0,004	0,028±0,002
	♂	0,031±0,004	0,043±0,009	0,033±0,006	0,030±0,006

Примітка. * – достовірна відмінність відносно контролю (* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$); # – остоверна відмінність між статтями (# – $p < 0,05$, ## – $p < 0,01$, ### – $p < 0,001$).

10 днів був на рівні контролю, через 15 днів переважав порівнюване значення на 85 %.

Активність СОД через 5 днів від початку згодкування мерказолілу стала меншою в 10,6 раза, через 10 днів – в 15,5 раза, через 15 днів – лише на 31 %. Активність КАТ, аналогічно до самок, зростала, що через 5 днів спостереження становило 2,7 раза, через 10 днів – 2,5 раза, через 15 днів – 3,4 раза. Слід зазначити, що достовірні зміни активності ГП, які відображали зменшення активності ферменту на 62,5 %, реєстрували лише через 15 днів спостереження. Динаміки активності ГР зареєстровано не було.

Для визначення статеві відмінності досліджуваних показників було проведено порівняння динаміки та абсолютних значень у самців і самок в аналогічні періоди розвитку гіпотиреозу. Варто сказати, що за вмістом первинних продуктів ПОЛ групи різнилися лише через 5 днів від початку спостереження, зокрема вміст ДК у міокарді самців був у 2,1 раза більшим, ТК – у 2 рази. Суттєвіша відмінність виявилася за вмістом ТБК-АП. Так, через 5 днів спостереження даний показник самців переважав такий у самок в 1,9 раза, через 10 днів – на 16 %, через 15 днів – на 21 %. Загалом, відсутність значної різниці порівнюваних значень самців і самок, зважаючи на суттєвіший у самців приріст вмісту продуктів ПОЛ, можна пояснити більшою в останніх активністю СОД через 15 днів експерименту. Значення даного показника у самців переважало таке у самок в 6,1 раза. До того ж, і активність КАТ була на 7,5 % більшою, ніж у самок. Такий стан речей дозволяє стверджувати, що прогресування дефіциту тиреоїдних гормонів справляє гірший вплив на міокард самок. Незважаючи на антиоксидантні властивості естрогенів, ферментативна ланка АОС у них страждає сильніше, що проявляється пригніченням активності СОД, ГП та ГР.

Важливу роль у життєдіяльності міокарда відіграє енергозабезпечення, що одночасно є критерієм метаболічної ефективності тирео-

їдних гормонів. Для оцінки даного процесу в динаміці розвитку мерказолілового гіпотиреозу було проаналізовано активність СДГ та ЦО і проведено порівняльний аналіз показників, отриманих у самців і самок (табл. 2). Встановлено, що в самок активність СДГ зменшувалася вже через 5 днів від початку згодкування тваринам мерказолілу в зазначеній дозі, що становило 22 % і підтверджувало не лише адекватність експериментальної моделі, але й пригнічення ефективності циклу Кребса. Через 10 днів дана закономірність збереглася, а через 15 активність СДГ була меншою за контрольне значення на 25 %, що свідчило про поглиблення встановлених порушень. Аналогічні зміни виявлено і при аналізі активності ЦО в міокарді самок, яка через 5 днів від початку моделювання гіпотиреозу стала меншою на 21 %, через 10 днів – на 16 %, а через 15 днів – на 27 %. У самців активність обох досліджуваних ферментів також знижувалася, що через 5 днів спостереження для СДГ становило 22 %, через 10 днів – 24 %, через 15 днів – 27 %, для ЦО – 19, 23 та 18 % відповідно.

Варто зазначити, що чітка і достовірна відмінність між самцями і самками спостерігалася лише при аналізі активності ЦО. Попри встановлену депресію у тварин обох статей, активність ферменту на всіх етапах розвитку гіпотиреозу була достовірно більшою у самців – на 10, 5 та 16 % відповідно. Зважаючи на головну відмінність самців і самок, яка полягає у рівні естрогенів у крові, можна вказати на суттєву залежність метаболічних ефектів тиреоїдних гормонів у міокардіоцитах від жіночих статевих гормонів. Очевидно, суттєвіше порушення енергозабезпечення міокарда самок є підґрунтям для розвитку міокардіопатії, ступінь вираження якої у самців та самок і буде предметом подальших досліджень.

ВИСНОВКИ. 1. Розвиток експериментального мерказолілового гіпотиреозу викликає накопичення в міокарді первинних та вторинних продуктів ліпопероксидації, що в самців є

Таблиця 2 – Показники активності сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази в міокарді самців і самок тварин з гіпотиреозом ($M \pm m$, $n=6$)

Показник	Стать	Термін спостереження			
		К	5 днів	10 днів	15 днів
СДГ, (ммоль/кг·хв)	♀	16,57±0,34	12,93±0,31 ***	12,94±0,22 ***	12,43±0,16 ***
	♂	16,71±0,20	13,06±0,37 ***	12,64±0,49 ***	12,13±0,09 ***
ЦО, (ммоль/кг·хв)	♀	7,13±0,07	5,65±0,10 ***	5,97±0,09 ***	5,20±0,09 ***
	♂	7,38±0,15	6,19±0,11 *** #	5,68±0,08 *** ###	6,05±0,12 *** ###

Примітка. * – достовірна відмінність відносно контролю (* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$); # – достовірна відмінність між статями (# – $p < 0,05$, ## – $p < 0,01$, ### – $p < 0,001$).

більш суттєвим лише на ранньому етапі розвитку патології (5 днів згодовування 75 мг/кг мерказолілу).

2. Прогресування дефіциту тиреоїдних гормонів справляє гірший вплив на антиоксидантну систему міокарда самок, що підтверджується суттєвішим, ніж у самців, пригніченням активності супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази. Відсутність

подальшої (10 та 15 днів експерименту) відмінності між самцями і самками за вмістом продуктів ліпопероксидації є результатом кращого у самців функціонування системи антиоксидантного захисту.

3. Прогресування гіпофункції щитоподібної залози викликає пригнічення активності сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази, що більшою мірою проявляється в самок.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Герасимов Г. А. Заболевания щитовидной железы / Г. А. Герасимов, Н. А. Петунина. – М. : Издательский дом журнала “Здоровье”, 1998. – С. 38.

2. “Гипотиреозное” сердце / Е. М. Нейко, Л. В. Глушко, В. И. Боцюрко, Ю. В. Боцюрко // Укр. кардіол. журн. – 1996. – № 1. – С. 71–77.

3. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. М. Майорова, В. Э. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.

4. Кривченкова Р. С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий // Современные методы в биохимии. – М. : Медицина, 1977. – С. 47–49.

5. Круглікова Г. О. Методи визначення активності глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази / Г. О. Круглікова, У. М. Штутман // Укр. біохим. журн. – 1976. – **68**, № 2. – С. 223–338.

6. Методика определения концентрации ДК и ТК в биологических субстратах / [под ред. М. И. Прохоровой]. – Л. : Издательство Ленинградского ун-та, 1982. – 272 с.

7. Методика определения концентрации МДА в биологических субстратах / [под ред. М. И. Прохоровой]. – Л. : Издательство Ленинградского ун-та, 1982. – 272 с.

8. Особенности гемодинамики, электрофизиологических показателей сердца и дифференцированная терапия пароксизмов фибрилляции предсердий у больных с субклинической дисфункцией щитовидной железы / Ф. К. Рахматулло, Л. А. Бондаренко, А. М. Бибарсова [и др.] // Кардиология. – 2003. – № 5. – С. 48–51.

9. Прохорова М. И. Методы биохимических исследований. – Л. : Изд-во ЛГУ, 1982. – 168 с.

10. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.

11. Терещенко И. В. Состояние сердца у больных гипотиреозом по результатам эхокардиографии / И. В. Терещенко, Т. П. Голдырева // Клин. мед. – 2000. – № 1. – С. 28–30.

12. Association of psychosocial risk factors with risk of acute myocardial infarction in 11119 cases and 13648 controls from 52 countries (the INTERHECT study): case-control study / A. Rosengren, S. Hawken, S. Ounpuu [et al.] // Lancet. – 2004. – № 364 (9438). – P. 953–962.

13. Thyronin treatment in adult and pediatric heart surgery: clinical experience and review of the literature / T. Carrel, F. Eckstein, L. Englberger [et al.] // Eur. J. Heart. Fail. – 2002. – **4**, № 5. – P. 577–582.

М. Р. Хара, В. Н. Михайлюк

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ПОЛОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В МИОКАРДЕ ЖИВОТНЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ГИПОТИРЕОЗОМ

Резюме

В исследованиях на самцах и самках крыс с экспериментальным гипотиреозом была определена активность перекисного окисления липидов (ПОЛ), антиоксидантной системы (АОС), ферментов, которые контролируют процессы энергообеспечения в миокарде. Гипотиреоз вызывали путём ежедневного скармливания 75 мг/кг мерказоліла. Через 5, 10 и 15 дней от начала эксперимента в гомогенате миокарда желудочков исследовали содержание первичных и вторичных продуктов ПОЛ, активность ферментов анти-

оксидантной системы – супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), глутатионпероксидазы (ГП), глутатионредуктазы (ГР). Кроме того, изучали активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и цитохромоксидазы (ЦО). Установили, что развитие экспериментального гипотиреоза вызывает накопление в миокарде животных обоих полов первичных и вторичных продуктов ПОЛ, что в самцов было более существенным только на раннем этапе развития патологии (5 дней). Прогрессирование дефицита тиреоидных гормонов хуже влияло на активность АОС миокарда самок, что подтверждалось более существенным, чем у самцов, угнетением активности СОД, ГП и ГР. Отсутствие дальнейшего (10 и 15 дней эксперимента) отличия между самцами и самками за содержанием продуктов ПОЛ было результатом лучшего у самцов функционирования ферментов АОС. Прогрессирование гипофункции щитовидной железы вызвало угнетение активности сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы, что в большей мере проявлялось в самок.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гипотиреоз, метаболизм миокарда, пол.

M. R. Khara, V. M. Mykhailiuk

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

SEX PECULIARITIES OF METABOLIC CHANGES IN MYOCARDIUM OF ANIMALS WITH EXPERIMENTAL HYPOTHYREOSIS

Summary

At the experiments on female and male rats with the experimental hypothyreosis activity of lipids peroxidation, antioxidative system enzymes, which control processes of energy supply was investigated in myocardium. Hypothyreosis was induced by everyday feeding of 75 mg/kg Mercasolil. In 5, 10 and 15 days after the experiment beginning, content of primary and secondary products of lipids peroxidation, antioxidative system enzymes activity – superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and glutathione reductase were investigated in homogenate of myocardium ventricles. Besides, activity of succinate dehydrogenase and cytochrome oxidase was studied. There was detected that the development of experimental hypothyreosis causes accumulation of primary and secondary products of lipids peroxidation in myocardium of the both sexes animals, what was more essential by males at the early stage of pathology development (5 days). Deficiency development of thyroid hormone made worse influence at the lipids peroxidation activity of females' myocardium, what is confirmed by more essential than by males activity suppression of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and glutathione reductase. Absence of further (10 and 15 days of the experiment) difference between males and females on content of the lipids peroxidation products was the result of better functioning of the antioxidative system enzymes by males. Progression of thyroid body hyperfunction coursed activity suppression of succinate dehydrogenase and cytochrome oxidase, what, mostly, was detected by females.

KEY WORDS: **hypothyreosis, myocardium metabolism, sex.**

Отримано 07.09.11

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

**ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ КОНЦЕНТРАЦІЇ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН
НА ВИВІЛЬНЕННЯ КАПТОПРИЛУ З РЕКТАЛЬНИХ СУПОЗИТОРІЇВ**

У результаті проведеного біофармацевтичного вивчення супозиторіїв з каптоприлом встановлено, що концентрація моногліцеридів дистильованих у кількості 2 % від маси супозиторіїв забезпечує оптимальний рівень вивільнення діючої речовини з ректальної лікарської форми.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: каптоприл, поверхнево-активні речовини, вивільнення.

ВСТУП. Артеріальна гіпертензія (АГ) належить до найпоширеніших захворювань і є найбільш частою хронічною патологією, з якою доводиться мати справу лікарям загальної практики. Відповідно до результатів досліджень, поширеність в Україні АГ становить 33 % від загальної чисельності населення [1].

Судинна система і головний мозок поряд із серцем, нирками й сітківкою очей є основними "органами-мішенями" АГ, причому функціональні й органічні зміни головного мозку і пов'язана з ними симптоматика часто займають основне місце в її клінічній картині [6, 10]. При цьому рання маніфестація АГ пов'язана з високою імовірністю розвитку цереброваскулярних ускладнень надалі [7, 11].

Через значну поширеність захворювання і серйозні негативні прогнози для життя та здоров'я пацієнта в разі відсутності або неналежної терапії проблема фармакотерапії АГ є однією з основних завдань, що стоять перед сучасною фармацевтичною наукою.

В Україні медико-соціальне значення цієї проблеми знайшло своє відображення в розробці Національної програми профілактики й терапії артеріальної гіпертензії та державній програмі "Запобігання та лікування серцево-судинних і судинно-мозкових захворювань на 2006–2010 рр.", що декларують одним із пріоритетних напрямків розвитку кардіології "створення стандартів діагностики й лікування на основі наукових даних, забезпечення ефективної діагностичної, лікувальної, реабілітаційної допомоги хворим з артеріальною гіпертензією, а також забезпечення населення ефективними антигіпертензивними препаратами

© Алмохамад Жумаа Абдуллах, В. В. Гладишев, А. П. Лисянська, І. Л. Кечин, 2011.

за доступними цінами за рахунок розширення вітчизняною промисловістю виробництва сучасних антигіпертензивних лікарських засобів" [4, 8].

Використання трансмукозних шляхів уведення антигіпертензивних лікарських речовин (ректальний, букальний, назальний) значною мірою збільшує ступінь їх біологічної доступності, знижує рівень і частоту побічних реакцій, що виникають при їх використанні, й дає можливість пацієнтам індивідуально контролювати швидкість гіпотензивної реакції за рівнем артеріального тиску й суб'єктивними симптомами [3].

На кафедрі технології ліків Запорізького державного медичного університету проводять дослідження з розробки складу й технології ректальної лікарської форми антигіпертензивного засобу каптоприлу, що належить до групи інгібіторів АПФ. У результаті біофармацевтичних досліджень встановлено, що оптимальне вивільнення каптоприлу з ректальних супозиторіїв забезпечує комбінація допоміжних речовин – основи-носія (олії какао) і ПАР (моногліцеридів дистильованих – МГД).

Метою даної роботи було наукове обґрунтування концентрації моногліцеридів у ректальній лікарській формі каптоприлу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Ректальні супозиторії з каптоприлом середньою масою 1,3 г готували методом виливання з використанням форм від напівавтомата Франко-Креспі. Концентрація ПАР (моногліцеридів дистильованих) складала 0,5, 1, 2, 3 і 5 % від маси супозиторіїв, вміст каптоприлу – 0,05 г у кожному супозиторії.

Дослідження з наукового обґрунтування концентрації ПАР в супозиторіях проводили за планом однофакторного дисперсійного аналізу з повторними спостереженнями [5]. Параметром оптимізації обрали вивільнення каптоприлу із супозиторіїв – перший етап визначення біологічної доступності. Вивільнення каптоприлу із супозиторіїв проводили на приладі АК-1 (“коливаючий кошик”) з використанням свіжовідпрепарованої і відмитої в ізотонічному розчині прямої кишки щура [2]. Діалізічним середовищем була вода очищена, температура діалізного середовища становила $(37 \pm 0,5)$ °С. Концентрацію каптоприлу, що вивільнився через 30 хв, встановлювали спектрофотометрично [9].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Матрицю планування і результати визначення концентрації каптоприлу, що вивільнився із супозиторіїв з різним вмістом ПАР (моногліцеридів дистильованих) через 30 хв, наведено в таблиці 1.

У таблиці 2 представлено дисперсійний аналіз отриманих результатів.

Дисперсійний аналіз результатів показав значущий вплив концентрації ПАР на вивільнення каптоприлу із супозиторних композицій. Проведено перевірку розходження середніх значень результатів вивільнення каптоприлу за допомогою множинного рангового критерію Дункана [5]. При цьому встановлено, що за впливом концентрації моногліцеридів дистильованих на інтенсивність вивільнення каптоприлу їх можна розташувати в такий ряд переваги:

$$2 \% (3 \%) > 5 \% > 1 \% > 0,5 \%$$

З огляду на відсутність статистичних розходжень між вивільненням каптоприлу з ректальних супозиторіїв із вмістом 2 і 3 % моногліцеридів дистильованих від маси супозиторіїв, для наступного вивчення відібрано концентрацію поверхнево-активної речовини 2 %.

ВИСНОВКИ. У результаті проведеного біофармацевтичного вивчення супозиторіїв з каптоприлом установлено, що концентрація моногліцеридів дистильованих у кількості 2 % від маси супозиторіїв забезпечує оптимальний рівень вивільнення діючої речовини з ректальної лікарської форми.

Таблиця 1 – Матриця планування і результати визначення концентрації (%) каптоприлу, що вивільнився з ректальних супозиторіїв (інтервал 30 хв) з різним вмістом моногліцеридів дистильованих

Концентрація МГД, % (фактор А)	Номер випробувань			Сума	Середнє
	1	2	3		
0,5	68,14	66,86	68,14	203,14	67,71
1	70,71	70,71	70,71	212,13	70,71
2	75,86	78,42	77,14	231,42	77,14
3	74,57	77,14	75,86	227,57	75,86
5	74,57	73,28	74,57	222,42	74,14
Сума				1096,68	

Таблиця 2 – Дисперсійний аналіз результатів визначення вивільнення каптоприлу з ректальних супозиторіїв залежно від концентрації ПАР (моногліцеридів дистильованих)

Джерело мінливості	Число ступенів свободи	Сума квадратів	Середній квадрат	F _{експ.}	F _{табл.}
Концентрація МГД в супозиторіях	4	179,19	44,8	51,14	3,5
Помилка	10	8,76	0,876		
Загальна сума	14	187,95			

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Горбась І. М. Епідеміологічні аспекти поширеності артеріальної гіпертензії та дисліпідемій серед населення України / І. М. Горбась // Здоров'я України. – 2008. – № 6. – С. 30-31.
2. Дуева О. В. Биофармацевтическое обоснование состава и технологии лекарственных форм с тиотриазолином : автореф. дисс. на соискание учё-

ной степени канд. фармацевт. наук / О. В. Дуева. – Харьков, 1987. – 24 с.

3. Кечин І. Л. Фармакологічна корекція неускладнених гіпертензивних кризів антигіпертензивними препаратами для аплікаційного застосування : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук / І. Л. Кечин. – Київ, 2003. – 41 с.

4. Коваленко В. М. Сердечно-сосудистые и сосудисто-мозговые заболевания: медико-социальные и методологические направления формирования национальной стратегии профилактики и лечения осложнений / В. М. Коваленко // Тези доп. III Міжнар. конгр. "Ліки та життя". – К., 2006. – С. 26.

5. Методические указания по обработке результатов эксперимента по технологии лекарств / А. И. Тенцова, Т. А. Грошовый, В. А. Головкин, С. М. Махамов. – Ташкент : НИИ "Узгипрозем", 1980. – 71 с.

6. Поливода С. Н. Поражение органов-мишеней при гипертонической болезни / С. Н. Поливода, Ю. М. Колесник, А. А. Черепок. – К. : Четверта хвиля, 2005. – 800 с.

7. Сіренко Ю. М. Артеріальна гіпертензія: виявлення та стратифікація ризику / Ю. М. Сіренко // Практична ангіологія. – 2005. – № 1. – С. 62–67.

8. Сіренко Ю. М. Стратегія лікування хворих на ускладнену артеріальну гіпертензію. Стратифікація ризику та упередження основних серцево-судинних захворювань / Ю. М. Сіренко. – К., 2004. – С. 22–33.

9. Спектрофотометричне визначення каптоприлу в субстанції / Ю. В. Бурлака, О. О. Тарханова, С. О. Васюк, В. В. Гладішев // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2011. – **24**, № 1. – С. 78–80.

10. Mayor S. Targeting cardiovascular complications / S. Mayor // Lancet Oncol.– 2006. – **7**, № 2.– P. 282–285.

11. Relationship of cardiac hypertrophy and diastolic dysfunction assessed by echocardiography with atherosclerosis in retinal arteries in hypertensive patients / H. Masugata, S. Senda, J. Hoshikawa [et al.] // Clin. Exp. Hypertens. – 2008. – **30** (7). – P. 520–529.

Алмохамад Жумаа Абдуллах, В. В. Гладышев, А. П. Лисянская, И. Л. Кечин
ЗАПОРІЖСЬКИЙ ГОСУДАРСТВЕННИЙ МЕДИЦИНСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА ВЫСВОБОЖДАЕМОСТЬ КАПТОПРИЛА ИЗ РЕКТАЛЬНЫХ СУППОЗИТОРИЕВ

Резюме

В результате проведенного биофармацевтического изучения суппозитория с каптоприлом установлено, что концентрация моноглицеридов дистиллированных в количестве 2 % от массы суппозитория обеспечивает оптимальный уровень высвобождения действующего вещества из ректальной лекарственной формы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: каптоприл, поверхностно-активные вещества, высвобождаемость.

Almohamad Zhumaa Abdullah, V. V. Hladyshev, A. P. Lysianska, I. L. Kechyn
ZAPORIZHIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

STUDYING OF INFLUENCE OF CONCENTRATION OF SURFACE-ACTIVE SUBSTANCES ON RELEASE OF CAPTOPRIL FROM RECTAL SUPPOSITORIES

Summary

As a result of the conducted biopharmaceutical studying of suppositories with captopril it was established that concentration of distilled monoglycerides in amount of 2 % from weight of suppositories provides an optimum level of release of operating substance from the rectal medicinal form.

KEY WORDS: captopril, surface-active substances, release.

Отримано 27.07.11

Адреса для листування: В. В. Гладішев, Запорізький державний медичний університет, просп. Маяковського, 26, Запоріжжя, 69095, Україна.

**ВИВЧЕННЯ ЛІПОФІЛЬНИХ СПОЛУК ВЕГЕТАТИВНИХ ОРГАНІВ
СУНИЦІ ЛІСОВОЇ**

Методом газорідинної хроматографії вивчено жирнокислотний склад трави та кореневища суниці лісової. Виявлено, що в ліпофільних екстрактах суниці лісової домінують ненасичені жирні кислоти. Спектрофотометричним методом встановили вміст каротиноїдів; фотокolorиметричним методом визначили кількісний вміст хлорофілів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **суниця лісова, жирні кислоти, хлорофіли, каротиноїди.**

ВСТУП. Суниця лісова (*Fragaria vesca* L.) широко розповсюджена на території України, має достатню сировинну базу. Завдяки своєму широкому арсеналу біологічно активних речовин суниця здавна використовується для лікування та профілактики захворювань різної етіології [1].

Ліпофільні сполуки, що містяться в підземних та надземних органах суниці, широко представлені в хімічному складі рослини, проявляють різнобічний спектр фармакологічної активності. Жирні кислоти беруть участь у біосинтезі жирів, метаболізмі гормонів, входять до складу рослинних клітин, мають F-вітамінну, імуностимулювальну та протипухлинну дії, знижують рівень холестерину в крові та активують фібриноліз [2, 5].

Лауринова кислота проявляє антимікробну та антибактеріальну дії. Пальмітинова кислота широко використовується в косметичці, сприяє активізації синтезу колагену, еластину, глікозаміногліканів та гіалуронової кислоти в шкірі, завдяки чому відновлюються її тургор та природне зволоження. Стеаринова кислота сприяє відновленню захисних властивостей шкіри; в косметичні засоби її вводять як змащувальний компонент. Олеїнова кислота активізує ліпідний обмін, сприяє відновленню бар'єрних функцій епідермісу та затримує вологу в шкірі [6, 7].

Лінолева та ліноленова кислоти належать до незамінних кислот, протидіють процесам перекисного окиснення ліпідів, забезпечують рухливість клітинних мембран, виконання їх функцій, що є важливим фактором у профілактиці та лікуванні серцево-судинних патологій [7].

© С. О. Мамедова, О. І. Павлій, 2011.

Хлорофіли проявляють широкий спектр фармакологічної активності: антибактеріальну при застуді, хронічному запаленні органів дихальної системи, протизапальну, сприяють формуванню з'єднувальної тканини та укріплюють клітинні мембрани. Препарати, до складу яких входять каротиноїди, рекомендують при офтальмологічних захворюваннях, ураженнях, запаленні та дегенеративних патологічних процесах шкіри [2, 7].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Жирнокислотний склад ліпофільної фракції суниці лісової аналізували методом газорідинної хроматографії на газорідинному хроматографі "Хром-5" [3].

Для визначення вмісту каротиноїдів 0,05 г (точна наважка) ліпофільного екстракту з досліджуваної сировини суниці лісової вміщували в мірну колбу місткістю 50 мл, розчиняли у гексані й доводили об'єм до позначки. Вимірювали оптичну густину розчину на спектрофотометрі СФ-26 при довжині хвилі 450 нм. Розчином порівняння був гексан. Паралельно вимірювали оптичну густину розчину стандартного зразка біхромату калію. Як розчину порівняння використовували воду очищену.

Обчислювання вмісту каротиноїдів у перерахунку на β-каротин (мг%) проводили за формулою:

$$X = \frac{A_0 \cdot 0,00208 \cdot V \cdot 100}{m \cdot A},$$

де A_0 – оптична густина розчину, біхромату калію;

A – оптична густина розчину, який досліджували;

0,00208 – вміст β-каротину в 1 мл стандартного розчину біхромату калію, мг;

m – маса сировини, г;

V – первинний об'єм розчину, мл.

Приготування розчину стандартного зразка біхромату калію. 0,0900 г (точна наважка) біхромату калію вміщують у мірну колбу місткістю 250 мл, розчиняють у воді очищеній і доводять об'єм розчину водою до позначки. Розчин за забарвленням відповідає розчину, який містить 0,00208 мг β-каротину в 1 мл.

Для кількісного визначення хлорофілів використовували фотоелектроколориметричний метод визначення, який проводили за методикою, наведеною нижче.

0,5 г сировини екстрагували 96 % етанолом до отримання безбарвних витяжок. Об'єднані витяжки фільтрували у мірну колбу місткістю 50 мл та доводили об'єм розчину до позначки 96 % етанолом. Оптичну густину визначали на фотоелектроколориметрі КФК-2 з червоним світлофільтром у кюветі з товщиною шару 10 мм. Розчином порівняння був 96 % етанол. Одночасно вимірювали оптичну густину стандартного розчину Гетрі у тих же умовах.

Вміст хлорофілу в перерахунку на абсолютно суху сировину у відсотках розраховували за формулою:

$$X = \frac{A_1 \cdot D \cdot A \cdot 100}{A_2 \cdot a},$$

де A_1 – оптична густина екстракту, який вивчали;

A_2 – оптична густина стандартного розчину Гетрі;

D – розведення;

A – кількість хлорофілу, яка відповідає за кольором 1 мл стандартного розчину, г/мл;

a – маса сировини, г.

Приготування стандартного розчину Гетрі. Для приготування стандартного розчину Гетрі використовували 50 мл 4 % розчину біхромату калію, 28,5 мл 1 % розчину сульфату міді, 10 мл 10 % розчину гідроксиду амонію, до 1000 мл води дистильованої. 1 мл отриманого розчину відповідає за кольором 0,000085 г хлорофілу [4].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати вивчення жирнокислотного складу трави та кореневища з коренями суниці лісової представлено в таблиці 1.

Результати визначення кількісного вмісту каротиноїдів та хлорофілів у досліджуваних органах суниці лісової наведено в таблиці 2.

Як видно з таблиці 1, в ліпофільних екстрактах досліджуваних органів суниці лісової містяться монодеканова, лауринова, міристинова, пальмітинова, гептадеценнова, стеаринова, олеїнова, лінолева, ліноленова, арахінова кислоти, дослідили також пальмітолеїнову, гондоїнову, бегенову та ерукову кислоти. В ліпофільному екстракті трави суниці лісової домінуючою є ліноленова кислота, а в кореневищі – лінолева.

З таблиці 2 видно, що трава суниці лісової значно більше збагачена каротиноїдами, ніж кореневище: 325 та 5,64 мг% відповідно.

Також у результаті дослідження виявлено, що в траві суниці лісової вміст хлорофілів складає 0,71 %.

ВИСНОВКИ. 1. У ліпофільних екстрактах суниці лісової переважають ненасичені жирні кислоти, що дає можливість прогнозувати

Таблиця 1 – Жирнокислотний склад ліпофільної фракції вегетативних органів суниці лісової

Жирна кислота	Вуглецевий скелет жирних кислот	Суниця лісова	
		трава	кореневище
Монодеканова	C _{10:0}	0,06	–
Лауринова	C _{12:0}	–	0,58
Міристинова	C _{14:0}	1,12	0,93
Пальмітинова	C _{16:0}	21,14	20,23
Гептадеценнова	C _{17:0}	«»	«»
Стеаринова	C _{18:0}	5,88	5,24
Олеїнова	C _{18:1}	4,32	5,72
Лінолева	C _{18:2}	19,59	35,27
Ліноленова	C _{18:3}	36,37	20,84
Арахінова	C _{20:0}	–	0,26
Пальмітолеїнова	C _{16:1}	0,75	1,27

Таблиця 2 – Вміст каротиноїдів та хлорофілів у вегетативних органах суниці лісової

БАР	Трава	Кореневище
Каротиноїди, мг%	325±0,06	5,64±0,05
Хлорофіли, %	0,71±0,03	–

Примітка: “–” – вміст БАР не досліджували.

F-вітамінну активність комплексів і рекомендувати їх для подальшого поглибленого вивчення та створення нових лікарських і косметичних засобів.

2. Дослідження складу хлорофілів та каротиноїдів показало, що завдяки наявності цих

ліпофільних сполук в достатній кількості у вегетативних органах суниці лісової, препарати рослини можна рекомендувати з метою отримання протизапального, репаративного, антимікробного та антиоксидантного ефектів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Лікарські рослини : енцикл. довід. / відп. ред. А. М. Гродзінський. – К. : Українська Енциклопедія ім. М. П. Бажана, 1992. – 544 с.

2. Липиды и липофильные комплексы некоторых лекарственных растений / В. С. Кисличенко, Е. Н. Новосел, В. Ю. Кузнецова и др. // Химия природ. соед. – 2006. – № 2. – С. 182–183.

3. Мамедова С. О. Дослідження складу токоферолів та жирних кислот *Rubus idaeus* L. / С. О. Мамедова, І. О. Журавель, І. О. Павлій // Вісник фармації. – 2009. – № 2. – С. 27–29.

4. Омельченко З. І. Використання оптичних методів у фітохімічному аналізі / З. І. Омельченко,

О. М. Новосел, В. С. Кисличенко // Методи хімічного аналізу : тез. доп. II Міжнар. симп. – Ужгород, 2005. – С. 25.

5. Сидоров П. И. Справочник самых популярных лекарственных растений / П. И. Сидоров. – М. : Айрис-пресс, 2007. – 512 с.

6. A systemic review of the roles of n-3 fatty acids in health and disease / N. D. Riediger, R. A. Othman, M. Suh, M. H. Moghadasian // J. Am. Diet. Assoc. – 2009. – № 109(4). – P. 668–679.

7. Quality method for medical plant materials / World Health Organization. – Geneva, 1998. – 115 p.

С. А. Мамедова, А. И. Павлій

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

ИЗУЧЕНИЕ ЛИПОФИЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ВЕГЕТАТИВНЫХ ОРГАНОВ ЗЕМЛЯНИКИ ЛЕСНОЙ

Резюме

Методом газожидкостной хроматографии был изучен жирнокислотный состав травы и корневища земляники лесной. Обнаружено, что в липофильных экстрактах земляники лесной доминируют ненасыщенные жирные кислоты. Спектрофотометрическим методом установили содержание каротиноидов; фотоколориметрическим методом определили количественный состав хлорофиллов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: земляника лесная, жирные кислоты, хлорофиллы, каротиноиды.

S. O. Mamedova, O. I. Pavliy

NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

THE STUDY OF LIPOPHYLLIC COMPOUNDS OF VEGETATIVE PARTS OF STRAWBERRY

Summary

By gas-liquid chromatography was studied fatty acid composition of herb and roots of strawberry. It was found out that lipophilic extracts of strawberry dominated by unsaturated fatty acids. The carotenoid content was established by spectrophotometric method; the composition of chlorophyll was determined by photocolorimetric method.

KEY WORDS: strawberry, fatty acids, chlorophylls, carotinoids.

Отримано 01.07.11

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

**ХРОМАТО-МАС-СПЕКТРОМЕТРИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФІРНОЇ ОЛІЇ
SYRINGA VULGARIS L.**

Наведено результати дослідження якісного і кількісного складу ефірної олії квіток бузку звичайного. Хромато-мас-спектрометричним методом виявлено 55 речовин, серед яких домінували гексагідрофарнезил-ацетон (11,189%), хенейкозан (8,660%), геранілацетон (3,943%).

КЛЮЧОВІ СЛОВА: бузок звичайний, ефірна олія, хромато-мас-спектрометричне дослідження.

ВСТУП. Ефірні олії – єдині нативні, природні ароматизатори, які здатні надавати рослинам цілу гаму ароматів, при цьому вони мають різноманітні лікувальні властивості. Це пов'язано з високими антимікробною, антивірусною, мікосептичною, імуномодулюючою, протизапальною, детоксифікуючою діями різних компонентів ефірних олій [2, 4, 5, 7, 8, 9]. Так, бактеріцидні властивості забезпечують спирти і кетони, антисептичні – терпени, бактеріостатичні – феноли й ефіри, протівірусні – альдегіди [1, 3, 6, 10]. Це зумовлює доцільність використання рослинних ефірних олій у комплексі профілактичних та оздоровчих заходів у санітарно-курортних закладах, дитячих установах, у дерматології і косметології. Перспективним джерелом для отримання ефірних олій можуть бути рослини роду бузок, зокрема квітки бузку звичайного.

Метою даної роботи було отримати і дослідити якісний склад та кількісний вміст компонентів ефірної олії квіток бузку звичайного. Квітки заготовляли під час цвітіння в середині травня 2008 року в Національному ботанічному саду ім. М. М. Гришка (м. Київ). Ефірну олію одержували з повітряно-сухої сировини методом перегонки з водою в лабораторних умовах.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Наважку (60,0) подрібнених квіток бузку звичайного перенесли в колбу об'ємом 1 л, додавали 300 мл води, колбу з'єднували з паропровідною трубкою. Заповнювали водою градуйовану та зливу трубку крізь кран за допомогою гумо-

вої трубки з воронкою на кінці. Квітки бузку звичайного нагрівали та кип'ятили з інтенсивністю, при якій швидкість стікання дистиляту складала 60–65 крапель за 1 хв. Через 5 хв до закінчення перегонки відкривали кран, поступово спускаючи дистилят таким чином, щоб ефірна олія зайняла градуйовану частину трубки приймача, заміряючи об'єм ефірної олії. Час перегонки складав 2 год.

Вміст ефірної олії (X, %) у перерахунку на абсолютну суху речовину розраховували за формулою:

$$X = \frac{V \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)},$$

де V – об'єм ефірної олії, мл;

m – маса сировини, г;

W – втрата в масі при сушінні сировини, %.

Вихід ефірної олії складав 0,55 %. Бузкова ефірна олія являла собою легкорухливу, жовту рідину з характерним бузковим запахом. Олія добре розчинялася у 95 % спирті, хлороформі.

Аналіз якісного і кількісного складу компонентів ефірної олії квіток бузку звичайного проводили методом газорідинної хроматографії з використанням хроматографа Agilent Technology 6890N, обладнаного мас-спектрометричним детектором 5973N. Колонка кварцова, капілярна HP-5MS довжиною 30 м та внутрішнім діаметром 0,25 мм, заповнена 5 % фенілметилсилоксаном. Попередньо проводили програмування температури колонки: початкова температура колонки при 50 °С, потім поступово збільшували до кінцевої – 220 °С. Швидкість розгонки – 4 град/хв. Газ-носії – гелій; швидкість потоку – 1 мл/хв. Три-

валість розгонки – 1 год. Об'єм проби становив 0,5 мкл при коефіцієнті розділу потоку 1:50 і тиску на вході в колонку 40 кПа. Сканування проводили у діапазоні 38–300 а.е.м. Час запису – 0,5 с.

Компонентний склад ефірної олії ідентифікували методом порівняння результатів, отриманих у процесі хроматографування мас-спектрів хімічних речовин, що входять у досліджувані суміші (рис.), з даними бібліотеки

мас-спектрів NIST02 (понад 174 000 речовин). Результати аналізу наведено в таблиці.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як видно з таблиці, було одержано 55 речовин, серед яких домінували гексагідрофарнезілацетон (11,189 %), хенейкозан (8,660 %), геранілацетон (3,943 %). Результати проведених досліджень свідчать про різноманітний компонентний склад ефірної олії квіток бузку звичайного.

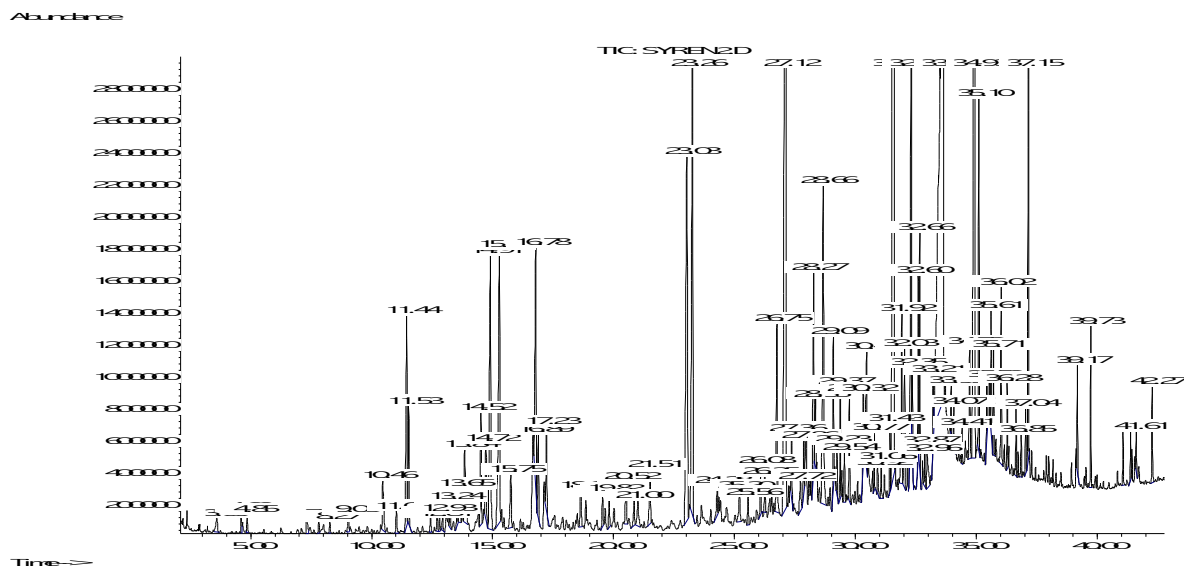


Рис. Хроматограма ефірної олії квіток бузку звичайного.

Таблиця – **Результати хромато-мас-спектрометричного аналізу ефірної олії квіток бузку звичайного**

Компонентний склад ефірної олії бузку звичайного	Кількісний вміст (%)	Час утримання (t, min)
1	2	3
гексаналь	0,154	13.59
цис-3-гексен-1-ол	0,093	4.60
гексанол	0,085	4.84
міртеналь	0,140	7.30
6-метил-5-гептен-2-он	0,072	7.80
октаналь	0,060	8.26
лімонен	0,133	9.03
октанол	0,440	10.45
транс-ліналоолоксид	0,146	11.02
ліналоол	1,378	11.44
нонаналь	0,628	11.53
4-ацетил-1-метил-циклогексен	0,091	12.42
транс-пінокарвеол	0,098	12.70
гумулен	0,077	12.80
цис-вербенол	0,097	12.92
гермакрен	0,161	13.09
1,4-диметоксибензол	0,220	13.53
борнеол	0,224	13.64
нонанол	0,619	13.84
α-терпінеол	0,748	14.51
міртенол	0,577	14.71
цитронеллол	0,458	15.75
5-децен-1-ол	1,641	16.78
деканол	0,481	17.22

1	2	3
транс-2,4-декадіеналь	0,310	18.63
транс-вербенон	0,205	19.54
β-бурбонен	0,187	20.84
метилевгенол	0,439	21.51
геранілацетон	3,943	23.02
гексадекан	3,861	23.26
2-тридеканон	0,212	24.28
елеміцин	0,278	26.07
неролідол	0,166	26.25
кариофіллоксид	1,243	26.75
γ-евдесмол	0,248	27.86
β-евдесмол	1,279	28.27
8-гептадецен	2,658	28.66
гептадекан	0,748	29.08
фарнезол	0,278	29.54
7-октадецен	0,521	29.74
бензилбензоат	0,286	30.32
тетрадеканова кислота	0,939	30.46
октадекан	0,231	30.77
гексагідрофарнезилацетон	11,189	31.58
5-нонадецен	0,978	31.91
гексадеканол	0,718	32.02
нонадекан	3,518	32.30
фарнезилацетон	0,706	32.59
метилпальмітат	0,859	32.66
хенейкозан	8,660	34.93
фітол	1,503	35.10
лінолева кислота	0,741	35.60
ліноленова кислота	0,460	35.71
докозан	0,850	36.02
трикозан	2,750	37.15

ВИСНОВКИ. 1. Методом перегонки з водою одержано ефірну олію з квіток бузку звичайного, вихід якої становив 0,55 %.

2. Хромато-мас-спектрометричним методом аналізу в ефірній олії квіток бузку звичайного виявлено 55 речовин.

3. Серед компонентів ефірної олії квіток бузку звичайного домінували гексагідрофарнезилацетон (11,189 %), хенейкозан (8,660 %), геранілацетон (3,943 %).

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Башура О. Г. Практичний посібник з косметології та ароматології / за ред. О. Г. Башури. – Х. : Прапор, НФАУ, 1999. – 352 с.
2. Вивчення впливу летких олій деяких ароматичних рослин на мікобактерію туберкульозу / В. П. Мельник, О. В. Панасюк, М. Т. Клименко [та ін.] // Фітотерапія в Україні. – 2000. – № 1. – С. 21–23.
3. Медико-біологічні аспекти застосування ефірних олій / Т. П. Гарник, Л. Г. Дудченко, Т. К. Кураєва, А. В. Барсуков // Фітотерапія. Часопис. – 2003. – № 1–2. – С. 52–55.
4. Николаевский В. В. Ароматерапія : справочник / В. В. Николаевский. – М. : Медицина, 2000. – 336 с.

5. Николаевский В. В. Биологическая активность эфирных масел / В. В. Николаевский, А. Е. Еременко, И. К. Иванов. – М. : Медицина, 1987. – 144 с.
6. Противовоспалительные свойства эфирного масла *Artemisia glabella* Kar. et Kir. / Р. Б. Сайдахметова, Р. Н. Пак, А. А. Бесенбаева [и др.] // Раст. ресурсы. – 2002. – **38**, вып. 1. – С. 102–107.
7. Путырский И. Н. Лекарственные растения : энциклопедия / И. Н. Путырский, В. Н. Прохоров. – 2-е изд., стереотип. – Мн. : Книжный Дом, 2005. – 656 с.
8. Турова А. Д. Лекарственные растения СССР и их применение / А. Д. Турова. – М. : Медицина, 1982. – 198 с.

9. Улимова В. А. Эфирные масла в косметике и медицине. Общие соображения и бытовые аспекты / В. А. Улимова // Косметика и медицина. – 2003. – № 2. – С. 12–21.

10. Чекман І. С. Клінічна фітотерапія / І. С. Чекман. – К. : Вид-во А.С.К., 2003. – 552 с.

А. И. Попик, В. С. Кисличенко, В. В. Король, О. С. Кочкина
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФИРНОГО МАСЛА SYRINGA VULGARIS L.

Резюме

Приведены результаты исследования качественного и количественного состава эфирного масла цветков сирени обыкновенной. Хромато-масс-спектрофотометрическим методом обнаружено 55 веществ, среди которых доминировали гексагидрофарнезилacetон (11,189%), хенейкозан (8,660%), геранилацетон (3,943%).

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сирень обыкновенная, эфирное масло, хромато-масс-спектрометрическое исследование.

A. I. Popyk, V. S. Kyslychenko, V. V. Korol, O. S. Kochkina
NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

CHROMATO-MASS-SPECTROMETRIC RESEARCH OF ESSENTIAL OIL OF SYRINGA VULGARIS L.

Summary

The results of the research of qualitative and quantitative composition of flowers Syringa vulgaris essential oil are presented. 55 substances were identified by chromatomass spectrometric method, the most dominant among which are hexahydrofarnesylacetone (11,189%), cheneykozan (8,660%), geranylacetone (3,943%).

KEY WORDS: Syringa vulgaris, essential oil, chromatomass spectrometric research.

Отримано 30.09.11

Адреса для листування: В. С. Кисличенко, Національний фармацевтичний університет, вул. Блюхера, 4, Харків, 61168, Україна.

С. Г. Ісаєв, О. А. Бризицький, В. В. Афанасьєва,
З. Г. Єрьоміна, К. В. Динник, О. В. Кизь
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

МЕТОКСИЗАМІЩЕНІ 5-НІТРО-9-N-АРИЛАМІНОАКРИДИНИ, ЇХ СИНТЕЗ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ

Здійснено синтез 5-нітро-9-N-ариламіноакридинів. Будову синтезованих сполук підтверджено даними елементного аналізу та ІЧ-спектроскопії. Чистоту контролювали методом тонкошарової хроматографії. За програмою PASS проведено комп'ютерний прогноз можливих видів біологічної активності 10 вперше синтезованих речовин серед 5-нітро-9-N-ариламіноакридинів. За класифікацією К. К. Сидорова, синтезовані речовини при внутрішньошлунковому введенні належать до класу малотоксичних сполук. Експериментально встановлено, що синтезовані речовини проявляють протимікробну, протигрибкову, протизапальну та анальгетичну активність.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: синтез, 9-N-ариламіноакридини, біологічна активність.

ВСТУП. Похідні акридину – відомі протимікробні засоби [2, 10]. Їх активність ґрунтується на їх здатності зв'язуватися з нуклеїновими кислотами, що зумовлює їх вплив на епісомальні генетичні елементи бактерій [2]. Проведені раніше дослідження [1, 2, 4–9, 11] серед похідних 5-нітроакридину свідчать про їх різноманітну фармакологічну активність. Дані обставини визначали необхідність подальшого розширеного хімічного та фармакологічного вивчення раніше не досліджуваних метоксизаміщених 5-нітро-9-N-ариламіноакридинів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Метоксизаміщені 5-нітро-9-N-ариламіноакридини (рис.) синтезовано шляхом взаємодії відповідних 9-хлоракридинів з ариламинами в середовищі фенолу (спосіб А). Експериментально доведено, що синтез 5-нітро-9-N-ариламіноакридинів (IV–IX) доцільніше проводити в середовищі діоксану за присутності хлористоводневої кислоти (спосіб Б), що дозволяє скоротити час проведення експерименту та збільшити вихід цільового продукту до 94 % (табл. 1). Синтезовані сполуки (I–X) – жовті кристалічні речовини, які розчиняються у діоксані, ДМФА, важко – у воді. Будову та індивідуальність їх визначено даними елементного аналізу, ІЧ-спектроскопії, методом тонкошарової хроматографії (табл. 1). Дані елементного аналізу (С, N, H) відповідають розрахованим. В ІЧ-спект-

рах усіх сполук виявляють дві інтенсивні смуги вбирання нітрогруп у ділянках 1532–1505 та 1352–1306 cm^{-1} , що відповідають асиметричним і симетричним коливанням останньої. Для сполук (I–III, VI–X) характерна наявність смуги поглинання в ділянці 1652–1638 cm^{-1} , яка відповідає валентним коливанням карбонільної групи (табл. 1).

Для комп'ютерного прогнозу спектра біологічної активності 5-нітро-9-N-ариламіноакридинів (I–X) ми використали комп'ютерну програму PASS [8, 11]. Гостру токсичність синтезованих речовин вивчали на білих мишах обох статей при внутрішньошлунковому введенні [3]. Дослідження протимікробної та протигрибкової активності проводили у рідкому поживному середовищі [3]. Як поживне середовище використовували розчин амінопептиду (рН=7,2). Мікробне навантаження для бактерій становило $2,5 \cdot 10^5$ клітин амінопептидної 18-годинної культури в 1 мл середовища. Для вирощування грибів використовували середовище

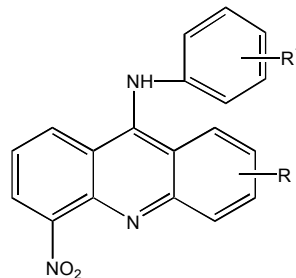


Рис. Метоксизаміщені 5-нітро-9-N-ариламіноакридини (I–X).

© С. Г. Ісаєв, О. А. Бризицький, В. В. Афанасьєва, З. Г. Єрьоміна, К. В. Динник, О. В. Кизь, 2011.

Таблиця 1 – Фізико-хімічні характеристики метоксизаміщених 5-нітро-9-N-ариламіноакридинів

Сполука	R	R ¹	Вихід ¹ , %	Т. пл. ² , °C	ІЧ-спектри, частота поглинання, см ⁻¹						R ³		
					$\sqrt{\nu_{NH}}$	$\sqrt{\nu_{C=O}}$	$\sqrt{\nu_{C-Ph}}$	δ_{NH}	$\sqrt{\nu_{NO_2}^{as}}$	$\sqrt{\nu_{NO_2}^s}$	$\sqrt{\nu_{C-Cl}}$	1	2
I	2-OCH ₃	2'-COOH	91	192-194	3292	1645	1600	1574	1508	1352	-	0,42	0,54
II	2-OCH ₃	3'-COOH	94	260-263	3282	1640	1602	1576	1512	1350	-	0,41	0,55
III	2-OCH ₃	4'-COOH	95	252-254	3287	1638	1600	1575	1505	1354	-	0,40	0,53
IV	2-OCH ₃	2'-CH ₃ , 4'-NO ₂	80/94	229-232	3333	-	1599	1570	1510	1306	-	0,30	0,43
V	2-OCH ₃	2'-CH ₃ , 5'-NO ₂	79/92	201-204	3321	-	1604	1572	1516	1309	-	0,29	0,44
VI	2-OCH ₃	2'-NO ₂ , 6'-COOH	76/94	139-141	3340	1638	1598	1578	1530	1325	-	0,24	0,37
VII	2-OCH ₃	2',4'-Cl, 6'-COOH	79/86	162-163	3338	1642	1602	1582	1532	1326	820	0,20	0,32
VIII	3-OCH ₃	2'-NO ₂ , 6'-COOH	85/92	152-156	3338	1646	1600	1578	1530	1322	-	0,25	0,41
IX	3-OCH ₃	2',4'-Cl, 6'-COOH	82/90	208-211	3342	1652	1600	1577	1528	1320	816	0,19	0,28
X	3-OCH ₃	2'-COOH	90	245-247	3286	1646	1604	1575	1514	1338	-	0,38	0,52

Примітки:

¹ Синтез проводили в середовищі фенолу (числівник) і в середовищі діоксану (знаменник).

² Сполуки кристалізують з водного діоксану.

³ Значення R_t наведено у системах: 1 – етанол-гексан (1:3), 2 – етанол-хлороформ-гексан (1:1:1,5).

Таблиця 2 – Біологічна активність метоксизаміщених 5-нітро-9-N-ариламіноакридинів

Сполука	Протизапальна дія, % у дозі 10 мг/кг	Аналітична дія, % у дозі 20 мг/кг	Бактеріостатична, МПК, мкг/мл								Фунгістатична, мкг/мл			
			Salmonella*				Золотистий стафілокок	Сінна паличка	Кишкова паличка	Синьо-гнійна паличка	Candida			
			1	2	3	4					albicans	tripicalis		
I	22,3	34,5	31,2	125	62,5	250	250	62,5	125	125	125	250	250	250
II	15,8	0	125	125	125	125	125	125	125	250	250	500	500	500
III	DE ₅₀ =5,4	DE ₅₀ =5,9	31,2	31,2	31,2	125	125	3,9	3,9	7,8	7,8	31,2	62,5	62,5
IV	0	24,2	125	250	250	500	500	62,5	62,5	125	125	62,5	125	125
V	15,4	10,4	125	250	250	500	500	62,5	62,5	125	125	250	250	125
VI	31,2	28,7	250	250	500	500	500	125	125	125	125	125	125	125
VII	47,4	42,2	125	250	250	250	250	125	125	125	125	62,5	250	250
VIII	15,8	0	250	125	125	250	250	15,6	15,6	125	125	62,5	125	125
IX	45,6	44,8	62,5	125	125	250	250	31,2	31,2	62,5	62,5	62,5	125	250
X	DE ₅₀ =5,2	DE ₅₀ =5,5	15,6	31,2	15,6	125	125	1,8	1,8	7,8	7,8	15,6	15,6	62,5
Диклофенак натрію (DE ₅₀ =8 мг/кг)	37,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Анальгін (DE ₅₀ =55 мг/кг)	-	53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Етакридину лактат	-	-	125	125	125	125	125	31,2	31,2	15,6	15,6	31,2	15,6	62,5

Примітка. *як тест-мікроорганізми використовували:

1. *Salmonella choleraesuis*.
2. *Salmonella dublin*.
3. *Salmonella thyphimurium*.
4. *Salmonella thiphisuis*.

Сабуро (рН=6,5–6,7). Навантаження становило 500 000 репродуктивних тілець в 1 мл.

Протизапальну активність 5-нітро-9-N-арил-аміноакридинів (I–X) вивчали на моделі “карагеніновий набряк” [3] на мишах у дозі 10 мг/кг. Препаратом порівняння обрано диклофенак натрію. Аналгетичну дію вивчали на білих безпородних щурах на моделі “гаряча пластина” [3]. Досліджувані речовини вводили внутрішньощлунково у дозі 20 мг/кг. Як препарат порівняння використовували анальгін.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналіз результатів комп’ютерного прогнозу за допомогою програми PASS показав, що вперше синтезовані 5-нітро-9-N-ариламіноакридини (I–X) з найбільшою вірогідністю повинні проявляти протимікробну, протівірусну, діуретичну та протизапальну активність. За класифікацією К. К. Сидорова, 5-нітро-9-N-ариламіноакридини (I–X) належать до малотоксичних або практично нетоксичних речовин, їх DL_{50} при внутрішньощлунковому введенні мишам перебуває у межах 3200–6500 мг/кг.

Проведені мікробіологічні дослідження показали, що синтезована група сполук (I–X) активна відносно золотистого стафілокока, сінної, кишкової, синьогнійної паличок та мікроорганізмів роду *Salmonella*. Синтезовані речовини інгібували ріст мікроорганізмів у концентраціях 1,8–500 мкг/мл (табл. 2). Найбільшу

бактеріостатичну активність проявляли сполуки (III, X), які перевищували за дією етакридину лактат відносно грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів при токсичності понад 6000 мг/кг. Фунгістатична активність 5-нітро-9-N-ариламіноакридинів (табл. 2) складала 15,6–500 мкг/мл відносно грибів роду *Candida*. Субстанції (III, X) за протигрибковою дією перевищили нітрофурал (МПК=64 мкг/мл) відносно *Candida albicans* у 4 рази.

Фармакологічні дослідження на протизапальну й аналгетичну активність виявили чотири сполуки (III, VII, IX, X) з високою активністю. Сполуки (III, X) за широтою терапевтичної дії перевищували активність диклофенаку натрію та анальгін (табл. 2).

ВИСНОВКИ. 1. З метою пошуку біологічно активних сполук здійснено синтез метоксизамічених 5-нітро-9-N-ариламіноакридинів і встановлено їх будову та індивідуальність.

2. За програмою PASS проведено комп’ютерний прогноз можливих видів біологічної активності 10 вперше синтезованих субстанцій серед 5-нітро-9-N-ариламіноакридинів. За результатами експериментальних фармакологічних досліджень, виявлено сполуки з високою бактеріостатичною, фунгістатичною, протизапальною та аналгетичною активністю при токсичності 3200–6500 мг/кг за умов внутрішньощлункового введення.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Біологічно активні похідні хіноліну та акридину з азото- та сірковмісними функціональними групами : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра біол. наук / О. А. Бражко. – К., 2005. – 42 с.
2. Волянський Ю. Л. Перспективи створення протимікробних препаратів на основі акридину і фенантридину / Ю. Л. Волянський, С. Л. Крестецька // Мед. хімія. – 2002. – 4, № 3. – С. 92–98.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.
4. Ісаєв С. Г. Синтез, реакційна здатність і біологічна активність похідних ортогалогенбензойних, ароматичних амінокислот та акридину : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра фармац. наук / С. Г. Ісаєв. – Х., 2008. – 36 с.
5. Ісаєв С. Г. Синтез та біологічна активність 5-нітро-9-іоакридинів / С. Г. Ісаєв // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки і практики: зб. наук. статей. – Запоріжжя, 2004. – Вип. 12. – С. 35–38.
6. Метод використання N-фенілантранілатів 9-аміноакридинію в якості мікродобавки до бензил-

- пеніциліну натрієвої солі з метою підвищення специфічної активності антибіотика : інформ. лист № 290-2009 / С. Г. Ісаєв, Н. Ю. Шевельова, О. А. Бризицький [та ін.]. – К., 2009. – Вип. 35 “Фармація”. – 3 с.
7. Оптимізація пошуку ефективних лікарських засобів на основі акридину : інформ. лист № 289-2009 / С. Г. Ісаєв, О. А. Бризицький, Н. Ю. Шевельова [та ін.]. – К., 2009. – Вип. 36 “Фармація”. – 6 с.
8. Поройков В. В. Комп’ютерное предсказание биологической активности веществ: пределы возможного / В. В. Поройков // Химия в России. – 1999. – № 2. – С. 8–12.
9. Синтез і дослідження біологічної активності 5-бром-3-сульфамойл-2-хлорбензоатів заміщених 9-аміно-5-нітроакридинію / С. Г. Ісаєв, Н. П. Кобзарь, Л. В. Брунь [та ін.] // Мед. хімія. – 2008. – 10, № 3. – С. 54–58.
10. Choulga I. S. Les antipaludiques de sunthese / I. S. Choulga, S. G. Issaev. – Kharkov. – 20 s.
11. Discriminating between drugs and nondrugs by Prediction of Activity Spectra for substances (PASS) / S. Anzali, G. Barnickel, B. Cezanne [et al.] // J. Med. Chem. – 2001. – № 4 (15). – P. 2432–2437.

С. Г. Исаев, А. А. Бризицкий, В. В. Афанасьева, З. Г. Ерёмина,
Е. В. Дынник, О. В. Кизь
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

МЕТОКСИЗАМЕЩЕННЫЕ 5-НИТРО-9-N-АРИЛАМИНОАКРИДИНЫ, ИХ СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

Резюме

Осуществлен синтез 5-нитро-9-N-ариламиноакридинов. Строение синтезированных соединений подтверждено данными элементного анализа и ИК-спектроскопии. Чистоту контролировали методом тонкослойной хроматографии. По программе PASS проведен компьютерный прогноз возможных видов биологической активности 10 впервые синтезированных соединений среди 5-нитро-9-N-ариламиноакридинов. По классификации К. К. Сидорова, синтезированные вещества при внутривенном введении относятся к классу малотоксичных соединений. Экспериментально установлено, что синтезированные вещества проявляют противомикробную, противогрибковую, противовоспалительную и анальгетическую активность.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: синтез, 9-N-ариламиноакридины, биологическая активность.

S. H. Isayev, O. A. Bryztskyi, V. V. Afanasyeva, Z. H. Yeriomina, K. V. Dynnyk, O. V. Kyz
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

METOXISUBSTITUTED OF 5-NITRO-9-N-ARYLAMINOACRIDINES, SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY

Summary

The synthesis of 5-nitro-9-N-arylaminoacridines has been carried out. The composition of synthesized compounds has been proved by the data of element analysis and IR-spectroscopy. The purity has been controlled by the method of thin-layer chromatography. The computer prognosis of possible types of biological activity is conducted on the program of 10 first synthesized connections in the row of 5-nitro-9-N-arylaminoacridines. According to classification by K. K. Sydorov synthesized compounds at intrastomach introduction belong to low. It has been established that the synthesized substances have antimicrobial, antifungal, anti-inflammatory and analgetic activity.

KEY WORDS: synthesis, 9-N-arylaminoacridines, biological activity.

Отримано 18.07.11

Адреса для листування: С. Г. Исаев, вул. Гарібальді, 11-А, кв. 21, Харків, 61121, Україна.

ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИК ЯКІСНОГО ТА КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ПІРИДОКСИНУ ГІДРОХЛОРИДУ В РОЗЧИНІ ДЛЯ ПИТТЯ “СЕДАВІТ”

Проведено валідацію аналітичних методик ідентифікації та кількісного визначення піридоксину гідрохлориду в розчині для пиття “Седавіт” за стандартизованою процедурою, що відповідає вимогам ДФУ. При валідації методики ідентифікації піридоксину гідрохлориду було вивчено специфічність та достовірність відтворення методики. Для методики кількісного визначення розглядали основні валідаційні характеристики: діапазон застосування, специфічність, правильність, збіжність, лінійність, робастність, внутрішньолaboratorну прецизійність, що дозволило визначити придатність методики для використання у фармацевтичному аналізі.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: метод абсорбційної спектрофотометрії, валідація аналітичної методики, піридоксину гідрохлорид.

ВСТУП. Використання методу абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій (УФ) і видимій ділянках для ідентифікації та кількісного визначення піридоксину гідрохлориду в комплексному препараті рослинного походження ускладнене знаходженням його максимуму поглинання (при рН від 4,00 до 7,00 – від 220 до 350 нм) у тій самій ділянці, що і максимуму поглинання інших компонентів, які входять до складу рослинного препарату (поліфенольні сполуки, нікотинамід) [7, 8]. Дане питання можна вирішити шляхом проведення специфічної колориметричної реакції [4]. В результаті взаємодії солей діазонію з піридоксину гідрохлоридом у лужному середовищі утворюються азобарвники, сполучення відбувається в пара-положенні до гідроксильної групи. При додаванні до азобарвників піридоксину іонів деяких металів (цинку, ртуті, міді, кадмію, талію) утворюються комплексні сполуки у співвідношенні 1:1 азобарвник-метал, забарвлені у червоний колір. Коли як реактиви використовують діазосульфокислоту та цинку сульфат, отриманій комплексній сполуці властиві специфічні спектральні характеристики з максимумом поглинання (520 ± 2) нм, що дозволяє проводити аналіз за присутності інших компонентів.

На основі літературних даних експериментальним шляхом було підбрано оптимальні умови перебігу реакції і запропоновано методики ідентифікації та кількісного визначення

© С. В. Гарна, О. А. Здорик, В. А. Георгіянц, 2011.

піридоксину гідрохлориду в досліджуваній лікарській формі. Метою даної роботи були валідація запропонованих методик ідентифікації та кількісного визначення піридоксину гідрохлориду в комплексному препараті рослинного походження “Седавіт” та визначення їх основних метрологічних характеристик.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для виконання дослідів використовували субстанцію піридоксину гідрохлориду, яка відповідає вимогам ВР 98, USP 24, ДФУ, мірний посуд класу А, прилади: аналітичні ваги АВ 204 S/A METTLER TOLEDO, спектрофотометр “SPECORD 200”, центрифугу ОПН-12.

Методика якісного визначення. Спектр поглинання випробовуваного розчину, приготованого і виміряного в умовах кількісного визначення піридоксину гідрохлориду, в ділянці від 400 до 700 нм повинен мати максимум при довжині хвилі (520 ± 2) нм.

Методика кількісного визначення. 5 мл препарату поміщають у центрифужну пробірку, додають 20 мл води, 1,5 мл розчину свинцю ацетату, перемішують і центрифугують при 5000 об./хв протягом 5 хв. Центрифугат зливають у мірну колбу місткістю 50,0 мл. До осаду в центрифужній пробірці додають 20 мл води, перемішують і центрифугують при 5000 об./хв протягом 5 хв. Центрифугат зливають у ту ж мірну колбу, додають 1 мл розчину натрію сульфату, доводять об'єм розчину до мітки і перемішують. Через 20 хв розчин фільтрують че-

рез паперовий фільтр “біла стрічка”, відкидаючи перші 10 мл фільтрату (розчин А).

2 мл розчину А поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, додають 3 мл розчину натрію ацетату, 2 мл діазореактиву і перемішують. Через 5 хв додають 10 мл спирту 96 %, 2 мл 0,1 % розчину цинку сульфату, доводять об’єм розчину спиртом 96 % до мітки і перемішують.

Через 30 хв вимірюють оптичну густина отриманого розчину на спектрофотометрі при довжині хвилі 520 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння розчин, приготовлений аналогічно випробовуваному, де замість 2 мл 0,1 % розчину цинку сульфату додають 2 мл води.

Паралельно вимірюють оптичну густина розчину, що містить 2 мл розчину робочого стандартного зразка (РСЗ) піридоксину гідрохлориду, що приготовлений аналогічно випробовуваному розчину, починаючи зі слів “... поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл”, використовуючи як розчин порівняння розчин, приготовлений аналогічно розчину РСЗ піридоксину гідрохлориду, де замість 2 мл 0,1 % розчину цинку сульфату додають 2 мл води.

Вміст піридоксину гідрохлориду в 1 мл препарату в грамах обчислюють за формулою:

$$X_{г} = \frac{A_i \cdot m_{PC3} \cdot 50 \cdot 2 \cdot 25 \cdot 2}{A_{PC3} \cdot 5 \cdot 50 \cdot 2 \cdot 50 \cdot 25} = \frac{A_i \cdot m_{PC3} \cdot 0,008}{A_{PC3}}$$

де A_i – оптична густина випробовуваного розчину;

A_{PC3} – оптична густина розчину робочого стандартного зразка;

m_{PC3} – маса наважки робочого стандартного зразка (г).

Приготування розчину РСЗ піридоксину гідрохлориду. Близько 0,07 г (т.н.) піридоксину гідрохлориду поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, розчиняють у 20 мл води, доводять об’єм розчину водою до мітки і перемішують.

Приготування діазореактиву. В мірну колбу місткістю 50 мл поміщають 5 мл 1 % розчину стрептоциду в 1 % кислоти хлористоводневої, додають 5 мл 1 % розчину натрію нітриту і перемішують. Через 5 хв додають 0,15 мл 20 % розчину сечовини, перемішують розчин до припинення виділення бульбашок азоту, доводять об’єм розчину водою до мітки і перемішують.

Приготування 1 % розчину стрептоциду в 1 % розчині кислоти хлористоводневої. 1 г стрептоциду поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, додають 12 мл кислоти хлористоводневої розведеної, розчиняють наважку, доводять об’єм розчину водою до мітки і перемішують.

Приготування 1 % розчину натрію нітриту. 1 г натрію нітриту поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняють у 60 мл води, доводять об’єм розчину водою до мітки і перемішують.

Приготування 0,1 % розчину цинку сульфату. 0,05 г цинку сульфату поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, розчиняють у 20 мл води, доводять об’єм розчину водою до мітки і перемішують.

Приготування 20 % розчину сечовини. 10 г сечовини поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, розчиняють у 30 мл води, доводять об’єм розчину водою до мітки і перемішують.

Для валідації методик використовували модельні розчини препарату з вмістом піридоксину гідрохлориду 0,0420, 0,0510, 0,0600, 0,0690, 0,0780 г у 100 мл розчину, що відповідає 70, 85, 100, 115, 130 % відносно вмісту піридоксину гідрохлориду в препараті [5].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. З метою підтвердження специфічності методики ідентифікації піридоксину гідрохлориду під час валідації було порівняно спектри поглинання модельного розчину, розчину порівняння та розчину робочого стандартного зразка піридоксину гідрохлориду у видимій та УФ ділянках. Спектр поглинання випробовуваного розчину (рис. 1) має максимум поглинання за тієї ж довжини хвилі, що і розчин РСЗ, інші компоненти лікарської форми не впливають на результат аналізу (рис. 2), тобто методика характеризується достатньою специфічністю.

Для того, щоб дослідити відтворюваність та ймовірність виявлення піридоксину гідрохлориду, за даною методикою було проведено досліді для 5 точок діапазону застосування (70–130 %) зі стандартизованою процедурою валідації методик ідентифікації [3]. Досліджувану методику відтворено в умовах трьох різних лабораторій у різні дні на модельних розчинах (табл. 1), отриманий результат порівнювали з результатами дослідів РСЗ та розчину порівняння.

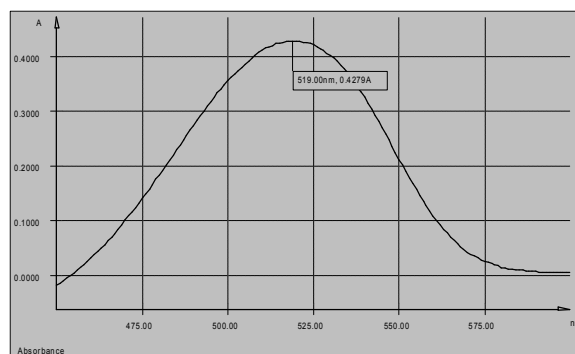


Рис. 1. Спектр поглинання аналітичного розчину.

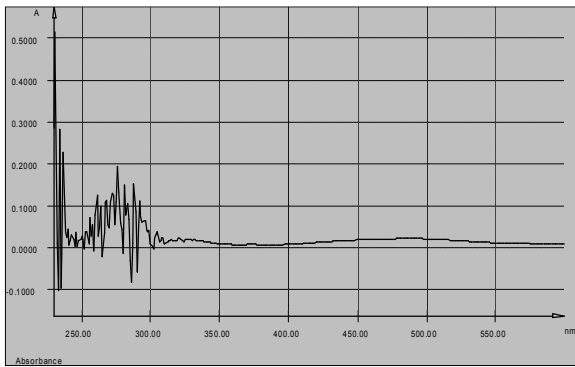


Рис. 2. Спектр поглинання розчину порівняння.

Експериментальні дані підтверджують, що методика дозволяє ідентифікувати піридоксину гідрохлорид у діапазоні застосування 70–130 %, дослід, проведений у трьох лабораторіях, характеризується 100 % імовірністю виявлення.

Перевагою методики можна вважати можливість використання отриманих значень оптичної густини для кількісного визначення піридоксину гідрохлориду, що скорочує час проведення хімічного аналізу.

Перед проведенням валідації методики кількісного визначення піридоксину гідрохлориду розраховували критерії прийнятності

валідаційних характеристик методики, беручи до уваги допуски вмісту піридоксину гідрохлориду $\pm 15\%$ (табл. 2), стабільність аналітичного розчину в часі (табл. 3) та специфічність (табл. 4) [1].

Визначали стабільність аналітичного розчину в часі протягом 30–70 хв після додавання розчину цинку сульфату. За результатами експерименту встановлено, що стійке забарвлення утворюється через 30 хв після додавання реагенту. Результати дослідів наведено в таблиці 3. Вивчення стійкості оптичної густини розчинів, які аналізують, показало, що найбільш інтенсивне та стабільне поглинання утворюється в інтервалі часу 30–40 хв.

Специфічність методики оцінювали за порівнянням середніх значень оптичної густини розчину порівняння та розчину стандартного зразка: $A_{\text{blank}} = 0,0062$; $A_{\text{st}} = 0,4279$. Систематична похибка, яку вносять інші компоненти, складала:

$$\delta_{\text{exc}} = \frac{100 \cdot 0,0062}{0,4279} = 1,45\%$$

Отже, нерівність $\delta_{\text{exc}} \leq \delta_{\text{max}}$, $1,45 \leq 1,54\%$ виконується, тому фонове поглинання є незначущим і методика характеризується достатньою специфічністю.

Таблиця 1 – Ідентифікація піридоксину гідрохлориду методом спектрофотометрії

Моделльний розчин, %	Лаб. 1			Лаб. 2			Лаб. 3			P(C _k)	R, %
	n _k	α ₁	P(C _k)	n _k	α ₁	P(C _k)	n _k	α ₁	P(C _k)		
70	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	100
85	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	100
100	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	100
115	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	100
130	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	100
РСЗ	20	1	0	20	1	0	20	1	0	0	0
розчин порівн.	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	100

Таблиця 2 – Критерії прийнятності валідаційних характеристик

Критерії прийнятності	Величини критичних значень
Вміст піридоксину гідрохлориду, г	0,051–0,069
Допуски вмісту – В, %	±15
Повна невизначеність методики – max ΔA _s , %	4,8
Максимальна систематична похибка – δ _{max} , %	1,54
Залишкове стандартне відхилення – S ₀ , %	2,7105
Індекс кореляції – R _c	0,9924
Вільний член – а	5,12

Таблиця 3 – Стабільність досліджуваного розчину в часі

Час дослідження стабільності, хв					середнє	RSD _t , %	Δt, %=	δ _{max} , %
30	40	50	60	70				
0,409	0,411	0,412	0,413	0,414				
0,410	0,412	0,412	0,413	0,413				
0,409	0,411	0,413	0,412	0,414				
0,4093	0,4113	0,4123	0,4127	0,4138	0,4118	0,5388	0,9838	1,024

Валідацію аналітичної методики кількісного визначення піридоксину гідрохлориду в розчині для пиття “Седавіт” проводили за стандартизованою процедурою у діапазоні застосування 70–130 % від номінальної концентрації [6]. При вивченні методики кількісного визначення було встановлено такі валідаційні характеристики, як: правильність, збіжність, лінійність та внутрішньолабораторна прецизійність (табл. 4) [1, 2, 6].

Таблиця 4 – Валідаційні характеристики методики спектрофотометричного визначення піридоксину гідрохлориду

Валід. характеристики	Лаб. 1	Лаб. 2
Вивчення правильності та збіжності		
Z, %	98,59	99,19
S _z , %	0,46	0,56
Δ _z , %	0,81	0,99
δ, %	1,41	0,81
Вивчення лінійності		
b	0,9724	0,9893
S _b	0,0040	0,0050
a	1,2950	-0,2568
S _a	0,4092	0,5073
S _o	0,3288	0,4077
r	0,9999	0,9998
Вивчення внутрішньолабораторної прецизійності		
Z _{intra} , %	98,63	
SD _z , %	0,44	
Об'єднане Δ _z , %	1,37	

Валідаційні характеристики методики оцінювали за результатами аналізу 15 випробувань для п'яти різних концентрацій, відтворюваність визначали у різні дні та різними ана-

літиками, в умовах однієї лабораторії. Одержані результати лінійності свідчать про виконання вимог до параметрів $a \leq 5,12$, $r \leq 0,9924$, $S_o \leq 2,7105$, лінійність методик підтверджується на всьому діапазоні визначення (70–130 %). За результатами внутрішньолабораторного дослідження, середнє значення та відхилення одичного випробування для методики кількісного визначення склали $Z_{intra} \pm \Delta_{intra} = 98,63 \pm 1,37$. Величина Δ_{intra} не перевищувала максимально допустимого невизначеність аналітичної методики $\Delta_{intra} \leq 4,8$ %, а загальна систематична похибка та систематична похибка окремого дослідження 1,41 %, 0,81 % не перевищували критичного значення $\delta_{max} = 1,54$ %.

ВИСНОВКИ. 1. При валідації методики ідентифікації піридоксину гідрохлориду в препараті “Седавіт” методом абсорбційної спектрофотометрії встановлено, що ймовірність виявлення піридоксину гідрохлориду складає 1,0 на всьому діапазоні застосування (70–130 %); ідентифікація піридоксину гідрохлориду за присутності інших компонентів лікарського засобу характеризується 100 % достовірністю відтворення результату.

2. За отриманими даними валідаційних характеристик (діапазон застосування, специфічність, правильність, збіжність, лінійність, робастність, внутрішньолабораторна прецизійність), спектрофотометрична методика кількісного визначення піридоксину гідрохлориду в розчині для пиття “Седавіт” відповідає вимогам ДФУ, може бути коректно відтворена в умовах лабораторії з аналізу якості лікарських засобів та може бути внесена до МКЯ.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”. – Доповнення 2. – Харків : РІРЕГ, 2008. – 608 с.
2. Евтифеева О. А. Стандартизованная процедура валидации методик количественного определения экстенпоральных лекарственных средств в условиях аптек и лабораторий по контролю качества / О. А. Евтифеева, В. А. Георгиянц // Фармаком. – 2007. – № 1. – С. 69–81.
3. Евтифеева О. А. Стандартизация подходов до оценки химических методов идентификации речовин, які входять до складу екстенпоральних лікарських препаратів / О. А. Евтифеева // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. – 2010. – № 1. – С. 19–24.

4. Мелентьева Г. А. Фармацевтическая химия / Г. А. Мелентьева, Л. А. Антонова. – М. : Медицина, 1985. – 480 с.

5. Обґрунтування складу лікарського засобу седативної дії / С. В. Гарна, А. І. Русинів, В. А. Георгіянц [та ін.] // Актуальні питання фармацевтичної науки та практики. – 2010. – Вип. XXIII, № 2. – С.13–16.

6. Стандартизованная процедура валидации методик количественного анализа лекарственных средств методом стандарта / А. И. Гризодуб, Д. А. Леонтьев, Н. В. Денисенко, Ю. В. Подпрудников // Фармаком. – 2004. – № 3. – С. 3–17.

7. Heba Abdine H. Simultaneous determination of melatonin-pyridoxine combination in tablets by zero-crossing derivative spectrophotometry and spec-

trofluorimetry // Heba H. Abdine, Azza A. Gazy, Mohamed H. Abdel-Hay // Journal of Pharmaceutical and Bio-medical Analysis. – 1998. – 17, Iss. 3. – P. 379–386.

8. Simultaneous Determination of Codeine and Pyridoxine in Pharmaceutical Preparations by First-

Derivative Spectrofluorimetry / Antonio Molina-Diaz, Natividad Ramos-Martos, Alberto Navalon, Luis F. Capitan-Vallvey // Journal of AOAC INTERNATIONAL. – 2002. – 85, Iss: 4. – P. 861–868.

С. В. Гарная, А. А. Здорик, В. А. Георгиянц
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИК КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПИРИДОКСИНА ГИДРОХЛОРИДА В РАСТВОРЕ ДЛЯ ПИТЬЯ “СЕДАВИТ”

Резюме

Проведена валидация аналитических методик идентификации и количественного определения пиридоксина гидрохлорида в растворе для питья “Седавит” по стандартизированной процедуре, которая соответствует требованиям ГФУ. При валидации методики идентификации пиридоксина гидрохлорида были изучены специфичность и достоверность воспроизведения методики. Для методики количественного определения рассматривали основные валидационные характеристики: диапазон применения, специфичность, правильность, сходимость, линейность, робастность, внутрилабораторную прецизионность, что позволило определить пригодность методики для использования в фармацевтическом анализе.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: метод абсорбционной спектрофотометрии, валидация аналитической методики, пиридоксина гидрохлорид.

S. V. Harna, O. A. Zdoryk, V. A. Heorhiyants
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

THE VALIDATION OF THE QUALITATIVE AND QUANTITATIVE DETERMINATION METHODS OF PYRIDOXINE HYDROCHLORIDE IN THE SOLUTION FOR DRINK “SEDAVITUM”

Summary

The validation of analytical identification and assay methods of pyridoxine hydrochloride in the solution for drink “Sedavitum” was conducted according to the standardized procedure which corresponds to the requirements of the SPU. Specificity and reliability of reproduction was studied during the validation of the identification method of a pyridoxine hydrochloride. The basic validation parameters: range of use, specificity, correctness, accuracy, linearity, robustness, intralaboratory precision were examined for the assay method that has allowed to define suitability of a method for usage in the pharmaceutical analysis.

KEY WORDS: absorption spectrophotometry, validation of analytical methods, pyridoxine hydrochloride.

Отримано 02.06.11

Адреса для листування: С. В. Гарна, Леніна, 1, кв. 112, Харків, 61166, Україна.

**СИНТЕЗ ТА НЕЙРОТРОПНА АКТИВНІСТЬ ПОХІДНИХ ГАЛОГЕНІДІВ
1-R-4-(ФУРАН-2-ІЛ-МЕТИЛАМІНО)-4H-1,2,4-ТРІАЗОЛУ**

Здійснено синтез, вивчено фізико-хімічні властивості та нейротропну активність галогенідів 1-R-4-(фуран-2-іл-метиламіно)-4H-1,2,4-тріазол-1-іум.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: нейролептична активність, аналептична активність, N-(фуран-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-4-аміну.

ВСТУП. Однією з актуальних проблем сучасної медицини та фармації є створення високоефективних та менш токсичних за існуючі біологічно активних речовин. Серед таких сполук значну увагу привертають похідні 1,2,4-тріазолу. В сучасній медицині з успіхом використовують ряд лікарських препаратів (летрозол, флуконазол, тіотриазолін, альпразолам та ін.), до складу яких входить дана гетероциклічна система [4, 5, 7]. На сучасному етапі розвитку науки дослідження нейротропної активності є одним з пріоритетних напрямків, в якому проводяться пошук та створення нових лікарських засобів [3, 6]. У зв'язку з цим, ми поставили за мету синтезувати ряд похідних галогенідів 1-R-4-(фуран-2-іл-метиламіно)-4H-1,2,4-тріазол-1-іум та провести дослідження на нейролептичну та аналептичну активність.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Як вихідну сполуку для синтезу було використано N-(фуран-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-4-амін, який отримано за допомогою реакції відновлення з N-(фуран-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-4-амін боргідридом натрію у водно-спиртовому середовищі. Одержану сполуку виділяли шляхом екстракції хлороформом.

Далі при взаємодії N-(фуран-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-4-аміну з галогеналканами та галогенкетонами було отримано відповідні галогеніди 1-R-4-(фуран-2-іл-метиламіно)-4H-1,2,4-тріазол-1-іум (табл. 1, сполуки 1.1–1.9). Алкілування галогеналканами N-(фуран-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-4-аміну було проведено з 1-бромбутаном, 1-бромгептаном, 1-бромоктаном, 1-бромдеканом шляхом кип'ятіння

© Є. С. Пругло, Т. С. Гоцуля, О. І. Панасенко, Є. Г. Книш, 2011.

еквімолекулярних кількостей відповідних компонентів протягом 6 год у середовищі етанолу.

Алкілування галогенкетонами N-(фуран-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-4-аміну було проведено з 2-бром-1-(4-нітрофеніл)етаноном, 2-хлор-1,2-дифенілетаноном, 2-бром-1-(4-гідроксиметил)етаноном, 2-бром-1-(4-гідроксиметил)фенілетаноном, 1-біфеніл-4-іл-2-брометаном шляхом кип'ятіння протягом 2–3 год у середовищі етанолу. Після проведення алкілування N-(фуран-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-4-аміну отримали відповідні галогеніди сполук 1.5–1.9, характеристики яких наведено в таблиці 1. Одержані сполуки являють собою білі кристалічні речовини, розчинні в органічних розчинниках та малорозчинні у воді. Для аналізу сполуки 1.1–1.3, 1.5, 1.6, 1.7 було очищено шляхом перекристалізації з етанолу, сполуку 1.4 – із суміші ацетон:вода (1:1), а сполуки 1.8 та 1.9 – з диметилформаміду. Будова синтезованих сполук підтверджена нами за допомогою елементного аналізу та ІЧ-спектроскопії, а їх індивідуальність – за допомогою тонкошарової хроматографії [2].

При вивченні нейрофармакологічної дії синтезованих сполук було застосовано метод пролонгування снодійної дії барбітуратів шляхом одноразового введення тіопенталу натрію в дозі 30 мг/кг. Досліди проводили на інтактних білих щурах лінії Вістар різної статі масою 148–275 г по 7 тварин у кожній. Водну суспензію галогенідів 1-алкіл-4-(фуран-2-іл-метиламіно)-4H-1,2,4-тріазолу (в дозі 1/10 від LD₅₀ у розрахунку 1 мл розчину суспензії на 100 г тварини) вводили за 30 хв до введення тіопенталу натрію. Про вплив сполук на снодійну дію тіопенталу натрію судили за зміною латентного періоду засинання, тривалістю сну,

відсотком тварин, які заснули, у дослідних групах порівняно з контрольною [1].

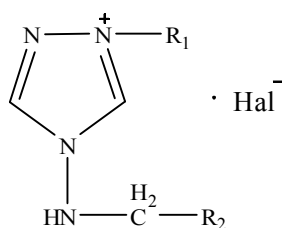
Як еталони порівняння використовували аміназин та кофеїн-бензоат натрій. Отримані експериментальні дані про взаємодію галогенідів 1-алкіл-4-(фуран-2-іл-метиламіно)-4H-1,2,4-тріазол-1-іум з тіопенталом натрію наведено в таблиці 2.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. ІЧ-спектри галогенідів сполук 1.1–1.9 характеризуються наявністю інтенсивної смуги поглинання в ді-

лянці 1565–1500 см⁻¹, що властива валентним коливанням СН-груп фуранового кільця, і смуги в ділянці 1640–1690 см⁻¹, яка відповідає валентним коливанням NH-груп та CN-груп. Сполуки 1.5–1.9 містять чіткі смуги поглинання в межах 1620–1550 см⁻¹, що свідчать про наявність СН-груп ароматичного кільця, та смуги в ділянці 1690–1680 см⁻¹, яка відповідає валентним коливанням групи С=О.

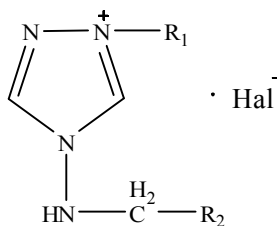
Як видно з таблиці 2, вказані сполуки є помірно активними і не перевищують еталони порівняння. Однак сполука 2.6 за своєю активністю наближається до аміназину.

Таблиця 1 – Галогеніди 1-алкіл-4-(фуран-2-іл-метиламіно)-4H-1,2,4-тріазолу



сполуки	R ₁	R ₂	Т. пл., °С	Брутто-формул	Вихід, %
1.1	C ₄ H ₉	C ₄ H ₃ O	50–52	C ₁₁ H ₁₇ BrN ₄ O	71,0
1.2	C ₇ H ₁₅	C ₄ H ₃ O	55–57	C ₁₅ H ₂₈ BrN ₄ O	70,5
1.3	C ₈ H ₁₇	C ₄ H ₃ O	52–54	C ₁₅ H ₂₈ BrN ₄ O	78,5
1.4	C ₁₀ H ₂₁	C ₄ H ₃ O	103–105	C ₁₇ H ₂₉ BrN ₄ O	80,7
1.5	CH ₂ CO-C ₆ H ₅	C ₄ H ₃ O	141–143	C ₁₅ H ₁₅ BrN ₄ O ₂	69,0
1.6	CH ₂ CO-C ₆ H ₄ -OCH ₃ -4	C ₄ H ₃ O	159–162	C ₁₆ H ₁₇ BrN ₄ O ₃	89,7
1.7	CH ₂ CO-C ₆ H ₄ -NO ₂ -4	C ₄ H ₃ O	194–196	C ₁₅ H ₁₄ BrN ₄ O ₄	87,0
1.8	CH ₂ CO-(C ₆ H ₅) ₂	C ₄ H ₃ O	201–203	C ₂₁ H ₁₉ BrN ₄ O ₂	71,0
1.9	2-хлор-1,2-дифенілет нон	C ₄ H ₃ O	193–196	C ₂₁ H ₁₉ ClN ₄ O ₂	75,0

Таблиця 2 – Нейротропна активність галогенідів 1-алкіл-4-(фуран-2-іл-метиламіно)-4H-1,2,4-тріазолу



сполуки	R ₁	R ₂	% ктивності
Контроль	–	–	100
мін зин	–	–	94
Кофеїн-бензо т н трій	–	–	66*
2.1	C ₄ H ₉	C ₄ H ₃ O	20
2.2	C ₇ H ₁₅	C ₄ H ₃ O	31
2.3	C ₈ H ₁₇	C ₄ H ₃ O	5
2.4	C ₁₀ H ₂₁	C ₄ H ₃ O	9*
2.5	CH ₂ CO-C ₆ H ₅	C ₄ H ₃ O	14*
2.6	CH ₂ CO-C ₆ H ₄ -OCH ₃ -4	C ₄ H ₃ O	62
2.7	CH ₂ CO-C ₆ H ₄ -NO ₂ -4	C ₄ H ₃ O	8
2.8	CH ₂ CO-(C ₆ H ₅) ₂	C ₄ H ₃ O	4
2.9	C ₁₄ H ₁₁ ClO	C ₄ H ₃ O	21

Примітка. * – результати вивчення аналептичної дії похідних 4-аміно-1,2,4-тріазолу.

ВИСНОВКИ. 1. Здійснено синтез нових галогенідів 1-алкіл-4-(фуран-2-іл-метиламіно)-4H-1,2,4-тріазолу.

2. Досліджено нейролептичну та аналептичну активність синтезованих сполук.

3. Встановлено, що галогеніди 1-алкіл-4-(фуран-2-іл-метиламіно)-4H-1,2,4-тріазолу проявляють слабкі нейролептичну та аналептичну дії.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гацура В. В. Методы первинного фармакологического исследования биологически активных веществ / В. В. Гацура. – М. : Медицина, 1974. – 143 с.

2. Казицына Л. А. Применение УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии в органической химии / Л. А. Казицына, Н. Б. Куплетская. – М. : Высшая школа, 1971. – 264 с.

3. Нейротропная активность S-производных 5-(фуран-2-ил)-4-R-1,2,4-тріазол-3-тионов / В. В. Парченко, А. И. Панасенко, Е. Г. Кныш [и др.] // Pharm. review. – 2009. – № 3. – С. 34–37.

4. Синтез и нейротропная активность замещенных 5-диалкиламиноацетил-3a,4,5,9b-тетрагидро-3H-циклопент[с]хинолинов / Г. Ф. Крайнова, Ю. Б. Вихарев, Л. В. Аникина [и др.] // Хим.-фармац. журн. – 2009. – 43. – С. 606–609.

5. Синтез и нейротропная активность 1-замещенных 4H-[1]бензопирано[3,4-d][1,2,3]тріазол-4-онов / В. Л. Савельев, О. Л. Самсонова, В. П. Лезина [и др.] // Хим.-фармац. журн.: Научно-технический и производственный журнал. – 2003. – 37, № 9. – С. 25–29.

6. Raafat M. Shaker. The chemistry of mercapto- and thion-substituted 1,2,4-triazoles and their utility in heterocyclic synthesis / Raafat M. Shaker // ARKIVOC. – 2006. – 9. – P. 59–112.

7. Synthesis and psychotropic activity of triazoles and tetrazoles condensed with spiro(benzo[h]quinazoline-5,1'-cycloalkanes) / A. I. Markosyan, R. A. Kuroyan, M. O. Oganisyan [et al.] // Pharm. Chem. J. – 1996. – 30, № 8. – P. 498–502.

Е. С. Пругло, Т. С. Гоцуля, А. И. Панасенко, Е. Г. Кныш
ЗАПОРІЖСЬКИЙ ГОСУДАРСТВЕННИЙ МЕДИЦИНСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ

НЕЙРОТРОПНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ ГАЛОГЕНИДОВ 1-R-4-(ФУРАН-2-ИЛ-МЕТИЛАМИНО)-4H-1,2,4-ТРИАЗОЛА

Резюме

Проведен синтез, изучены физико-химические свойства и нейротропная активность галогенидов 1-R-4-(фуран-2-ил-метиламино)-4H-1,2,4-тріазол-1-иум.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: нейролептическая активность, аналептическая активность, N-(фуран-2-илметил)-4H-1,2,4-тріазол-4-аміна.

Ye. S. Pruhlo, T. S. Hotsulya, O. I. Panasenko, Ye. H. Knysh
ZAPORIZHIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

SYNTHESIS AND NEUROTROPIC ACTIVITY OF DERIVATIVES OF 1-R-4-(FURAN-2-IL-METYLENAMINO)-4H-1,2,4-TRIAZOLE HALOGENIDES

Summary

The synthesis and investigation of physic-chemical properties of 1-R-4-(furan-2-il-metylenamino)-4H-1,2,4-triazole halogenides was carried out. It was established that 1-alkyl-4-(furan-2-il-methylamino)-4H-1,2,4-triazole halogenides do not have the neuroleptic and analeptic activity.

KEY WORDS: neuroleptic activity, analeptic activity, 4-(furan-2-il-methylamino)-4H-1,2,4-triazole.

Отримано 20.06.11

Адреса для листування: Т. С. Гоцуля, Запорізький державний медичний університет, просп. Маяковського, 26, Запоріжжя, 69035, Україна.

КАЛЬЦІЙ-ФОСФОРНИЙ ОБМІН ТА СТАН МЕТАБОЛІЗМУ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ У ХВОРИХ НА ГЕНЕРАЛІЗОВАНИЙ ПАРОДОНТИТ ІЗ СУПУТНИМ ОСТЕОАРТРОЗОМ

У статті наведено результати дослідження кальцій-фосфорного обміну та метаболізму кісткової тканини у хворих на генералізований пародонтит на тлі остеоартрозу та без супутньої соматичної патології. Результати дослідження вказують на порушення кісткового метаболізму при фізіологічних рівнях маркерів кальцій-фосфорного обміну в сироватці крові хворих на остеоартроз.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: кальцій, фосфор, оксипролін, лужна фосфатаза, остеоартроз, генералізований пародонтит.

ВСТУП. Згідно з результатами вивчення біохімічних показників: активності лужної фосфатази, фракцій гідроксипроліну, показників денситометрії у хворих на остеоартроз встановлено характерні зміни, що свідчать про порушення структурно-функціонального стану кісткової тканини, внаслідок чого виникають передумови для розвитку і прогресування генералізованого пародонтиту [1–3, 5].

Значна поширеність та прогресуючий перебіг, взаємозумовленість стану тканин пародонта і внутрішніх органів висувають цю проблему в число найбільш складних.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження концентраційних показників кальцій-фосфорного обміну та маркерів метаболізму органічного матриксу кісткової тканини проведено у сироватці крові 70 хворих на остеоартроз (основної групи) та 38 осіб без соматичної патології (контрольної групи). До дослідних груп було включено осіб із клінічно здоровим пародонтом і хворих на генералізований пародонтит (ГП) I, II, III ступенів тяжкості віком від 45 до 54 років.

Визначення вмісту кальцію, неорганічного фосфору в сироватці крові осіб основної та контрольної груп проводили фотометричним методом, лужної фосфатази – колометричним тестом з використанням стандартних наборів “HUMAN GmbH” (Німеччина). Результати аналізували на біохімічному аналізаторі HUMALYZER 2000 “Human”. Вільний оксипролін сироват-

© М. С. Залізняк, 2011.

ки крові хворих досліджували методом Н. Z. Stegemann [4].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Згідно з даними таблиці 1, середні показники концентрації кальцію у крові хворих на остеоартроз перевищували значення аналогічних показників контрольної групи: на 5,80 % ($p > 0,05$) при клінічно здоровому пародонті та на 4 % ($p < 0,05$) при генералізованому пародонтиті, проте перебували в межах фізіологічної норми.

Динаміку концентраційних показників кальцію у крові хворих основної та контрольної груп наведено в таблиці 2. У хворих на остеоартроз (ОА) рівень кальцію в сироватці крові перевищував аналогічні значення контрольної групи відсотково: на 4,93 % при ГП I ступеня ($p > 0,05$), на 3,56 % при ГП II ступеня ($p > 0,05$), на 3,08 % при ГП III ступеня ($p > 0,05$). Концентрація кальцію у крові хворих на остеоартроз при ГП різних ступенів тяжкості практично не змінювалась, у групі контролю цей показник мав тенденцію до несуттєвого підвищення з прогресуванням захворювань зубоутримуючих тканин.

Рівень кальцію в сироватці крові належить до найбільш стабільних величин, тому його значення, які перевищують норму, шкідливі для ферментативних систем організму, а дуже низькі його показники порушують функціонування нервово-м'язової системи і процеси мінералізації кісток.

Середні значення неорганічного фосфору в крові хворих основної групи несуттєво і

статистично недостовірно перевищували значення контрольної групи при здоровому пародонті та при генералізованому пародонтиті.

Виявлене нами підвищення концентрації фосфору в крові хворих у динаміці прогресування генералізованого пародонтиту в основній та контрольній групах, що досягло максимального значення при ГП III ступеня тяжкості на 14,16 та 22,12 % відповідно від значень при клінічно здоровому пародонті у цих групах, було статистично недостовірним та перебувало в межах фізіологічної норми.

Концентрація неорганічного фосфору в крові хворих основної групи перевищувала аналогічні значення контролю при ГП I та III ступенів тяжкості відсотково: на 7,89 % при ГП I ступеня та на 1,57 % при ГП III ступеня, у всіх випадках статистично недостовірно ($p > 0,05$).

Співвідношення Ca/P у хворих основної та контрольної груп демонструвало тенденцію до зниження цього показника в динаміці розвитку захворювань зубоутримуючих тканин, досягнувши мінімального значення в обох дослідних групах при ГП III ступеня тяжкості на 13,62 та 8,84 % відповідно стосовно осіб зі здоровим пародонтом у цих групах. Значення Ca/P у хворих на остеоартроз та осіб без супутньої соматичної патології при клінічно здоровому пародонті та генералізованому пародонтиті всіх ступенів тяжкості достовірно не відрізнялись.

Результати дослідження рівня кальцію та неорганічного фосфору в сироватці крові хворих основної групи дозволяють стверджувати, що дистрофічні процеси в кістковій тканині пародонта при генералізованому пародонтиті на тлі остеоартрозу відбуваються на фоні несуттєвих змін кальцій-фосфорного гомеостазу в крові, тобто не відображаються динамікою сироваткових показників цих макроелементів.

Таблиця 1 – Середні показники кальцій-фосфорного обміну в сироватці крові хворих на остеоартроз при клінічно здоровому пародонті та генералізованому пародонтиті

Група обстеження	Стан пародонта	Ca, ммоль/л	P, ммоль/л	Ca/P, ммоль/л	Окси-пролін, мкмоль/л	ЛФ, од./л
Основна	Здоровий пародонт, n=6	2,37±0,05 $p > 0,05$	1,13±0,05 $p > 0,05$	2,13±0,08 $p > 0,05$	71,90±13,33 $p > 0,05$	163,67±8,42 $p > 0,05$
	ГП, n=64	2,34±0,02 $p < 0,05^{***}$	1,15±0,02 $p > 0,05$	2,08±0,05 $p > 0,05$	73,25±2,33 $p < 0,05$	194,03±6,59 $p > 0,05$
Контрольна	Здоровий пародонт, n=8	2,21±0,06	1,04±0,05	2,15±0,11	60,20±5,39	164,13±12,26
	ГП, n=30	2,25±0,03	1,14±0,04	2,04±0,08	63,21±2,27	173,30±6,83

Примітка. Тут і в наступних таблицях: p – достовірність різниці між показниками основної та контрольної груп; **($p_1 < 0,05$) – різниця достовірна між показниками хворих на генералізований пародонтит і осіб зі здоровим пародонтом основної групи; ***($p_2 < 0,05$) – різниця достовірна між показниками хворих на генералізований пародонтит і осіб зі здоровим пародонтом контрольної групи.

Рівень оксипроліну, маркера синтезу колагену, при ГП у хворих основної групи статистично достовірно перевищував середні значення контролю на 15,88 % (табл. 1). Динаміку вмісту вільного оксипроліну у хворих основної та контрольної груп наведено в таблиці 3.

У сироватці крові хворих основної групи рівні оксипроліну перевищували аналогічні значення контролю: на 19,44 % при клінічно здоровому пародонті, на 19,74 % при ГП I ступеня, на 17,32 % при ГП II ступеня, на 9,11 % при ГП III ступеня, однак статистично недостовірно у всіх випадках.

З прогресуванням патологічного процесу у тканинах пародонта вміст вільного оксипроліну в крові мав тенденцію до підвищення, досягнувши максимальних значень при ГП III ступеня у хворих основної та контрольної груп на 4,59 та 14,49 % відповідно від значень осіб зі здоровим пародонтом у цих групах.

Несуттєві зміни рівнів оксипроліну вписуються в картину хронічного перебігу патологічного процесу, однак в цілому по групах спостереження при генералізованому пародонтиті виявлено достовірні зміни досліджуваного білка, що свідчать про посилення резорбтивних процесів кісткової тканини на тлі остеоартрозу (табл. 1).

Активність лужної фосфатази у крові хворих основної групи при ГП перевищувала значення контролю відсотково: на 2,93 % при I ступені ($p > 0,05$), на 6,78 % при II ступені ($p > 0,05$), на 30,25 % при ГП III ступеня ($p > 0,05$) (табл. 3).

У міру прогресування захворювань пародонта в обстежених основної групи активність лужної фосфатази поступово зростала: на 7,41 % при ГП I ступеня ($p_1 > 0,05$), на 13,72 % при ГП II ступеня ($p_1 > 0,05$), на 37,91 % при ГП III ступеня ($p_1 < 0,05$) стосовно осіб із клінічно здоровим пародонтом цієї групи.

Таблиця 2 – Динаміка концентраційних показників кальцію та фосфору у хворих на генералізований пародонтит основної та контрольної груп

Група обстеження	Стан пародонта	Са, ммоль/л	Р, ммоль/л	Са/Р, ммоль/л
Основна	Здоровий пародонт, n=6	2,37±0,05 p>0,05	1,13±0,05 p>0,05	2,13±0,08 p>0,05
	ГП I ступеня, n=20	2,34±0,04 p>0,05 ***	1,15±0,04 p>0,05	2,09±0,08 p>0,05
	ГП II ступеня, n=26	2,33±0,02 p>0,05 ***	1,07±0,03 p>0,05	2,24±0,07 p>0,05
	ГП III ступеня, n=18	2,34±0,04 p>0,05	1,29±0,03 p>0,05 **, ***	1,84±0,05 p>0,05 **, ***
Контрольна	Здоровий пародонт, n=8	2,21±0,06	1,04±0,05	2,15±0,11
	ГП I ступеня, n=12	2,23±0,04	1,06±0,04	2,13±0,08
	ГП II ступеня, n=10	2,25±0,04	1,14±0,04	2,00±0,09
	ГП III ступеня, n=8	2,27±0,05	1,27±0,13***	1,96±0,24

Таблиця 3 – Динаміка вмісту оксипроліну та лужної фосфатази у сироватці крові хворих на генералізований пародонтит основної та контрольної груп

Група обстеження	Стан пародонта	Оксипролін, мкмоль/л	ЛФ, од./л
Основна	Здоровий пародонт, n=6	71,90±13,33 p>0,05	163,67±8,42 p>0,05
	ГП I ступеня, n=20	72,68±5,17 p>0,05	175,80±4,29 p>0,05
	ГП II ступеня, n=26	72,34±3,49 p>0,05	186,12±10,30 p>0,05
	ГП III ступеня, n=18	75,20±3,48 p>0,05***	225,72±15,45 p>0,05**, ***
Контрольна	Здоровий пародонт, n=8	60,20±5,39	164,13±12,26
	ГП I ступеня, n=12	60,70±3,94	170,42±11,76
	ГП II ступеня, n=10	61,66±4,10	174,30±12,58
	ГП III ступеня, n=8	68,92±3,16	176,38±11,91

У контрольній групі аналогічні показники перевищували значення осіб із клінічно здоровим пародонтом цієї групи відсотково: на 3,83 % при ГП I ступеня, на 6,20 % при ГП II ступеня, на 7,46 % при ГП III ступеня.

Підвищення активності лужної фосфатази при прогресуванні генералізованого пародонтиту відзначали в обох групах спостереження, однак динаміка була більш виражена в осіб з остеоартрозом. Це вказує на посилення кісткової трофіки та порушення ремоделювання кісткової системи на етапі кісткового метаболізму при фізіологічних рівнях маркерів кальцій-

фосфорного обміну в сироватці крові хворих на ОА, що, безперечно, впливає на перебіг захворювань зубоутримуючих тканин.

ВИСНОВОК. Проведені дослідження та аналіз їх результатів вказують на те, що параметри кальцій-фосфорного гомеостазу крові хворих на остеоартроз несуттєво відхиляються від показників здорових осіб, перебувають у межах фізіологічної норми, це обґрунтовує припущення про пошкодження на етапі тканинного метаболізму кісткової системи як причину прогресуючого остеопорозу, а відтак швидкого прогресування пародонтиту.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Григор'єва Н. В. Особливості зв'язку між структурно-функціональним станом кісткової тканини та розвитком гонартрозу у жінок у постменопаузальний період / Н. В. Григор'єва // Укр. ревматол. журн. – 2006. – № 2 (24). – С. 57–60.

2. Загородний М. І. Обґрунтування ефективності комбінованої терапії гастропатій, викликаних диклофенаком натрію, у хворих на остеоартроз (експериментально-клінічне дослідження) : автореф.

дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук / М. І. Загородний. – Київ, 2003. – 21 с.

3. Клінічні, артросонографічні та біохімічні зіставлення при остеоартрозі колінних суглобів / І. Ю. Головач, І. П. Семенів, З. М. Митник, В. С. Сулима // Укр. ревматол. журн. – 2007. – № 1. – С. 61–65.

4. Кремель А. А. Методы определения оксипролина в биологических жидкостях и их применение в клинической практике / А. А. Кремель, Л. Н. Фурцева //

Вопр. мед. химии. – 1968. – 14, вып. 6. – С. 635–640.

5. Механізми формування остеоартрозу в підлітків / І. С. Лебець, Н. С. Шевченко, О. В. Матвієнко [та ін.] // Укр. ревматол. журн. – 2007. – № 4. – С. 3–6.

6. Слуцкий Л. И. Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани / Л. И. Слуцкий. – М. : Медицина, 1969. – 376 с.

М. С. Зализняк

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

КАЛЬЦИЙ-ФОСФОРНЫЙ ОБМЕН И СОСТОЯНИЕ МЕТАБОЛИЗМА КОСТНОЙ ТКАНИ У БОЛЬНЫХ ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМ ПАРОДОНТИТОМ С СОПУТСТВУЮЩИМ ОСТЕОАРТРОЗОМ

Резюме

В статье представлены результаты исследования кальций-фосфорного обмена и метаболизма костной ткани у больных генерализованным пародонтитом на фоне остеоартроза и без сопутствующей соматической патологии. Результаты исследования указывают на нарушение костного метаболизма при физиологических уровнях маркеров кальций-фосфорного обмена в сыворотке крови больных остеоартрозом.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кальций, фосфор, оксипролин, щелочная фосфатаза, остеоартроз, генерализованный пародонтит.

M. S. Zalizniak

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

CALCIUM-PHOSPHORUS EXCHANGE AND BONE METABOLISM IN PATIENTS WITH GENERALIZED PERIODONTITIS WITH CONCOMITANT OSTEOARTHRITIS

Summary

The article presents the results of studies of calcium-phosphorus metabolism and bone metabolism in patients with generalized periodontitis against osteoarthritis and without concomitant somatic pathology. The results indicate violations of bone metabolism at physiological levels of markers of calcium-phosphorus metabolism in serum of patients with osteoarthritis.

KEY WORDS: calcium phosphorus, hydroxyproline, alkaline phosphatase, osteoarthritis, generalized periodontitis.

Отримано 22.08.11

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

**КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ КИСЛОТИ РОЗМАРИНОВОЇ У ТАБЛЕТКАХ,
ЯКІ МІСТЯТЬ СУХІ ЕКСТРАКТИ ВАЛЕРІАНИ І МЕЛІСИ ТА ГЛІЦИН**

Розроблено методику кількісного визначення кислоти розмаринової в таблетках на основі сухих екстрактів валеріани і меліси та гліцину. Вивчено основні валідаційні характеристики методики. Показано, що методика придатна для контролю вмісту сухого екстракту меліси у таблетках на основі сухих екстрактів валеріани і меліси та гліцину.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: таблетки, сухі екстракти валеріани і меліси, гліцин, кислота розмаринова, високоефективна рідинна хроматографія.

ВСТУП. Порівняльний аналіз фармакопейних вимог вказує на те, що різні країни регламентують якість сировини меліси лікарської за різними критеріями. В Державній Фармакопеї України немає фармакопейної статті ні на траву меліси лікарської, ні на її екстракти. Фармакопея Австрії регламентує якість трави за вмістом ефірної олії. За вимогами Європейської Фармакопеї 5, 6 видань, якість сировини листя меліси контролюють за вмістом суми гідроксицинамових похідних у перерахунку на кислоту розмаринову. В умовах кількісного визначення вони утворюють сполуку рожево-червоного забарвлення з максимумом поглинання 505 нм. Дану методику визначення можна застосовувати при стандартизації трави, листя, екстрактів і настоек меліси. Враховуючи те, що в розробленому лікарському засобі присутня й інша сировина, яка може мати сполуки, що аналогічно реагують з нітрит-молібденовим реактивом, то визначення БАР меліси лікарської не можна проводити методом спектрофотометрії. При валідації аналітичної методики вона не пройде тест на специфічність, вміст фенолкарбонових кислот буде завищеним. Оптимальним методом аналізу комплексного препарату є ВЕРХ – цей метод дозволить розділити й одночасно кількісно визначити фенолкарбонові кислоти, а отже, селективно і достовірно провести аналіз на вміст екстракту меліси за присутності інших компонентів таблеток [3, 5, 6].

Метою роботи було розробити методику кількісного визначення кислоти розмаринової © Л. С. Логойда, Л. В. Вронська, 2011.

вої в таблетках, що містять сухі екстракти валеріани і меліси та гліцин.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Вимірювання проводили на рідинному хроматографі "Agilent". Стандартний розчин кислоти розмаринової готували шляхом розчинення стандартного зразка кислоти розмаринової (фірма "Aldrich") у 50 % етиловому спирті.

Інші використовувані розчини реактивів готували відповідно до вимог ДФУ. Приготування випробуваного розчину та розчину порівняння описано нижче.

Випробуваний розчин. 0,9000 г порошку розтертих таблеток поміщають у круглодонну колбу місткістю 100 мл зі шліфом, додають 70 мл 0,85 % розчину кислоти фосфорної Р, перемішують, нагрівають на водяній бані зі зворотним холодильником протягом 15 хв, охолоджують і переносять кількісно у мірну колбу місткістю 100 мл, доводять об'єм розчину до 100 мл 0,85 % розчином кислоти фосфорної Р. Отриманий розчин фільтрують або центрифугують.

Розчин порівняння кислоти розмаринової. 50 мг стандартного зразка кислоти розмаринової Р розчиняють у 0,85 % розчині кислоти фосфорної і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100,0 мл. 3,0 мл отриманого розчину доводять 0,85 % розчином кислоти фосфорної до об'єму 50,0 мл.

Хроматографування проводять на рідинному хроматографі з УФ-детектором за таких умов:
– колонка з нержавіючої сталі розміром 0,15 м×4 мм, заповнена *силікагелем октадецил-*

силільним для хроматографії P із розміром частинок 5 мкм;

- рухома фаза: 0,85 % розчин кислоти фосфорної P – метанол P (60:40);
- швидкість рухомої фази 1,0 мл/хв в ізократичному режимі елюювання;
- детектування за довжини хвилі 320 нм;
- об'єм проби, що вводиться, 10 мкл.

Хроматографують випробуваний розчин і розчин порівняння почергово, отримуючи по п'ять хроматограм для кожного розчину.

Вміст кислоти розмаринової (X), у грамах, рахуючи на середню масу таблетки, обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A_2 \cdot m_1 \cdot P \cdot 3}{A_1 \cdot 50 \cdot m_2 \cdot 100} \cdot b,$$

де A_1 – середня площа піку кислоти розмаринової на хроматограмі розчину порівняння;

A_2 – середня площа піку кислоти розмаринової на хроматограмі випробуваного розчину;

m_1 – маса наважки кислоти розмаринової, взята для приготування розчину порівняння, у грамах;

m_2 – маса наважки порошку розтертих таблеток, у грамах;

P – вміст кислоти розмаринової у стандартному зразку за даними паспорта, у відсотках;

b – середня маса таблетки, у грамах.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При розробці ВЕРХ-методики ідентифікації кислоти розмаринової в складі таблеток нами були проведені попередні дослідження хроматографічної поведінки згаданої речовини у різних хроматографічних умовах. Випробувано різні склади водно-органічних середовищ, які описані в літературі та у ДФУ для ЛРС, що містить фенолкарбоніві кислоти. Оптимальною, виходячи з багатьох міркувань, як аналітичних, так і економічних, на нашу думку, є суміш 0,85 % розчину кислоти фосфорної і метанолу, взятих у співвідношенні 60:40 відповідно. Застосування даної рухомої фази дозволяє провести елюювання в ізократичному режимі при задовільних, відповідно до вимог ДФУ, хроматографічних характеристиках піку.

Окрім цього, проводили дослідження можливості ідентифікації і кількісного визначення кислоти розмаринової за присутності БАР валеріани лікарської. Нами встановлено, що у запропонованих хроматографічних умовах кількісного визначення кислоти розмаринової БАР екстракту валеріани не проявляються жодним хроматографічним піком поблизу піку кислоти розмаринової (час утримування

– близько 6 хв). Це є можливим через те, що при довжині хвилі детектування кислоти розмаринової та інших гідроксикоричних кислот сесквітерпенові кислоти екстракту валеріани є оптично неактивними – не мають смуг поглинання [4, 6].

На рисунках 1, 2 наведено хроматограми розчинів кислоти розмаринової та випробуваного розчину, отриманого з таблеток на основі сухих екстрактів валеріани і меліси та гліцину в умовах кількісного визначення.

Відповідно до вимог ДФУ для розробленої методики необхідно було провести валідацію. Ми вивчали обмежене число валідаційних характеристик: лінійність, правильність і точність (збіжність), діапазон застосування [1, 2].

Нами досліджувалась лінійність методики. Методика повинна бути лінійною в діапазоні від мінімального вмісту до можливого максимального. З огляду на вміст кислоти розмаринової в сухому екстракті та враховуючи те, що використаний сухий екстракт меліси є квантифікованим, нами були виготовлені розчини кислоти розмаринової з різними концентраціями – від 15,40 до 46,30 мкг/мл. Концен-

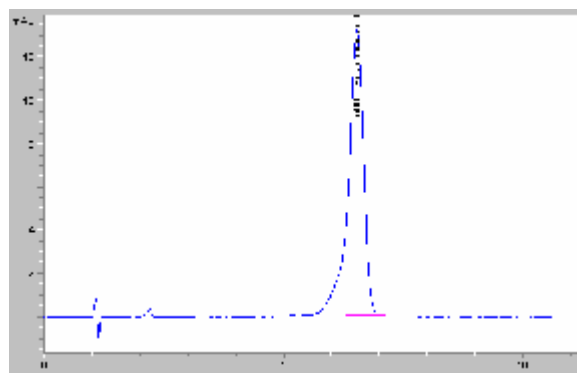


Рис. 1. Хроматограма розчину кислоти розмаринової в умовах кількісного визначення.

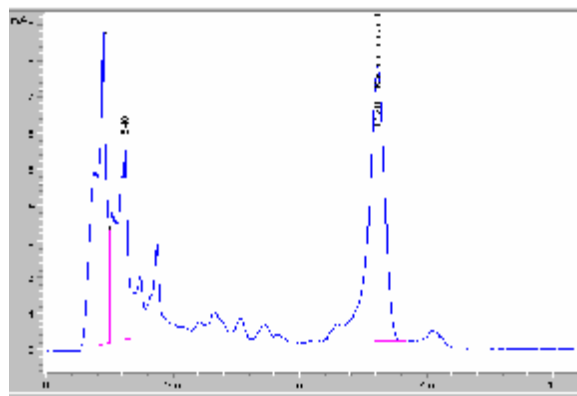


Рис. 2. Хроматограма випробуваного розчину, отриманого з таблеток на основі сухих екстрактів валеріани і меліси та гліцину в умовах кількісного визначення.

трація випробуваного розчину в умовах кількісного визначення перебуває в середині досліджуваного інтервалу – 30 мкг/мл. Результати дослідження лінійності методики наведено в таблиці 1.

У результаті проведених досліджень встановлено, що методика характеризується строгою лінійністю (коефіцієнт кореляції більший 0,99) в широких межах (від 50 до 150 % у нормалізованих координатах). Графік залежності площі піку від концентрації проходить практично через початок координат (точка перетину з віссю ординат 0,2127), що вказує на відсутність впливу фону чи допоміжних речовин на площі піків визначуваної речовини у даних умовах.

У таблиці 2 наведено результати визначення вмісту кислоти розмаринової в таблетках на основі сухих екстрактів валеріани і меліси та гліцину однієї серії та метрологічні характеристики цього визначення.

Результати проведеного випробування свідчать про добру збіжність методики, тобто про її прийнятну точність, оскільки жоден з

результатів за величиною похибки не вийшов більше ніж на 6,4 % (гранично допустима невизначеність за вимогами ДФУ).

Правильність і збіжність методики визначення кислоти розмаринової також досліджували методом “введено–знайдено” на стандартних розчинах кислоти розмаринової. Результати випробувань наведено у таблиці 3. Як бачимо з даних, наведених у таблиці, спостерігається рівномірний розподіл відхилень від введеного як у сторону більшого вмісту, так і в бік меншого вмісту, але при цьому не перевищує 2 %. Таким чином, жоден з результатів не дав відхилення від введеного, більшого від гранично допустимого значення (6,4 %).

У результаті проведених нами досліджень встановлено, що дана методика кількісного визначення кислоти розмаринової відповідає критеріям специфічності, лінійності, правильності та прецизійності (збіжності) в діапазоні 50–150 % від номінального вмісту. Такі результати повністю відповідають умові валідаційної характеристики “Діапазон застосування”, оскільки методика кількісного визначення,

Таблиця 1 – Результати дослідження лінійності методики кількісного визначення кислоти розмаринової

№ з/п	C _п , мкг/мл	C _{норм} , %	A _{вимір}	A _{норм}	Критеріальні вимоги і прийнятність	
1	15,40	49,9	290,4	49,4	Рівняння прямої: S _{норм} =0,9967·C _{норм} + 0,2127 Тангенс кута нахилу: b=0,9967 Точка перетину з віссю ординат: a=0,2127 Коефіцієнт кореляції: r=0,99996	
2	18,03	58,4	344,0	58,5		
3	20,55	66,6	392,5	66,8		
4	25,71	83,3	490,9	83,5		
5	30,85	100,0	587,7	100,0		
6	35,90	116,4	685,9	116,7		
7	38,52	124,9	730,9	124,4		
8	41,15	133,4	782,0	133,1		
9	46,30	150,1	879,1	149,6		
Коефіцієнт кореляції: r=0,99996					r>0,9984	виконується
Залишкова дисперсія S ₀ ² =0,1129					S ₀ /b≤1,35	виконується
Залишкове стандартне відхилення S ₀ =0,3360						
Довірчий інтервал константи a: Δ _a =0,8205 a=0,2127					> a ≤2,048	виконується за критеріями статистичної і практичної незначущості

Таблиця 2 – Результати визначення вмісту кислоти розмаринової в таблетках на основі сухих екстрактів валеріани і меліси та гліцину

Маса наважки, г	Площа хроматографічного піку	Концентрація кислоти розмаринової в розчині, мкг/мл	Знайдено кислоти розмаринової в одній таблетці, мг	Метрологічні характеристики (p=0,95 n=6)
0,9005	582,6	30,62	1,53	m̄=1,50 мг S=5,39·10 ⁻² t=2,57 Δm=0,06 мг m=(1,50±0,06) мг ε=4,0 %
0,8996	593,5	31,19	1,56	
0,9020	568,4	29,87	1,49	
0,9015	590,8	31,05	1,55	
0,9012	552,6	29,04	1,45	
0,9003	544,5	28,61	1,43	

Таблиця 3 – Результати перевірки правильності й збіжності методики визначення кислоти розмаринової методом ВЕРХ

№ з/п	$C_{i \text{ введено, \%}}$	$C_{i \text{ знайдено, \%}}$	$Z = C_{i \text{ знайдено}} \cdot 100 / C_{i \text{ введено, \%}}$
1	49,9	49,4	99,0
2	58,4	58,5	100,2
3	66,6	66,8	100,3
4	83,3	83,5	100,2
5	100,0	100,0	100,0
6	116,4	116,7	100,3
7	124,9	124,4	99,6
8	133,4	133,1	99,8
9	150,1	149,6	99,7
Середнє арифметичне, \bar{Z}			99,9
Відносне стандартне відхилення, $S, \%$			0,4272
Відносний довірчий інтервал, $\Delta, \%$			0,99
Критичне значення для збіжності результатів $\Delta, \% \leq 6,4$			виконується
Критерій статистичної незначущості систематичної похибки $\delta\% = \bar{Z} - 100 \leq \Delta_z / \sqrt{n}$		$\leq 0,33$	виконується
Критерій практичної незначущості систематичної похибки $\delta\% = \bar{Z} - 100 \leq 0,32 \cdot \Delta_{As}$		$\leq 2,048$	виконується
Загальний висновок про методику			коректна

відповідно до вимог ДФУ, повинна мати потрібну лінійність, правильність та прецизійність у діапазоні 80–120 % від номінального вмісту.

Таким чином, розроблена нами методика визначення вмісту кислоти розмаринової методом ВЕРХ придатна для аналізу таблеток на основі сухих екстрактів валеріани і меліси та гліцину з метою контролю вмісту сухого екстракту меліси.

ВИСНОВКИ. 1. Розроблено ВЕРХ-методику кількісного визначення кислоти розмаринової в таблетках на основі сухих екстрактів валеріани і меліси та гліцину.

2. Проведено валідацію методики, зокрема встановлено, що для характеристик специфічності, лінійності, правильності, точності (збіжності) й діапазону застосування виконуються критерії прийнятності відповідно до вимог ДФУ.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Державна Фармакопея України / Держ. п-во "Науково-експертний фармакопейний центр". – 1-ше вид. – Доповнення 1. – Х. : Держ. п-во "Науково-експертний фармакопейний центр", 2004. – 494 с.
2. Державна Фармакопея України / Держ. п-во "Науково-експертний фармакопейний центр". – 1-ше вид. – Х. : РІРЕГ, 2001. – 556 с.
3. Попова Н. В. Аналіз гідроксикоричних кислот в меліси лікарській / Н. В. Попова, В. І. Литвиненко, О. А. Певнева // Фармакогнозія XXI століття. Досягнення і перспективи : тези доп. Ювілейної наук.-практ. конф. з міжнар. участю. – Х. : Вид-во НФаУ, 2009. – С. 175–176.
4. Чекалюк Л. С. До питання аналізу комплексних лікарських засобів на основі екстрактів валері-

ани та меліси / Л. С. Чекалюк // Матеріали XIV Міжнародного медичного конгресу студентів і молодих вчених. – Тернопіль, 2010. – С. 313.

5. Чекалюк Л. С. До питання стандартизації трави меліси лікарської / Л. С. Чекалюк, Л. В. Вронська, М. М. Михалків // Актуальні проблеми синтезу і створення нових біологічно активних сполук та фармацевтичних препаратів : тези доп. Національної наук.-тех. конф. з міжнар. участю. – Л. : Львівська політехніка, 2008. – С. 216.

6. Чекалюк Л. С. Дослідження можливості визначення суми гідроксикоричних кислот в сировині і комплексних лікарських засобах на основі меліси лікарської / Л. С. Чекалюк, Л. В. Вронська // Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів : міжнар. наук.-практ. конф. – Тернопіль, 2009. – С. 32–33.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ КИСЛОТЫ РОЗМАРИНОВОЙ В ТАБЛЕТКАХ, СОДЕРЖАЩИХ СУХИЕ ЭКСТРАКТЫ ВАЛЕРИАНЫ И МЕЛИССЫ И ГЛИЦИН

Резюме

Разработана методика количественного определения кислоты розмариновой в таблетках на основе сухих экстрактов валерианы и мелиссы и глицина. Изучены основные валидационные характеристики методики. Показано, что методика пригодна для контроля содержания сухого экстракта мелиссы в таблетках на основе сухих экстрактов валерианы и мелиссы и глицина.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: таблетки, сухие экстракты валерианы и мелиссы, глицин, кислота розмариновая, высокоэффективная жидкостная хроматография.

L. S. Lohoyda, L. V. Vronska
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

QUANTITATIVE DETERMINATION OF ACID ROSMARINIC IN TABLETS, CONTAINING DRY VALERIAN EXTRACTS AND MELISSA AND GLYCINE

Summary

A method for quantitative determination of acid rosmarinic in tablets on the basis of dry extracts of valerian and lemon balm and glycine has been worked out. The basic characteristics of the validation methods have been studied. It has been shown that the technique is suitable for control of the dry extract of lemon balm in tablets on the basis of dry extracts of valerian and lemon balm and glycine.

KEY WORDS: tablets, dry extracts of valerian and lemon balm, glycine, acid rosmarinic, HPLC.

Отримано 05.09.11

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

КЛІНІКО-ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ ПРИ ВЕРХНЬОЩЕЛЕПНОМУ СИНУСИТІ

Досліджено ендотеліальну дисфункцію у 27 хворих на гострий гнійний верхньощелепний синусит і 24 пацієнтів із загостренням хронічного гнійного верхньощелепного синуситу. Виявлено статистично достовірне підвищення вмісту тромбомодуліну і фактора Віллебранда у крові в розпал захворювання й часткове зниження – з настанням реконвалесценції. Між значеннями маркерів ендотеліальної дисфункції існувала зворотна кореляція середньої сили на висоті захворювання.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: верхньощелепний синусит, тромбомодулін, фактор Віллебранда, ендотеліальна дисфункція.

ВСТУП. Ендотеліальна вистілка кровоносних судин дорослої людини в середньому важить 1 кг і має загальну площу 900 м² [8]. Ендотеліоцити володіють вираженою метаболічною активністю і виконують різні важливі функції (транспортний обмін речовин між кров'ю і навколишніми тканинами, бар'єрна здатність, атромбогенність і тромбогенність судинної стінки, регуляція адгезії лейкоцитів і тромбоцитів, тонуусу та росту судин) [3, 4, 10].

Порушення цих функцій є одним з універсальних механізмів патогенезу багатьох хвороб, оскільки може спричиняти тромбоутворення, ремодулювання судин, внутрішньосудинну активацію тромбоцитів і лейкоцитів, вазоконстрикцію чи вазодилатацію тощо [4].

У виникненні й розвитку інфекційних процесів надзвичайно важливе значення має бар'єрна функція ендотелію кровоносних судин, тому що він не тільки створює анатомічну перепону для поширення в організмі ряду збудників, але й бере участь у місцевому запаленні та продукуванні протизапальних факторів [4, 5, 9]. Здійснювати бар'єрну функцію ендотелію допомагає його здатність до адгезії. З іншого боку, адгезія деяких патогенних мікроорганізмів може слугувати передумовою їх проникнення в ендотеліальні клітини з наступною репродукцією і подальшою генералізацією інфекції [6].

В широкому розумінні ендотеліальну дисфункцію можна трактувати як неадекватне (збільшене або зменшене) утворення в ендотелії біологічно активних речовин, серед

яких важливе місце відводять тромбомодуліну і фактору Віллебранда. Однак при гнійно-запальних захворюваннях ЛОР-органів їх практично не досліджували.

Метою роботи було здійснити порівняльне дослідження вмісту тромбомодуліну і фактора Віллебранда в сироватці крові хворих на гнійний верхньощелепний синусит і дати клінічну оцінку виявлених змін в динаміці захворювання.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. В умовах стаціонару обстежено 51 хворого на гнійний верхньощелепний синусит, з них 27 – на гострий і 24 – на хронічний. Чоловіків було 35, жінок – 16, їх вік коливався в межах 18–57 років (у середньому 29 років). Клінічна і рентгенологічна картина захворювання була звичайна. Пацієнти не мали супутніх захворювань, які б суттєво впливали на функціональний стан ендотелію. Всі отримували загальноприйняте лікування.

У хворих кров забирали з ліктьової вени двічі: при прийнятті в стаціонар (розпал хвороби) і в день виписування (рання реконвалесценція). До проведення аналізу матеріал зберігали при температурі 20 °С. Рівень тромбомодуліну та фактора Віллебранда визначали імуноферментним методом з використанням комерційних тест-систем. Контрольну групу склали 10 здорових осіб різної статі, їх середній вік був близьким до основної групи. Вміст тромбомодуліну в сироватці крові виражали в нг/мл, фактора Віллебранда в плазмі – у відсотках від стандартної проби за калібрувальною кривою.

© Ю. М. Андрейчин, 2011.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. На висоті клінічних проявів захворювання мала місце суттєво вища за норму концентрація тромбомодуліну в крові пацієнтів як з гострим гнійним верхньощелепним синуситом, так і з загостренням хронічного гнійного верхньощелепного синуситу – (12,33±0,92) і (18,17±1,08) нг/мл відповідно проти (4,46±1,36) нг/мл у здорових осіб ($p<0,03$ і $p<0,02$), причому загострення хронічного синуситу супроводжувалось вищим рівнем цього маркера ($p<0,02$). В ранню реконвалесценцію його вміст у крові пацієнтів обох груп знизився – до (8,03±0,59) і (14,31±1,15) нг/мл відповідно ($p<0,05$ і $p<0,02$). Варто зазначити, що в цей період при хронічному синуситі тромбомодулін мав вищу концентрацію, ніж при гострому ($p<0,02$).

У розпал гострого гнійного верхньощелепного синуситу показник фактора Віллебранда підвищився на 62,1 % – до (142,9±6,6) % проти (80,8±0,8) % в нормі ($p<0,02$). У процесі одужання він знизився до (95,7±4,0) %, однак норми не досяг ($p<0,03$). При загостренні хронічного гнійного синуситу встановлено збільшення показника на 58,6 % – до (139,4±7,7) % ($p<0,02$ відносно норми) і деяке зниження з

настанням реконвалесценції – до (102,3±6,1) % ($p<0,03$ відносно норми).

Як видно з рисунків 1 і 2, обидва маркери ендотеліальної дисфункції зазнали подібних кількісних змін у динаміці захворювання: підвищення в розпал гнійного запалення і зниження в процесі одужання. Однак при виписуванні їх рівні ще не нормалізувались. Разом із тим, лише в розпал захворювання виявлено зворотний середній корелятивний зв'язок між цими кількісними показниками ($r=-0,42$, $p<0,05$), в ранню реконвалесценцію він був слабким, що, ймовірно, свідчить про різні механізми змін даних маркерів ендотеліальної дисфункції.

У пошкодженні ендотеліальної вистілки при запальних процесах беруть участь не тільки різні мікроорганізми (бактерії, віруси, хламідії та ін.), але й спричинені ними порушення метаболізму з розвитком ендотоксикозу, гіпоксія тканин, інтенсифіковане перекисне окиснення ліпідів клітинних мембран, цитокиновий каскад і гіперпродукування інших біологічно активних речовин, пришвидшений апоптоз, зрушення кислотно-лужної рівноваги, імунні та аутоімунні реакції, гіпергомоцистеїнемія [1, 2, 4, 6, 7, 9].

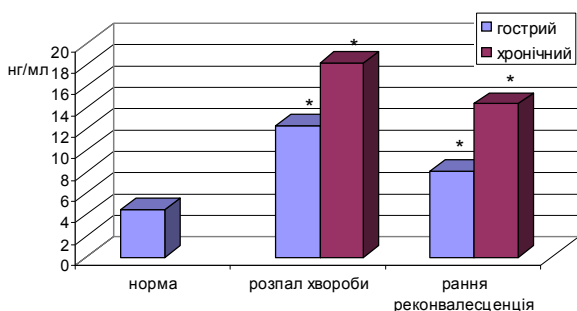


Рис. 1. Вміст тромбомодуліну в сироватці крові хворих на гнійний верхньощелепний синусит.

Примітка. Тут і на рисунку 2: * – $p<0,02-0,03$ відносно норми.

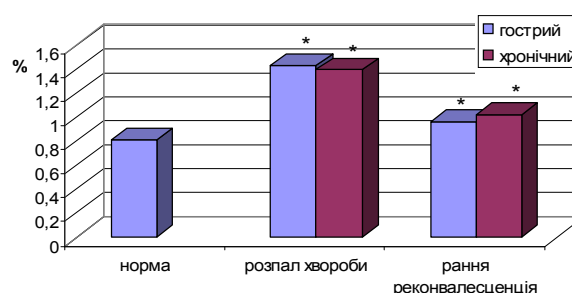


Рис. 2. Вміст фактора Віллебранда в сироватці крові хворих на гнійний верхньощелепний синусит.

ВИСНОВКИ. 1. У крові хворих на гнійний верхньощелепний синусит (гостра і хронічна форми) суттєво зростає вміст тромбомодуліну та фактора Віллебранда.

2. Нормалізація кількості цих маркерів у крові реконвалесцентів обох форм верхньо-

щелепного синуситу відстає від строків клінічного одужання.

3. У розпал захворювання встановлено зворотну кореляцію середньої сили між змінами вмісту тромбомодуліну і фактора Віллебранда, яка втрачалась з настанням ранньої реконвалесценції.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Билецкий С. В. Эндотелиальная дисфункция и патология сердечно-сосудистой системы / С. В. Билецкий, С. С. Билецкий // Внутрішня медицина. – 2008. – № 2 (8). – С. 36–41.

2. Гипергомоцистеинемия // <http://www.clii.com.ua/firms/ferrosan/swf/mt/07.swf>

3. Гистофизиология капилляров / В. И. Козлов, Е. П. Мельман, Е. М. Нейко, Б. В. Шутка. – СПб. : Наука, 1994. – 234 с.

4. Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция / под ред. Н. Н. Петрищева. – СПб. : Изд-во СПбГМУ, 2003. – 184 с.

5. Долженко М. Н. Эндотелиальная дисфункция: что нового? / М. Н. Долженко // Здоров'я України. – 2005. – № 18 (127) – С. 12–13.

6. Сидоренко Н. Н. Некоторые показатели иммунитета больных хроническим риносинуситом на фоне инфицирования хламидийной инфекцией / Н. Н. Сидоренко // Междунар. мед. журн. – 2006. – 12, № 2. – С. 56–59.

7. Яковлев В. М. Сосудистый эндотелий и хламидийная инфекция / В. М. Яковлев, А. И. Новиков. – М. : Медицина, 2000. – 172 с.

8. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders / D. B. Cines, E. S. Pollak, C. A. Buck [et al.] // Blood. – 1998. – 91 (10). – P. 3527-3561.

9. Mechanisms regulating endothelial cell barrier function / Troy Stevens, Joe J. Garcia, D. Michael Shasby [et al.] // Am. J. Physiol. Lung Mol. Physiol. – 2000. – 279. – P. 419–422.

10. Ochoa C. D. New developments in lung endothelial heterogeneity: Von Willebrand factor, P-selectin, and the Weibel-Palade body / C. D. Ochoa, S. Wu, T. Stevens // Semin. Thromb. Hemost. – 2010. – 36 (3). – P. 301–308.

Ю. М. Андрейчин

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ ПРИ ВЕРХНЕЧЕЛЮСТНОМ СИНОСИТЕ

Резюме

Исследовано эндотелиальную дисфункцию у 27 больных острым гнойным верхнечелюстным синуситом и 24 пациентов с обострением хронического гнойного верхнечелюстного синусита. Обнаружено статистически достоверное повышение содержания тромбомодулина и фактора Виллебранда в крови в разгар заболевания и частичное снижение – с наступлением реконвалесценции. Между значениями этих маркеров эндотелиальной дисфункции существовала обратная корреляция средней силы на высоте заболевания.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: верхнечелюстной синусит, тромбомодулин, фактор Виллебранда, эндотелиальная дисфункция.

Yu. M. Andreychyn

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

CLINICAL AND PATHOGENETIC SIGNIFICANCE OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN MAXILLARY SINUSITIS

Summary

The endothelial dysfunction in 27 patients with acute purulent maxillary sinusitis and 24 – with exacerbation of chronic purulent maxillary sinusitis was investigated. The Willebrand's factor and trombomodulin blood in the midst of disease and a partial reduction – with the onset of convalescence had statistically significant increase. The two markers of endothelial dysfunction, there were a reverse correlation of verage power at the top of the disease.

KEY WORDS: maxillary sinusitis, trombomodulin, Willebrand's factor, endothelial dysfunction.

Отримано 26.08.11

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

ВПЛИВ ТІОТРИАЗОЛІНУ НА ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ, ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ ТА ЕНДОГЕННІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ У ЩУРІВ З ТОКСИЧНИМ УРАЖЕННЯМ АЦЕТАМІНОФЕНОМ НА ТЛІ ТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ ЕСТРОГЕНІВ І ПРОГЕСТИНІВ

Досліджено вплив тіотриазоліну на активність процесів ліпідної пероксидації, показники антиоксидантної системи і стан ендогенної інтоксикації у щурів за умов токсичної дії ацетамінофену на фоні тривалого введення естрогенів та прогестинів. Установлено, що тіотриазолін зменшує прогресування патологічного процесу, що проявляється зниженням інтенсивності процесів вільнорадикального окиснення, поліпшенням стану ферментної та неферментної ланок антиоксидантної системи, зниженням проявів ендогенної інтоксикації.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ацетамінофен, тіотриазолін, пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантна система, гепатотоксичність, естрогени, прогестини.

ВСТУП. Від кінця минулого століття і дотепер не зменшується інтерес клініцистів, фармакологів, фармацевтів, біохіміків до метаболічної терапії, синтезу й пошуку метаболічних препаратів та з'ясування механізму їх дії. Одним з таких середників є тіотриазолін (морфоліній-3-метил-1,2,3-триазолін-5-тіоацетат) [4]. Препарат швидко посів гідне місце серед метаболічних засобів із вираженою антиоксидантною дією. Як представник групи метаболічних препаратів, завдяки наявності в хімічній структурі сірки, триазольного кільця і метильної групи, тіотриазолін має широкий спектр фармакологічної активності, що є особливо важливим для клінічної фармакології. Тіотриазолін проявляє антиоксидантну, протиішемічну, мембраностабілізуючу, антиаритмічну, імуномодулюючу, протизапальну, гепато-, кардіо- і нейропротекторну активність [4, 11]. Такий широкий спектр дії дозволяє використовувати тіотриазолін у кардіології, гепатології, гінекології, неврології, педіатрії та хірургії для комплексної терапії інфаркту міокарда, стенокардії, інсульту, гепатитів різного генезу тощо. В останні роки експериментально підтверджено ефективність застосування тіотриазоліну при різноманітних ураженнях печінки (тетрацикліновому, ізоніазидрифампіциновому, доксорубіциновому, алкогольному, тетрахлорметановому) завдяки антиоксидантному впливу, запобіганню проявам цитолізу [3, 11–13].

© І. Б. Івануса, 2011.

Зважаючи на це, ми поставили перед собою мету дослідити ефективність застосування тіотриазоліну для корекції порушень вільнорадикальних процесів, стану ендогенної інтоксикації у щурів з токсичним ураженням ацетамінофеном на тлі тривалого застосування естрогенів і прогестинів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на білих статевозрілих щурах-самках масою 180–220 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію при вільному доступі до води.

Нами було проведено 2 серії експерименту. В першій токсичне ураження ацетамінофеном викликали шляхом одноразового внутрішньошлункового введення тваринам суспензії ацетамінофену в 2 % розчині крохмалю в дозі 1250 мг/кг маси тіла ($1/2 LD_{50}$), у другій – суспензії ацетамінофену в 2 % розчині крохмалю в дозі 55 мг/кг, що відповідає вищій терапевтичній дозі, протягом 7 діб. Левоноргестрел тваринам обох серій вводили внутрішньошлунково в дозі 1,17 мг/кг маси тіла, а етинілестрадіол – у дозі 0,23 мг/кг маси тіла протягом 40 діб. Тіотриазолін вводили внутрішньочеревно в дозі 100 мг/кг.

У першій серії експерименту піддослідних щурів поділили на 3 групи: 1-ша – інтактні (контроль); 2-га – уражені ацетамінофеном після введення левоноргестрелу та етинілестрадіолу; 3-тя – тварини, уражені ацетамінофеном

після введення левоноргестрелу та етинілестрадіолу, яким проводили корекцію тіотриазоліном. У другій серії експерименту піддослідних щурів поділили на 3 групи: 1-ша – інтактні (контроль); 2-га – тварини, яким вводили ацетамінофен у вищій терапевтичній дозі протягом 7 діб після введення левоноргестрелу та етинілестрадіолу після 40-денного введення естрогенів і прогестинів; 3-тя – тварини, уражені ацетамінофеном після введення левоноргестрелу та етинілестрадіолу, яким проводили корекцію тіотриазоліном.

Тварин виводили з експерименту через 1 добу з моменту припинення ураження шляхом етаназії за умов тіопенталового наркозу. Всі експерименти на щурах проводили відповідно до Науково-практичних рекомендацій з утримання лабораторних тварин та роботи з ними [5].

Досліджували цільну кров, сироватку крові й гомогенат печінки. Концентрацію дієнових кон'югатів (ДК) визначали за методом, описаним у роботі [7], концентрацію ТБК-активних продуктів – за методикою [1], загальну пероксидазну активність крові (ПАК) – за методом Т. Попова (1972) [10], церулоплазміну (ЦП) – за [6]. Активність каталази (КТ) досліджували за методикою М. А. Королюка і співавт. (1988) [8]. Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за методикою [14]. Активність глутатіонпероксидази (ГП) та глутатіонредуктази (ГР) визначали за кількістю НАД·Н₂, що витрачається у ферментативній реакції відновлення окисненого глутатіону [9]. Вміст відновленого глутатіону (ВГ) досліджували згідно з методикою G. L. Ellman [15]. Для визначення активності аланін- і аспартатамінотрансфераз (АлАТ, АсАТ) використовували метод Райтмана і Френкеля [2]. Кількісні показники обробляли статистично. Достовірність різниці між порівнюваними величинами визначали за t-критерієм Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Отримані нами результати вказують на те, що гостре отруєння ацетамінофеном після 40-денного введення етинілестрадіолу і левоноргестрелу супроводжувалось активацією вільнорадикального окиснення ліпідів, про що свідчило достовірне збільшення концентрації початкових продуктів ПОЛ – ДК і ТК у плазмі крові на 399,0 і 681,9 % відносно контрольної групи тварин, а в печінці – 283,2 і 220,5 % відповідно (табл. 1), а також проміжних – ТБК-активних продуктів у сироватці крові та печінці на 213,0 і 176,1 % відповідно. Корекція тіотриазоліном призвела до достовірного зниження інтенсив-

ності ліпідної пероксидації у тварин, уражених ацетамінофеном після 40-денного введення естрогенів і прогестинів. Так, концентрація ДК знизилась у плазмі крові на 174,8 %, у печінці – на 151,3 % порівняно з тваринами 2-ї групи, ТК – на 277,0 та 123,2 %, ТБК-активних продуктів – на 118,2 та 108,3 % відповідно.

У першій серії експерименту активність СОД у сироватці крові та печінці за дії ацетамінофену на фоні естрогенів та прогестинів значно знизилась і становила в піддослідних тварин 2-ї групи, відповідно, 29 та 29,5 % від рівня інтактних щурів, що, ймовірно, є ознакою пригнічення синтезу ферменту. Введення тіотриазоліну спричинило зростання супероксиддисмутазної активності сироватки крові у 2,7 раза, а печінки – у 3 раза від рівня уражених тварин. Важлива роль у знешкодженні супероксидамінорадикалів у плазмі крові належить церулоплазміну. Вміст цього основного антиоксиданта плазми крові у піддослідних тварин 2-ї групи знизився на 59 %, а корекція тіотриазоліном супроводжувалась зростанням концентрації мідьоксидази в 2,2 раза відносно уражених щурів, причому показник лише на 12 % відрізнявся від рівня інтактних тварин.

У групі уражених щурів спостерігали достовірне підвищення каталазної активності в сироватці крові у 5 разів, тоді як у тварин 3-ї групи це зростання становило 2,4 раза порівняно з інтактними тваринами. Одночасно ми відмічали зниження каталазної активності в печінці уражених тварин у 2,9 раза. Корекція тіотриазоліном супроводжувалась повною нормалізацією показника в печінці.

Після введення ацетамінофену на фоні естрогенів та прогестинів у піддослідних тварин 2-ї групи активність ферменту АсАТ підвищилася у 5,33 раза, тоді як у 3-й групі під впливом тіотриазоліну активність даного ферменту зросла у 2,38 раза. Активність АлАТ сироватки крові в 2-й групі під дією ацетамінофену на фоні естрогенів та прогестинів зросла у 5,48 раза, а у тварин 3-ї групи з коригувальним чинником підвищилася у 2,51 раза. Значного збільшення зазнала пероксидазна активність крові уражених тварин – у 2,18 раза, тоді як за дії коригувального чинника зростання становило 1,36 раза.

За дії ацетамінофену та комбінованих контрацептивів активність глутатіонпероксидази зменшувалась відносно контрольних тварин у 2-й групі на 27,4 %, а введення тіотриазоліну призвело до зростання показника у 3 рази порівняно з ураженими щурами. Активність глутатіонредуктази знизилася у піддослідних тварин 2-ї групи до 34,2 % від норми, а у тва-

Таблиця 1 – Показники активності ліпідної пероксидації і стану антиоксидантної системи в білих щурів за умов гострого токсичного ураження ацетамінофеном на фоні тривалого введення естрогенів і прогестинів та при корекції тіотриазоліном ($M \pm m$)

Показник	Група тварин		
	контроль, n=6	ацетамінофен після 40-денного введення левоноргестрелу та етинілестрадіолу, n=6	ацетамінофен після 40-денного введення левоноргестрелу, етиніл- естрадіолу та одноденного введення тіотриазоліну, n=6
ТБК-активні продукти сироватки, мкмоль/л	7,55±0,36	16,08±0,81 $p_1 < 0,001$	8,93±0,68 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,001$
ТБК-активні продукти печінки, мкмоль/кг	15,92±3,33	28,03±3,78 $p_1 < 0,05$	17,25±3,63 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$
ДК сироватки, $\times 10^3$ ум. од./л	1,11±0,03	4,43±0,51 $p_1 < 0,001$	1,94±0,23 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,001$
ДК печінки, $\times 10^3$ ум. од./кг	6,24±0,24	17,67±1,48 $p_1 < 0,001$	9,44±1,31 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,01$
ТК сироватки, $\times 10^3$ ум. од./л	0,61±0,01	4,16±0,8 $p_1 < 0,01$	1,69±0,34 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,001$
ТК печінки, $\times 10^3$ ум. од./кг	3,75±0,09	8,27±0,87 $p_1 < 0,001$	4,62±0,83 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$
ЦП, мг/л	251,92±2,68	103,33±2,01 $p_1 < 0,001$	221,9±5,57 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,001$
КТ сироватки, мкат/л	0,19±0,01	0,96±0,05 $p_1 < 0,001$	0,45±0,02 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
КТ печінки, мкат/кг	58,79±2,38	19,76±0,82 $p_1 < 0,001$	58,38±2,14 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,001$
ПАК, мкмоль/л	282,6±6,32	615,0±18,9 $p_1 < 0,001$	386,95±17,06 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
СОД сироватки, ум. од./л	1,24±0,02	0,36±0,04 $p_1 < 0,001$	0,96±0,31 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$
СОД печінки, ум. од./кг	4,27±0,07	1,26±0,19 $p_1 < 0,001$	3,83±0,52 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,01$
АсАТ, ммоль/(л×год)	0,36±0,09	1,92±0,38 $p_1 < 0,01$	0,86±0,15 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
АлАТ, ммоль/(л×год)	0,58±0,11	3,18±0,65 $p_1 < 0,02$	1,46±0,28 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
ГП, ммоль/(хв×кг)	0,241±0,01	0,066±0,007 $p_1 < 0,001$	0,2±0,02 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,001$
ГР, ммоль/(хв×кг)	77,44±3,4	26,54±2,18 $p_1 < 0,001$	63,14±2,75 $p_1 < 0,02$ $p_2 < 0,001$
ВГ, ммоль/кг	4,27±0,04	1,48±0,28 $p_1 < 0,001$	3,36±0,27 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,02$

Примітка. Тут і в наступній таблиці: p_1 – різниця достовірна відносно інтактних тварин; p_2 – різниця достовірна відносно тварин, уражених ацетамінофеном після 40-денного введення левоноргестрелу та етинілестрадіолу.

рин 3-ї групи показник зріс у 2,4 раза і становив 82 % від норми. Відновлений глутатіон зменшився у 2-й групі на 34,6 %, а в 3-й групі, яка містила коригувальний чинник, дещо нормалізувався і становив 78,7 % від рівня інтактних тварин.

У тварин другої серії, яким вводили комбіновані контрацептиви та ацетамінофен у максимальній терапевтичній дозі й тіотриазолін протягом 7 діб, нами відмічено достовірне збільшення вмісту ДК і ТК (табл. 2). Дані показники становили у плазмі крові 287,4 і

Таблиця 2 – Активність процесів ліпідної пероксидації і стан антиоксидантної системи в щурів-самок за дії ацетамінофену при його введенні у дозі 55 мг/кг протягом 7 діб після тривалого застосування естрогенів і прогестинів та корекції тіотриазоліном ($M \pm m$)

Показник	Група тварин		
	контроль, n=6	ацетамінофен після 40-денного введення левоноргестрелу та етинілестрадіолу, n=6	ацетамінофен після 40-денного введення левоноргестрелу, етинілестрадіолу та 7-денного введення тіотриазоліну, n=6
ТБК-активні продукти сироватки, мкмоль/л	7,55±0,36	11,47±0,74 $p_1 < 0,01$	7,64±0,74 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,02$
ТБК-активні продукти печінки, мкмоль/кг	15,92±3,33	39,00±2,71 $p_1 < 0,001$	16,7±2,01 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,001$
ДК сироватки, $\times 10^3$ ум. од./л	1,11±0,03	3,19±0,64 $p_1 < 0,02$	1,69±0,37 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$
ДК печінки, $\times 10^3$ ум. од./кг	6,24±0,24	10,76±0,96 $p_1 < 0,01$	7,49±0,91 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$
ТК сироватки, $\times 10^3$ ум. од./л	0,61±0,01	2,73±0,70 $p_1 < 0,02$	1,04±0,08 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$
ТК печінки, $\times 10^3$ ум. од./кг	3,75±0,09	5,29±0,63 $p_1 < 0,05$	4,25±0,54 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$
ЦП, мг/л	251,92±2,68	136,93±1,76 $p_1 < 0,001$	174,86±5,65 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
КТ сироватки, мкат/л	0,19±0,01	0,79±0,03 $p_1 < 0,001$	0,38±0,02 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
КТ печінки, мкат/кг	58,79±2,38	26,63±1,07 $p_1 < 0,001$	58,16±2,20 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,001$
ПАК, мкмоль/л	282,6±6,32	512,5±2,19 $p_1 < 0,001$	316,59±14,54 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$
СОД сироватки, ум. од./л	1,24±0,02	0,64±0,09 $p_1 < 0,001$	1,18±0,24 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$
СОД печінки, ум. од./кг	4,27±0,07	2,16±0,34 $p_1 < 0,001$	4,12±0,40 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,01$
АсАТ, ммоль/(л×год)	0,36±0,09	1,36±0,21 $p_1 < 0,01$	0,42±0,12 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,01$
АлАТ, ммоль/(л×год)	0,58±0,11	2,16±0,55 $p_1 < 0,05$	0,81±0,05 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$
ГП, ммоль/(хв×кг)	0,241±0,01	0,132±0,01 $p_1 < 0,001$	0,22±0,02 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,01$
ГР, ммоль/(хв×кг)	77,44±3,4	48,26±0,53 $p_1 < 0,001$	71,27±3,38 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,001$
ВГ, ммоль/кг	4,27±0,04	3,11±0,15 $p_1 < 0,001$	3,72±0,44 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$

447,5 % відносно контрольної групи тварин, а в печінці – 172,4 і 141,0 % відповідно. Також збільшувався вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові та печінці на 151,8 і 245,1 % протягом всього експерименту. Корекція тіотриазоліном призвела до достовірного зниження інтенсивності ліпідної пероксидації у тварин, уражених ацетамінофеном після 40-денного введення естрогенів і прогестинів. Так, концентрація ДК знизилась у плазмі крові на 152,3 %, у печінці – на 120,0 % порівняно зі щурами 2-ї групи, ТК – на 171,3 та 113,3 %, ТБК-активних продуктів – на 101,2 та 104,9 % відповідно.

Активність СОД у сироватці крові та печінці за дії ацетамінофену на фоні естрогенів та прогестинів знизилась на 48,4 %, у гомогенаті печінки – на 49 % відносно здорових тварин. Корекція тіотриазоліном супроводжувалась зростанням супероксиддисмутазної активності сироватки крові, відповідно, на 84,3 %, а печінки – на 90,7 % від рівня уражених щурів, причому показник достовірно не відрізнявся від рівня інтактних тварин. Аналогічна тенденція спостерігалась і стосовно церулоплазміну, вміст якого знижувався у 2-й групі на 46 % від норми, а в 3-й цей показник становив 31 % (табл. 2).

У щурів 2-ї групи спостерігали достовірне підвищення активності каталази в сироватці крові у 3,9 раза, тоді як корекція тіотриазоліном спричинила зростання цього показника у 2 рази. У печінці результати були прямо протилежними: каталазна активність знижувалась у тварин 2-ї групи на 55,8 %, а в 3-й групі досягла рівня інтактних тварин.

Після введення ацетамінофену у вищій терапевтичній дозі протягом 7 діб на фоні комбінованих контрацептивів у піддослідних тварин 2-ї групи активність ферменту АсАТ підвищилась у 3,77 раза, тоді як у 3-й групі під впливом тіотриазоліну активність даного ферменту зросла на 116 %. Активність АлАТ сироватки крові в 2-й групі під дією ацетамінофену зросла у 3,72 раза, а у 3-й експериментальній групі тварин підвищилась на 139 %. Значного збільшення зазнала у тварин 2-ї групи пероксидазна активність крові – в 1,8 раза, тоді як у щурів 3-ї групи зростання становило 112 %.

За дії ацетамінофену у вищій терапевтичній дозі протягом 7 діб на фоні 40-денного введення комбінованих контрацептивів спостерігалось пригнічення глутатіонової ланки антиоксидантного захисту. Активність ГП становила 54,7 % від рівня здорових тварин, ГР – 62,4 %, а концентрація ВГ – 72,8 % від норми. Застосування тіотриазоліну мало протекторний вплив на досліджувані показники: активність ГП становила 91,6 %, ГР – 92,1 % від рівня інтактних тварин, а концентрація ВГ – 87,1 %, що може бути наслідком зв'язування реактивних метаболітів ацетамінофену з вільними сульфгідрильними групами тіотриазоліну, що зберігало резерв відновленого глутатіону.

ВИСНОВОК. Використання тіотриазоліну у тварин з токсичним ураженням ацетамінофеном після тривалого введення естрогенів і прогестинів супроводжується зниженням інтенсивності процесів вільнорадикального окиснення ліпідів, поліпшенням стану ферментної і неферментної ланок антиоксидантної системи.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Владимиров Ю. А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков. – М. : Медицина, 1972. – 252 с.
2. Горячковский А. М. Справочное пособие по клинической биохимии / А. М. Горячковский. – Одесса : ОКФа, 1994. – 415 с.
3. Дейнеко Н. Ф. Диагностика и лечение заболеваний органов пищеварения в клинике внутренних болезней / Н. Ф. Дейнеко, Н. И. Яблчанский, О. Я. Бабак. – Харьков : Основа, 1991. – С. 126–172.
4. Дроговоз С. М. Новые гепатопротекторы: тиотриазолин и антраль / С. М. Дроговоз // Харьковской мед. журн. – 1995. – № 3–4. – С. 82–83.
5. Кожем'якін Ю. М. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філопенко. – К. : Авіцена, 2002. – 156 с.

6. Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – М. : Минск, 1982. – 311 с.
7. Колесова О. Е. Пероксидное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах / О. Е. Колесова, А. А. Маркин, Т. Н. Федорова // Лаб. дело. – 1984. – № 9. – С. 540–546.
8. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–18.
9. Кругликова Г. О. Глутатіонпероксидазна та

глутатіонредуктазна активність печінки щурів після введення селеніту натрію / Г. О. Кругликова, Ц. М. Штутман // Укр. біохім. журн. – 1976. – 48, № 2. – С. 227–233.

10. Попов Т. Метод определения пероксидазной активности крови / Т. Попов, Л. Нейковска // Гигиена и санитария. – 1971. – № 10. – С. 89–93.

11. Сальникова С. И. Оптимизация поиска и создание синтетических гепатопротекторов в ряду производных триазола, везноксазола, глюкозамина и антрахинон-сукцинамидовых кислот : автореф. дисс. на соискание учёной степени д-ра биол. наук. – Купава, 1993. – 46 с.

12. Сальникова С. И. Сравнительное изучение

гепатозащитных средств холосаса, фламина, силибора / С. И. Сальникова, В. В. Слышков // Фарм. и токсик. : республ. межвед. сб. – К., 1990. – С. 60–63.

13. Сахарова Т. С. Поиск и фармакологическое изучение гепатозащитных средств в ряду металлокомплексов производных N-фенилантрацилиновых кислот : автореф. дисс. на соискание учёной степени канд. фармац. наук. – М., 1989. – 27 с.

14. Чевари С. Роль супероксидредуктазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.

15. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. – № 82. – P. 70–77.

И. Б. Ивануса

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ВЛИЯНИЕ ТИОТРИАЗОЛИНА НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ, СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ И ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У КРЫС С ТОКСИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ АЦЕТАМИНОФЕНОМ НА ФОНЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ЭСТРОГЕНОВ И ПРОГЕСТИНОВ

Резюме

Исследовано влияние тиотриазолина на активность процессов липидной пероксидации, показатели антиоксидантной системы и состояние эндогенной интоксикации у крыс в условиях токсического действия ацетаминофена на фоне длительного введения эстрогенов и прогестиннов. Установлено, что тиотриазолин уменьшает прогрессирование патологического процесса, что проявляется снижением интенсивности процессов свободнорадикального окисления, улучшением состояния ферментного и неферментного звеньев антиоксидантной системы, снижением проявлений эндогенной интоксикации.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ацетаминофен, тиотриазолин, пероксидное окисление липидов, антиоксидантная система, гепатотоксичность, эстрогены, прогестины.

I. B. Ivanusa

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

EFFECT OF THIOTRIAZOLINE ON SOME PARAMETERS OF ANTIOXIDANT SYSTEM, FREE RADICAL OXIDATION AND ENDOGENOUS INTOXICATION IN RATS WITH TOXIC AFFECTION BY ACETAMINOPHEN ON THE BACKGROUND OF LONG-TERM ESTROGEN AND PROGESTIN INTRODUCTION

Summary

There was studied the effect of thiotriazoline on the activity processes of lipid peroxidation, antioxidant system parameters and state of endogenous intoxication in rats under the toxic effect of acetaminophen on the background of long-term introduction of estrogen and progestin. It was found that thiotriazoline reduces the progression of the pathological process that is manifested by reduced intensity of free radical oxidation, enhancement of enzyme and non-enzyme links of antioxidant system, decrease of manifestations of endogenous intoxication.

KEY WORDS: acetaminophen, thiotriazoline, lipid peroxidation, antioxidant system, hepatotoxicity, estrogens, progestins.

Отримано 12.09.11

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

PASS-СКРИНІНГ МОЖЛИВИХ ВИДІВ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ
ПОХІДНИХ 2-(4Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ІЛТІО)АЦЕТАЛЬДЕГІДУ

Проведено прогнозування можливого спектра біологічної активності за допомогою комп'ютерної програми PASS[®]. Встановлено деякі закономірності між даними комп'ютерного прогнозування та будовою молекул синтезованих сполук.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: 1,2,4-тріазол, PASS-скринінг, біологічна активність, закономірність "будова-дія".

ВСТУП. Сучасна фармацевтична галузь потребує створення нового та ефективного арсеналу лікарських засобів. Вирішити це завдання здатен цілеспрямований органічний синтез нових біологічно активних речовин. Серед величезної кількості синтезованих сполук особливе місце займають азотовмісні гетероциклічні системи, зокрема похідні 1,2,4-тріазол-3-тіону. З літературних джерел [1–4, 6, 7] відомо, що похідні 1,2,4-тріазол-3-тіону володіють надзвичайно широким спектром біологічної активності. На жаль, експериментально дослідити кожен вид біологічної активності практично неможливо [8]. Тому для досягнення очікуваного результату в процесі створення нових ліків є доцільним застосування методів комп'ютерного прогнозування біологічної активності.

Метою даного дослідження було прогнозування можливого спектра біологічної активності за допомогою комп'ютерної програми PASS[®] та встановлення закономірностей між даними комп'ютерного прогнозування і будовою молекул синтезованих сполук.

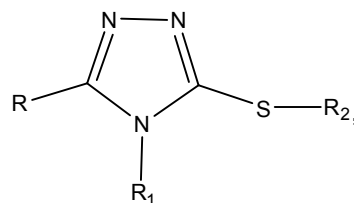
МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. В якості програми для комп'ютерного прогнозування біологічної активності нами була використана система PASS[®] (Prediction of Activity Spectra for Substances). Хімічні структури сполук вводили за допомогою комп'ютерної програми ChemBioOffice 2010 (утиліта ChemBioDraw Ultra 12.0) у вигляді файлу з розширенням .mol та завантажували на офіційний сайт прогнозування спектра біологічної активності, розташований

© Р. О. Щербина, О. І. Панасенко, Є. Г. Книш, 2011.

за адресою: <http://195.178.207.233/PASS/predict.php>.

При проведенні прогнозування враховували дані вірогідності прояву активності **Pa** (Possible activities). Дані активностей сполуки, які, за результатами прогнозування, мали показник **Pa** менше 70 %, було виключено з результату дослідження.

Синтезовані сполуки являють собою тіопохідні 1,2,4-тріазолу: 2-(4-R₁-5-R-4Н-1,2,4-тріазол-3-ілтїо)ацетальдегіди, 2-R-5,6-дигідротіазоло[3,2-b][1,2,4]тріазол-6-іл ацетати, 1,2-біс(2-(3-R-4-R₁-1Н-1,2,4-тріазол-5-ілтїо)етилїден)гідразини, гідразиди, семікарбазиди, тіосемікарбазиди 2-(4-R₁-5-R-4Н-1,2,4-тріазол-3-ілтїо)ацетальдегідів, 2-R-тіазоло[3,2-b][1,2,4]тріазоли, 2-(4-R₁-5-R-4Н-1,2,4-тріазол-3-ілтїо)етаноли, естери 2-(4-R₁-5-R-4Н-1,2,4-тріазол-3-ілтїо)етанолів та 3(2-хлоретилтіо)-4-R₁-5-R-4Н-1,2,4-тріазоли [9, 10]. Загальну формулу сполук наведено на рисунку 1.



де R-H, CH₃, C₆H₅; R₁-H, CH₃, C₆H₅; R₂-CH₂-COH; Het-O-C(O)CH₃; -CH₂-CH=N-N=CH-CH₂-C₂N₂-4-R-5-R₁; -CH₂-CH=N-N-H₂, Alk, Ar; -CH₂-CH=N-N-C(O)-H, Alk, Ar, Het; -CH₂-CH=N-N-C(O)-NH-H, Alk, Ar; -CH₂-CH=N-N-C(S)-NH-H, Alk; Het, -CH₂-CH₂-OH; -CH₂-CH₂-O-Alk, Ar; -CH₂-CH₂-O-C(O)-Alk, Ar; -CH₂-CH₂-Cl.

Рис. 1. Похідні 2-(4Н-1,2,4-тріазол-3-ілтїо)ацетальдегіду, для яких проводили PASS-скринінг.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Синтез 2-(4-R₁-5-R-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетальдегідів та їх похідних здійснено нами за відомими методиками [1, 3, 9, 10]. З літературних джерел [1, 2, 6, 7] відомо, що характер і сила біологічної активності S-похідних 4-R₁-5-R-1,2,4-тріазолу залежать від природи як замісників по N₄- та C₅-положеннях 1,2,4-тріазолового циклу, так і замісників, що безпосередньо пов'язані з атомом сірки по C₃-положенню.

Беручи до уваги те, що карбонільна група вихідних альдегідів є надзвичайно реакційноздатною [9, 10], цікаво було прослідкувати їх можливу біологічну дію. Комп'ютерний скринінг показав, що введення метильного радикала в C₅-положення 1,2,4-тріазолового циклу призводить до появи протиревматичної дії. Відсутність метильного радикала або його заміна на фенільний спричиняє зниження прояву біологічної дії. Перехід до 2-(4,5-дифеніл-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетальдегіду також негативно впливає на фармакологічну дію, а введення в N₄-положення метильного радикала призводить до появи антиішемічної дії зі значенням **Pa** 74,6 %. Циклізація вищевказаних альдегідів та ацилювання OH-таутомерної форми не викликають появу високих показників імовірної біологічної дії.

Гідразиди кислот, а також гідразони відомі своєю протимікробною дією [1, 3, 5, 11, 12]. Тому нами був вивчений цей клас отриманих сполук за допомогою PASS-скринінгу. Однак серед конденсованих 2-(4-R₁-5-R-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетальдегідів з гідрат гідразином, фенілгідразином та 2,4-динітрофенілгідразином вірогідність прояву протимікробної дії не перевищує 68 %. Натомість 4-метил-3-феніл-5-(2-(2-фенілгідразо)етилтіо)-4H-1,2,4-тріазол проявляє виражену протиепілептичну дію. Перехід до 4-(2-(2-(4-R₁-5-R-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)етиліден)гідразиніл)бензойних кислот супроводжується підвищенням протитуберкульозної дії, а введення фенільних радикалів у N₄- та C₅-положення 1,2,4-тріазолу проявляє максимально високий показник серед вищевказаних гідразонів (**Pa** 70,4 % відповідно).

Слід відзначити, що похідні 5-нітрофуранів давно застосовують як протимікробні препарати [5]. Отже, конденсування 3-(2-гідразиноетилтіо)-4-R₁-5-R-4H-1,2,4-тріазолів з 5-нітрофуральдегідом може призвести до появи вираженої протимікробної дії. Спираючись на дані комп'ютерного прогнозування, можна констатувати, що ці похідні мають протитуберкульозну дію на рівні **Pa** 87 %. Заміна радикалів при N₄- та C₅-атомах 1,2,4-тріазолового циклу неоднозначно впливає на вираження цієї дії.

Зіставивши дані комп'ютерного прогнозування біологічної активності гідразидів відповідних 2-(4-R₁-5-R-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетальдегідів, можна зробити висновок, що всі речовини цього ряду мають досить яскраво виражену протитуберкульозну дію. Слід зазначити, що введення в молекулу залишку гідразиду 4-піридинкарбонової кислоти призводить до прояву максимальної вірогідності протитуберкульозної дії на рівні 87,6 %. Натомість заміна фенільних радикалів на метильні при N₄- та C₅-атомах 1,2,4-тріазолового циклу викликає зниження імовірності вищевказаної дії. Введення бромів в C₅-положення 2-гідроксифенільного радикала призводить до незначного підвищення протимікробної дії відносно мікобактерій. Цікаво відзначити, що перехід від мета- до параположень нітрогрупи по фенільному заміснику практично не впливає на інтенсивність протитуберкульозної дії. Конденсування 2-(4-R₁-5-R-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетальдегідів з гідразидом оцтової кислоти призводить до значного зниження антимікобактеріальної дії до рівня 57 %, натомість гідразид бензойної кислоти підвищує цю імовірність до 76,5 %.

Досить перспективними [12] для пошуку потенційних біологічно активних сполук є семікарбазони та тіосемікарбазони 2-(4-R₁-5-R-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетальдегідів. Тому ми вважали за доцільне конденсувати вихідні альдегіди із семікарбазидом, тіосемікарбазидом, фенілсемікарбазидом для отримання відповідних похідних. Спираючись на результати комп'ютерного скринінгу, можна зазначити таке. У випадку з тіосемікарбазонами зростання протитуберкульозної активності спостерігається при заміні метильних радикалів, що знаходяться при N₄- та C₅-атомах 1,2,4-тріазолового циклу, на фенільні (**Pa** від 71,1 до 88,3 %). Також прогноз виявляє протипухлинну дію, сила якої зі збільшенням протитуберкульозної активності, навпаки, зменшується. Перехід до семікарбазидів та фенілсемікарбазидів 2-(4-R₁-5-R-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетальдегідів супроводжується зниженням вірогідності протитуберкульозної дії до 36,6 %. Слід відзначити, що, на відміну від тіосемікарбазидів, семікарбазиди та фенілсемікарбазиди 2-(4-R₁-5-R-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетальдегідів не проявляють протипухлинної дії.

З теоретичної точки зору, цікаво було вивчити спектр біологічної активності похідних 2-(4-R₁-5-R-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)етанолів, які було отримано шляхом відновлення відповідних 2-(4-R₁-5-R-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетальдегідів. На жаль, PASS-скринінг показав, що

дані сполуки здатні пригнічувати кровотворну функцію зі значенням **Pa** 85,9 %, що, можливо, ставить під сумнів доцільність їх подальшого дослідження. Перехід до 3-(2-хлоретилтіо)-4- R_1 -5- R -4H-1,2,4-тріазолів супроводжується посиленням вищевказаної дії та проявами вираженої протипухлинної дії в інтервалах **Pa** 70,3–94,6 %. На силу протипухлинної дії впливає відсутність замісників по C_4 - та C_5 - атомах 1,2,4-тріазолу.

З літературних джерел [1, 4] відомо, що естери володіють протизапальною, діуретичною, протимікробною та іншими видами біологічної активності. Цікаво було прослідкувати вірогідність прояву біологічної активності у нових сполук. З цією метою ми синтезували прості та складні естери 2-(4- R_1 -5- R -4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)етанолів. Аналізуючи отримані результати, встановили, що естери проявляють широкий спектр біологічної активності. Вони повинні мати протипухлинну, гіполіпідемічну, анальгетичну дії, можуть бути використані при лікуванні атеросклерозу та виразок, асоційованих із *Helicobacter pylori*. Стосовно простих естерів, слід зазначити, що подовжен-

ня вуглеводневого ланцюга естерної групи призводить до зниження вірогідностей прояву вищевказаних фармакологічних дій. Прогнозування можливої біологічної дії складних естерів не дозволяє виділити досить чіткої залежності активності відносно їх структури. Та, все ж таки, можна зазначити, що присутність метильної групи при N_4 -атомі 1,2,4-тріазолу дещо підвищує протипухлинну та противиразкову дії, хоча ці дії є досить неоднозначними. Перехід від алкільних замісників до арильних не дає змоги чітко прослідкувати вірогідність прояву можливої біологічної дії.

ВИСНОВКИ. За допомогою комп'ютерної програми PASS® (Prediction of Activity Spectra for Substances) нами був проведений скринінг 89 сполук, синтезованих на кафедрі токсикологічної та неорганічної хімії Запорізького державного медичного університету в лабораторії органічного синтезу біологічно активних речовин. За результатами комп'ютерного прогнозування встановлено деякі закономірності між передбачуваними видами біологічної активності і будовою молекул похідних 2-(4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетальдегіду.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гоцуля А. С. Синтез, перетворення, фізико-хімічні та біологічні властивості S-заміщених 4-(2-метоксифеніл)-5-алкіл(арил)-2H-1,2,4-тріазол-3(4H)-тіонів : дис. ... канд. фармацевт. наук / А. С. Гоцуля. – Запоріжжя, 2011. – 230 с.
2. Каплаушенко А. Г. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості S-похідних 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів : дис. ... канд. фармацевт. наук / А. Г. Каплаушенко. – К., 2006. – 201 с.
3. Кныш Е. Г. Синтез, физико-химические и биологические свойства N- и S-замещенных 1,2,4-триазола : дис. ... доктора фармацевт. наук / Е. Г. Кныш. – Х., 1987. – 350 с.
4. Маковик Ю. В. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості S-похідних 5-(3-піридил)- та 5-(3-піридил)-4-феніл-1,2,4-тріазоліл-3-тіона : дис. ... канд. фармацевт. наук / Ю. В. Маковик. – К., 2008. – 223 с.
5. Машковский М. Д. Лекарственные средства : в 2 т. / М. Д. Машковский. – М. : Новая волна, 2002. – 1150 с.
6. Панасенко О. І. Синтез, перетворення, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних 1,2,4-тріазолу : дис. ... доктора фармацевт. наук / О. І. Панасенко. – К., 2005. – 396 с.
7. Парченко В. В. Синтез, фізико-хімічні та біо-

- логічні властивості 1,2,4-тріазол-3-тіонів, що містять ядро фурану : дис. ... канд. фармацевт. наук / В. В. Парченко. – К., 2006. – 209 с.
8. Стефанов О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / О. В. Стефанов. – К. : Авіцена, 2002. – 527 с.
9. Щербина Р. О. Синтез ряду гідразонів, бензиліденгідразонів та гідразинокарботіоамідів 2-(5-R-1H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо) ацетальдегіду / Р. О. Щербина, О. І. Панасенко, Є. Г. Книш // Фармац. журн. – 2010. – № 4. – С. 75–79.
10. Щербина Р. О. Синтез та фізико-хімічні властивості в ряду іліденгідрозидів 2-(5-R-1H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)-ацетальдегіду / Р. О. Щербина, О. І. Панасенко, Є. Г. Книш // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – Запоріжжя, 2010. – Вип. 23. – С. 86–88.
11. Havaladar F. H. Synthesis of 1,2,4-Triazole Derivatives and their Biological Activity / F. H. Havaladar, A. R. Patil // E-Journal of Chemistry. – 2008. – 2. – P. 347–354.
12. Synthesis, determination of the lipophilicity, anticancer and antimicrobial properties of some fused 1,2,4-triazole derivatives / K. Sztanke, T. Tuzimski, J. Rzymowska [et al.] // Eur. J. Med. Chem. – 2008. – 43(2). – P. 404–419.

PASS-СКРИНИНГ ВОЗМОЖНЫХ ВИДОВ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ 2-(4Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ИЛТИО) АЦЕТАЛЬДЕГИДА

Резюме

Проведено прогнозирование вероятного спектра биологической активности с помощью компьютерной программы PASS®. Установлены некоторые закономерности между данными компьютерного прогнозирования и строением молекул синтезированных соединений.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **1,2,4-триазол, PASS-скрининг, биологическая активность, закономерность “структура–действие”.**

R. O. Shcherbyna, O. I. Panasenko, Ye. H. Knysh
ZAPORIZHIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

PASS-SCREENING OF POSSIBLE BIOLOGICAL ACTIVITY OF DERIVATES 2-(4H-1,2,4-TRIAZOLE-3-YLTHIO)ACETALDEHYDE

Summary

The predicting of possible spectrum of the biological activity by using a computer program PASS® has been conducted. Some dependence between the computer predictions and molecular structure of the synthesized compounds has been established.

KEY WORDS: **1,2,4-triazole, PASS-screening, biological activity, regularity “structure–action”.**

Отримано 17.06.11

Адреса для листування: Р. О. Щербина, Запорізький державний медичний університет, просп. Маяковського, 26, Запоріжжя, 69035, Україна.

ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД ЛІПІДІВ ПЕЧІНКИ ЗА УМОВ ГОСТРОГО АРГІНІНОВОГО ПАНКРЕАТИТУ В ЩУРІВ

У результаті проведених досліджень встановлено динаміку змін відносного вмісту суми й окремих насичених (НЖК), моно- і поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) загальних ліпідів печінки білих щурів при гострому ураженні L-аргініном підшлункової залози. Встановлено, що ураження печінки панкреатотоксинами супроводжується значними порушеннями жирнокислотного складу загальних ліпідів гепатоцитів, які проявляються збільшенням відносного вмісту НЖК та зменшенням ПНЖК. Експериментально доведено, що введення БАД "Альфа+омега" впродовж 7 днів білим щурам із гострим L-аргініновим панкреатитом призводило до нормалізації жирнокислотного профілю загальних ліпідів у печінці вже через 3 доби.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: жирні кислоти, печінка, панкреатит, L-аргінін, щури.

ВСТУП. Гострий панкреатит досить часто супроводжується вторинним ураженням інших органів – печінки, легень, серця, нирок, кишечника [3, 4, 7]. При цьому гепатоцити, порівняно з клітинами інших вказаних органів, з одного боку, більш захищені через добре розвинену систему детоксикації та антиоксидантного захисту, проте з іншого – частіше уражаються, оскільки при панкреатогенній токсемії велика кількість активованих панкреатичних і лізосомальних ферментів, токсичних продуктів розпаду паренхіми підшлункової залози потрапляє в печінку через порталну і лімфатичну системи, викликаючи метаболічні зміни, порушення мікроструктури та функції органа в цілому [11, 12]. Оскільки печінка є одним з основних і найактивніших органів щодо метаболічних перетворень ліпідів [19], то очевидними за вказаних вище обставин будуть і порушення ліпідного та жирнокислотного профілів у гепатоцитах. Відомо, що жирні кислоти, особливо ненасичені різних родин (ω -3, ω -6, ω -9), є обов'язковими есенціальними елементами структурно-функціонального стану мембранних структур клітин та попередниками ряду біологічно активних речовин [5, 19]. Попри значну кількість експериментальних та клінічних досліджень морфофункціонального стану печінки при гострому ураженні підшлункової залози характер змін її жирнокислотного складу в динаміці розвитку патології висвітлено недостатньо [15, 17, 19].

© І. Б. Привроцька, О. С. Покотило, 2011.

Проведені за останні роки дослідження показують, що парентеральна терапія гострих панкреатитів з використанням омега-3 жирних кислот призводила до поліпшення гістопатологічних та біохімічних показників хвороби шляхом інгібування синтезу простагландинів (E_2 і $F_1\alpha$) і зниження процесів перекисного окиснення ліпідів [15]. Відоме на сьогодні терапевтичне обґрунтування застосування омега-3 ПНЖК пов'язане з механізмом їх впливу на стан системи ейкозаноїдів [5, 14]. Слід зазначити, що омега-3 ПНЖК є попередниками переважно ейкозаноїдів та інших біологічно активних речовин, які мають протизапальну дію [15, 19]. Тому актуальним залишається питання прискорення регресу патологічних змін печінки і поліпшення біохімічних показників шляхом задавання гепатопротекторних препаратів, які містять есенціальні жирні кислоти.

Метою даного дослідження було з'ясувати особливості жирнокислотного профілю загальних ліпідів тканин печінки білих щурів у динаміці розвитку гострого ураження L-аргініном підшлункової залози та вивчити можливість впливу біологічно активної добавки "Альфа+омега" (БАД " $\alpha+\omega$ ") [9] на цей профіль.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили у Центральній науково-дослідній лабораторії Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського на статевозрілих безпородних білих щурах-сам-

цях, яких було поділено на 7 груп по 10 тварин у кожній: 1-ша – контрольна; 2-га, 4-та, 6-та – тварини з гострим L-аргініновим панкреатитом (ГАП), яких виводили з експерименту, відповідно, через 1, 3 і 7 діб після моделювання патології; 3-тя, 5-та, 7-ма – тварини з ГАП, яким вводили БАД “ $\alpha+\omega$ ” впродовж 1, 3 і 7 діб після моделювання патології та яких, відповідно, виводили з експерименту. Тваринам 1-ї групи одноразово інтраперитонеально вводили по 2 мл ізотонічного розчину натрію хлориду, тваринам 2–7 груп – одноразово інтраперитонеально L-аргінін у дозі 4 г/кг у 2 мл фізрозчину [1], тваринам 3-ї, 5-ї, 7-ї груп – внутрішньошлунково БАД “ $\alpha+\omega$ ” у дозі 0,5 мл/кг [9] через годину після моделювання патології. Щурів виводили з експерименту в умовах тіопентал-натрієвого наркозу.

Наприкінці досліду щурів декапітували під тіопенталовим наркозом і брали для досліджень зразки печінки. Ліпіди з гомогенату печінки тварин екстрагували сумішшю хлороформ-метанолу у співвідношенні 2:1 за методом Фолча [16]. Метилування жирних кислот проводили за методикою [13]. Жирнокислотний склад визначали методом газорідної хроматографії на газовому хроматографі Hewlett Packard HP-6890 з полум'яно-іонізаційним детектором, який обладнаний капілярною колонкою SP-2380 довжиною 100 м (Supelco). Для ідентифікації хроматографічних піків та обрахунку хроматограм застосовували стандарти метилових ефірів жирних кис-

лот (Supelco). Усі досліди на щурах проводили згідно з Правилами використання лабораторних експериментальних тварин [8]. Статистичну обробку результатів досліджень проводили, використовуючи t-критерій Стьюдента [6], за допомогою програми Excell.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналіз вмісту метилових ефірів жирних кислот, які отримано із загальних ліпідів гомогенату тканин печінки контрольних та дослідних щурів, показав наявність 40 компонентів з довжиною вуглецевого ланцюга від C_{10} до C_{24} . У таблиці 1 наведено основні жирні кислоти та їх відносний вміст у загальних ліпідах тканин печінки статевозрілих білих щурів-самців. Мінорні компоненти, вміст яких не перевищував 0,5 %, сюди не внесено, оскільки їх роль у загальному метаболізмі жирних кислот не істотна. Основними жирними кислотами загальних ліпідів тканин печінки тварин, вміст яких домінував, були пальмітинова ($C_{16:0}$), стеаринова ($C_{18:0}$) серед насичених, олеїнова ($C_{18:1\omega-9}$) серед мононенасичених (МНЖК), арахідонова ($C_{20:4\omega-6}$), лінолева ($C_{18:2\omega-6}$) серед поліненасичених (ПНЖК). У більш низьких концентраціях перебували ліноленова ($C_{18:3\omega-3}$), ейкозапентаєнова (ЕПК) ($C_{22:5\omega-3}$) та докозагексаєнова (ДГК) ($C_{22:6\omega-3}$) кислоти.

Як свідчать отримані нами результати (табл. 1), моделювання ГАП супроводжувалось достовірними змінами відносного вмісту жирних кислот загальних ліпідів тканин печінки

Таблиця 1 – Вміст жирних кислот загальних ліпідів (% від загальної кількості жирних кислот) у тканинах печінки щурів за гострого аргінінового панкреатиту та в разі введення БАД “ $\alpha+\omega$ ” (%), $M\pm m$, $n=10$)

Код жирної кислоти	Група тварин						
	1-ша контроль	2-га через 1 добу		4-та через 3 доби		6-та через 7 діб	
		ГАП	ГАП+“ $\alpha+\omega$ ”	ГАП	ГАП+“ $\alpha+\omega$ ”	ГАП	ГАП+“ $\alpha+\omega$ ”
$C_{14:0}$	0,9±0,1	1,2±0,1*	1,0±0,1	1,3±0,1*	1,0±0,1	1,1±0,1	1,0±0,1
$C_{16:0}$	21,8±1,5	25,3±1,7	23,1±1,6	24,8±1,2*	21,7±1,4#	23,8±1,3	21,9±1,7
$C_{17:0}$	1,2±0,1	1,6±0,2*	1,4±0,1	1,8±0,2*	1,3±0,1#	1,5±0,1*	1,1±0,1#
$C_{18:0}$	16,1±1,4	20,4±1,2*	19,4±1,5	21,7±1,8*	18,0±1,1#	19,7±1,5*	17,4±1,4
$C_{18:1\omega-9}$	15,3±1,3	12,3±1,4*	13,9±1,1	11,3±0,8*	15,2±1,2#	12,9±1,6	15,0±1,2#
$C_{18:2\omega-6}$	19,4±1,6	16,1±1,3*	17,6±1,4	15,2±1,6*	18,9±1,7#	17,5±1,4	18,5±1,2
$C_{18:3\omega-3}$	2,7±0,2	2,0±0,2*	2,4±0,1	1,7±0,1*	2,8±0,2#	1,6±0,2*	2,8±0,1#
$C_{20:4\omega-6}$	15,8±1,4	16,4±1,6	15,3±1,2	18,3±1,5*	14,8±1,1#	17,8±1,3	15,4±1,3
$C_{20:5\omega-3}$	1,9±0,1	1,4±0,1*	1,7±0,1	1,2±0,1*	1,8±0,1#	1,3±0,1*	1,8±0,1#
$C_{22:5\omega-3}$	2,3±0,2	1,6±0,1*	2,0±0,1	1,3±0,1*	2,2±0,1#	1,3±0,1*	2,4±0,1#
$C_{22:6\omega-3}$	2,6±0,2	1,7±0,1*	2,2±0,1	1,4±0,1*	2,5±0,1#	1,5±0,1*	2,7±0,1#

Примітка. У цій і наступній таблиці: * – <0,05 вірогідність відмінностей порівняно з 1-ю групою; # – <0,05 вірогідність відмінностей 3-ї групи відносно 2-ї; 5-ї щодо 4-ї; 7-ї щодо 6-ї. $C_{14:0}$ – міристинова; $C_{16:0}$ – пальмітинова; $C_{17:0}$ – маргарінова; $C_{18:0}$ – стеаринова; $C_{18:1\omega-9}$ – олеїнова; $C_{18:2\omega-6}$ – лінолева; $C_{18:3\omega-3}$ – ліноленова; $C_{20:4\omega-6}$ – арахідонова; $C_{20:5\omega-3}$ – ейкозапентаєнова; $C_{22:5\omega-3}$ – докозапентаєнова; $C_{22:6\omega-3}$ – докозагексаєнова кислота.

білих щурів, які були найбільш виражені через 3 доби від початку експерименту. Ці порушення визначалися змінами рівня насиченості загальних ліпідів у тканинах печінки щурів (табл. 2), а саме: збільшенням відносного вмісту суми насичених жирних кислот і зменшенням, відповідно, ненасичених. Так, через 1 добу після моделювання ГАП відносний вміст суми НЖК у тканинах печінки щурів вірогідно збільшувався на 14 %, через 3 доби – на 24 %, а через 7 днів – на 15 % порівняно із тваринами контрольної групи. Сумарний вміст насичених жирних кислот у тканинах печінки щурів збільшувався за рахунок вірогідного зростання перш за все відносного вмісту пальмітинової ($C_{16:0}$) і стеаринової ($C_{18:0}$) кислот, який через 1 добу після моделювання ГАП був більшим, відповідно, на 11 ($p<0,5$) і 21 ($p<0,05$), через 3 доби – на 14 ($p<0,05$) і 35 ($p<0,05$), через 7 днів – на 10 ($p<0,5$) і 22 % ($p<0,05$) порівняно із тваринами контрольної групи.

Згідно з даними літератури [1, 3, 11], при експериментальних моделях гострого панкреатиту відбувається суттєва реакція з боку печінкової паренхіми, яка має фазовий характер. Ця послідовність розвитку ураження печінки включає: 1) активацію печінкової циркуляції на фоні ензимної токсемії з боку підшлункової залози; 2) розвиток запальних, дистрофічних, деструктивних і некротичних змін у печінковій паренхімі поряд з мікроциркуляторними порушеннями на фоні некротичної токсемії з боку підшлункової залози; 3) відновно-адаптаційні або декомпенсаційні процеси у системі мікроциркуляції печінки і печінковій паренхімі залежно від ступеня панкреатогенної токсемії. З огляду на сказане вище та за результатами проведеного нами експерименту, найбільш виражені зміни жирнокислотного складу тканин печінки відбуваються через 3 доби після інтраперитонеального введення L-аргініну, що свідчить про розвиток оксидативного стресу, запальних процесів, які при-

чинно-наслідково пов'язані з первинними і вторинними метаболічними порушеннями ліпідного обміну в печінці.

Введення щурам БАД " $\alpha+\omega$ " після моделювання ГАП спричиняло істотне зменшення відносного вмісту насичених жирних кислот загальних ліпідів тканин печінки: міристинової ($C_{14:0}$), пальмітинової ($C_{16:0}$), маргаринової ($C_{17:0}$) і стеаринової ($C_{18:0}$) та їх сумарного вмісту, ефективність якого зростала з 1-ї до 7-ї доби експерименту. Так, після введення щурам БАД " $\alpha+\omega$ " відносний вміст суми насичених жирних кислот у тканинах печінки через 1 добу після експериментального ГАП вірогідно не змінювався, через 3 доби був меншим на 15 % ($p<0,05$), а через 7 днів – на 11 % ($p<0,05$) порівняно із тваринами з ГАП відповідних термінів, яким не вводили БАД.

Таким чином, аналіз цих і вищенаведених даних свідчить про те, що найбільш виражені зміни відносного вмісту НЖК у тканинах печінки щурів відбуваються через 3 доби після моделювання ГАП. Разом із тим, введення тваринам БАД " $\alpha+\omega$ " впродовж 3-х днів після моделювання ГАП призводило до нормалізації жирнокислотного профілю тканин їх печінки, яку зафіксовано і після 7-ми днів введення.

З наведених у таблицях 1 і 2 даних видно вірогідні зміни відносного вмісту ПНЖК родин $\omega-3$, $\omega-6$ та $\omega-9$ загальних ліпідів тканин печінки щурів, які характеризуються зменшенням їх сумарного вмісту через 1, 3 та 7 днів після моделювання ГАП, відповідно, на 9, 16 та 11 % порівняно із тваринами контрольної групи. Введення БАД " $\alpha+\omega$ " щурам після моделювання ГАП призводило до нормалізації жирнокислотного профілю ПНЖК у тканинах печінки. При цьому найбільших змін зазнавали ПНЖК родини $\omega-3$ загальних ліпідів тканин печінки щурів, відносний вміст суми яких через 1, 3 та 7 днів після моделювання ГАП зменшувався, відповідно, на 29, 41 та 40 % порівняно із тваринами контрольної групи. При введенні БАД " $\alpha+\omega$ " відносний вміст суми ПНЖК родини $\omega-3$

Таблиця 2 – Рівень насиченості жирних кислот загальних ліпідів (% від загальної кількості жирних кислот) у тканинах печінки щурів за гострого аргінінового панкреатиту та в разі введення БАД " $\alpha+\omega$ " (% , $M\pm m$, $n=10$)

Сумарний вміст жирних кислот	Група тварин						
	1-ша	2-га	3-тя	4-та	5-та	6-та	7-ма
	контроль	через 1 добу		через 3 доби		через 7 днів	
		ГАП	ГАП+ " $\alpha+\omega$ "	ГАП	ГАП+ " $\alpha+\omega$ "	ГАП	ГАП+ " $\alpha+\omega$ "
Σ НЖК	40,0 \pm 1,3	48,5 \pm 1,2*	44,9 \pm 1,2*	49,6 \pm 1,4*	42,0 \pm 1,2*	46,1 \pm 1,2*	41,4 \pm 1,2#
Σ $\omega-3$	9,5 \pm 0,4	6,7 \pm 0,2*	8,4 \pm 0,2#	5,6 \pm 0,2*	9,1 \pm 0,2#	5,7 \pm 0,2*	9,7 \pm 0,2#
Σ $\omega-6$	35,2 \pm 1,1	32,5 \pm 1,3	32,9 \pm 1,2	33,5 \pm 1,1	33,7 \pm 1,2	35,3 \pm 1,3	33,9 \pm 1,2
Σ $\omega-9$	15,3 \pm 1,3	12,3 \pm 1,4*	13,9 \pm 1,1	11,03 \pm 0,8*	15,2 \pm 1,2#	12,9 \pm 1,6	15,0 \pm 1,2#
Σ ННЖК	60,0 \pm 0,7	51,5 \pm 0,5*	55,1 \pm 0,6*	50,4 \pm 0,5*	58,0 \pm 0,7#	53,9 \pm 0,5*	58,6 \pm 0,7#

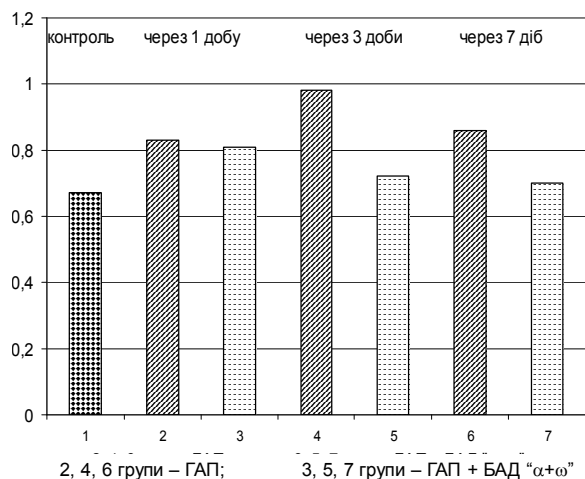


Рис. 1. Співвідношення насичених і ненасичених жирних кислот у загальних ліпідах тканин печінки щурів за гострого аргінінового панкреатиту та у разі введення БАД "α+ω".

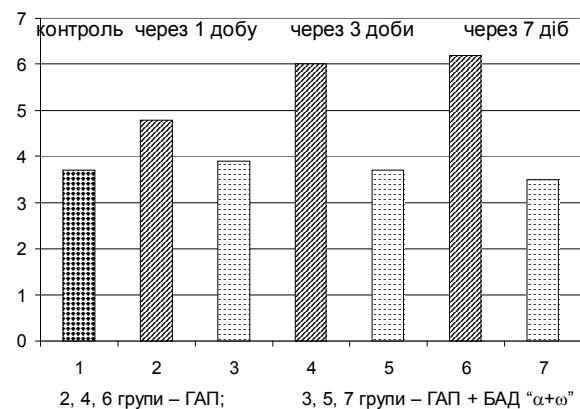


Рис. 2. Співвідношення ПНЖК родин ω-6/ω-3 у загальних ліпідах тканин печінки щурів за гострого аргінінового панкреатиту та у разі введення БАД "α+ω".

загальних ліпідів тканин печінки щурів через 1 добу після моделювання ГАП був меншим на 12 % (з 9,5 % у контролі до 8,4 % у тварин 3-ї групи), а через 3 та 7 днів – близьким до такого у тварин контрольної групи. Вказані зміни відносного вмісту суми ПНЖК родини ω-3 зумовлені аналогічною динамікою змін ліноленової ($C_{18:3}\omega-3$), ейкозапентаєнової ($C_{22:5}\omega-3$) та докозагексаєнової ($C_{22:6}\omega-3$) кислот.

Як видно з наведених у таблиці 1 даних, вміст олеїнової кислоти ($C_{18:1}\omega-9$) у складі загальних ліпідів тканин печінки щурів при введенні БАД "α+ω" впродовж 1, 3 та 7 днів після моделювання ГАП зростає. Це можна пояснити тим, що екзогенні ПНЖК родини ω-3 у складі даної БАД інгібують транскрипцію генів інших ферментних білків у печінці: дельта-9-десатуразу, внаслідок чого попереджується використання у синтезі ліпідів ω-9 кислот [20].

Ряд біологічних ефектів ПНЖК родини ω-3 можна пояснити їх конкурентними та антагоністичними властивостями відносно арахідоно-

вої кислоти ($C_{20:4}\omega-6$), що проявляються зміною її метаболізму [20]. При цьому екзогенні ПНЖК родини ω-3, істотно модифікуючи спектр простагландинів і лейкотриєнів, зменшують їх вміст у зоні запалення, збільшують вміст простагландинів ПГ₃ і лейкотриєнів ЛТВ₅ – основних продуктів ліпоксигеназного шляху метаболізму – ейкозапентаєнової кислоти ($C_{20:5}\omega-3$), які володіють меншою прозапальною активністю [5]. Очевидно, цим також можна пояснити компенсаторне відновлення жирнокислотного складу тканин печінки щурів з ГАП після введення БАД "α+ω" впродовж 7 днів.

Отже, як свідчать отримані нами результати (рис. 1), за умов ГАП відбувалась динамічна зміна рівня насиченості жирних кислот загальних ліпідів тканин печінки щурів за рахунок вірогідного збільшення відносного вмісту окремих НЖК і їх суми та зменшення вмісту ННЖК. За умов введення БАД "α+ω" співвідношення НЖК і ННЖК загальних ліпідів тканин печінки щурів нормалізувалось через 3 дні після моделювання ГАП.

Метаболізм ПНЖК родин ω-3 і ω-6 тісно пов'язаний між собою: ці ПНЖК проявляють конкурентну дію в організмі тварин [20]. Тому визначення співвідношення між ПНЖК родин ω-3 і ω-6 є досить аргументованим показником. Так, з даних, наведених на рисунку 2, видно, що при ГАП у загальних ліпідах тканин печінки щурів вірогідно динамічно зростає коефіцієнт співвідношення між ПНЖК родин ω-6 і ω-3 за рахунок перш за все зменшення сумарного вмісту ПНЖК родини ω-3 (табл. 2). Введення БАД "α+ω" призводило до відновлення вмісту окремих есенціальних ПНЖК родини ω-3 і їх суми (табл. 2), що в цілому нормалізувало і співвідношення між ПНЖК родин ω-6 і ω-3 у загальних ліпідах тканин печінки щурів уже через 3 доби після моделювання ГАП.

Таким чином, виявлене нами зниження вмісту НЖК загальних ліпідів тканин печінки призводило до зменшення еластичності мембран, порушення функціонування рецепторів, мембранозв'язаних ферментів і, в цілому, обтяжувало перебіг основного патологічного процесу в підшлунковій залозі [1, 11]. При цьому інтенсивність оновлення жирнокислотного складу гепатоцитів, очевидно, буде залежати, головним чином, від кількості екзогенного надходження НЖК, ПНЖК та МНЖК. Тому після введення щурам із ГАП БАД "α+ω", яка містить лляну олію та риб'ячий жир, що багаті на ПНЖК родини ω-3 (ліноленова, ейкозапентаєнова і докозагексаєнова), спостерігалась нормалізація жирнокислотного профілю загальних ліпідів тканин печінки вже через 3 дні, яка

вірогідно підтвердилась через 7 днів упродовж введення БАД. Це стосується відновлення вмісту НЖК, ПНЖК та їх співвідношення до таких показників у тварин інтактної групи. Наведені дані свідчать про позитивний вплив ПНЖК БАД "α+ω" на жирнокислотний профіль в уражених панкреатоксинами гепатоцитах.

З огляду на результати проведених нами досліджень та дані літератури, можна припустити, що метаболічні порушення в печінці, які виникають при гострих панкреатитах, у тому числі порушення ліпідного і жирнокислотного профілів [2, 11, 17], окиснювальних процесів [10, 18], очевидно, є причинно-наслідковими механізмами формування синдрому вторинної ендогенної інтоксикації організму, який зумовлений розпадом паренхіми гепатоцитів і накопиченням в інтрацелюлярному просторі токсичних продуктів [7].

ВИСНОВКИ. 1. Після моделювання гострого ураження L-аргініном підшлункової залози відносний вміст суми НЖК у загальних ліпідах тканин печінки щурів через 1 добу вірогідно збільшувався на 14 %, через 3 доби – на 24 %, а через 7 діб – на 15 % порівняно із тваринами контрольної групи, в основному за рахунок змін пальмітинової (C_{16:0}) і стеаринової (C_{18:0}) кислот.

а через 7 діб – на 15 % порівняно із тваринами контрольної групи, в основному за рахунок змін пальмітинової (C_{16:0}) і стеаринової (C_{18:0}) кислот.

2. Серед ПНЖК найбільших змін зазнавали ω-3 жирні кислоти загальних ліпідів тканин печінки щурів, відносний вміст суми яких через 1, 3 та 7 днів після моделювання ГАП зменшувався, відповідно, на 29, 41 та 40 % порівняно із тваринами контрольної групи.

3. За умов введення БАД "α+ω" нормалізація відносного вмісту НЖК і ПНЖК, їх співвідношення у загальних ліпідах тканин печінки щурів відбувалася вже через 3 дні після моделювання ГАП.

ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ. У подальшому необхідно дослідити особливості жирнокислотного складу загальних ліпідів крові та підшлункової залози у білих щурів з гострим L-аргініновим панкреатитом та обґрунтувати їх взаємозв'язок із станом про- та антиоксидантної рівноваги з метою розробки структурно-логічної схеми причинно-наслідкових механізмів між оксидативним стресом та обміном ліпідів у підшлунковій залозі, печінці, крові при гострому панкреатиті.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Береговенко І. М. Мікроциркуляторні й патоморфологічні зміни у розвитку експериментального гострого панкреатиту у щурів / І. М. Береговенко, Д. Ю. Зіненко // Дніпровський медичний часопис. – 2008. – 1, № 1. – С. 16–24.
2. Гула Н. М. Жирні кислоти та їх похідні при патологічних станах : монографія / Н. М. Гула, В. М. Маргітич ; Ін-т біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України. – К. : Наук. думка, 2009. – 336 с.
3. Зіненко Д. Ю. Стан печінкової мікроциркуляції та її роль у розвитку патологічних змін печінки при моделюванні гострого панкреатиту у щурів / Д. Ю. Зіненко, І. М. Береговенко // Морфологія. – 2008. – 2, № 3. – С. 39–46.
4. Изменения в панкреатогепатодуоденальных органах при экспериментальном остром липогенном панкреатите / А. Д. Дибиров, В. А. Петухов, М. Д. Донцова [и др.] // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2000. – 130, № 8. – С. 813–817.
5. Когтева Г. С. Ненасыщенные жирные кислоты как эндогенные биорегуляторы / Г. С. Когтева, В. В. Безуглов // Биохимия. – 1998. – 63. – С. 6–15.
6. Ланкин Т. Ф. Биометрия / Т. Ф. Ланкин. – М. : Высшая школа, 1990. – 352 с.
7. Мозжелин М. Е. Повреждения печени в ходе экспериментального острого панкреатита / М. Е. Мозжелин, А. И. Венгеровский, И. В. Суходолов, А. С. Саратиков // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2001. – 132, № 1. – С. 647–649.

8. Науково-методичні рекомендації з утримання лабораторних тварин / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – К. : Авіцена, 2002. – 156 с.
9. Пат. України № 14794. Біологічно активна харчова добавка "Альфа+Омега" / Покотило О. С. – № 200611181 ; заявл. 23.10.06 ; опубл. 10.06.07, Офіційний бюлетень "Промислова власність" № 8.
10. Привроцька І. Б. Динаміка показників про- та антиоксидантної рівноваги при гострому панкреатиті та її корекція / І. Б. Привроцька, О. С. Покотило // Клін. і експерим. фізіологія і біохімія. – 2011. – № 2. – С. 27–32.
11. Шимунов Г. Я. Особенности изменения метаболических процессов в крови, печени и миокарде на разных стадиях острого экспериментального панкреатита и их коррекция : автореф. дис. на соискание учёной степени канд. мед. наук / Г. Я. Шимунов. – Ростов-на-Дону, 2006. – 27 с.
12. Шумейко А. Г. Функциональная недостаточность печени при остром панкреатите / А. Г. Шумейко // Вісник Укр. мед. стомат. академії. – 2006. – 6, № 1–2. – С. 157–158.
13. Cert A. Methods of preparation of fatty acid methyl esters (FAME). Statistical assesment of the precision characteristics from a collaborative trial / A. Cert, W. Moreda, M. C. Perez-Camino // Grasas y Aceites. – 2000. – 51, № 6. – P. 447–456.

14. Cytokines as potential biomarkers of liver toxicity / S. Lacour, J. C. Gautier, M. Pallardy [et al.] // *Cancer Biomark.* – 2005. – **1**, № 1. – P. 29–39.

15. Early inhibition of prostaglandin synthesis by n-3 fatty acids determines histologic severity of necrotizing pancreatitis / M. Kilian, J. I. Gregor, I. Heukamp [et al.] // *Pancreas.* – 2009. – **38**, (4). – P. 436–441.

16. Folch J. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues / J. Folch, M. Lees, G. Sloane-Stanley // *J. Biol. Chem.* – 1957. – **226**. – P. 497–509.

17. n-3, n-6, and n-9 polyunsaturated fatty acids— which composition in parenteral nutrition decreases severity of acute hemorrhagic necrotizing pancreatitis in

rats? / M. Kilian, I. Heukamp, J. I. Gregor [et al.] // *Int. J. Colorectal. Dis.* – 2006. – **21** (1). – P. 57–63.

18. Pathophysiologic role of oxygen free radicals in acute pancreatitis: initiating event or mediator of tissue damage? / B. Rau, B. Poch, F. Gansauge [et al.] // *Ann. Surg.* – 2000 – **231**. – P. 352–360.

19. Sang Lee. Omega-3 fatty acids and liver disease / Sang Lee, K. M. Gura, M. Puder // *Hepatology.* – 2007. – **45**, 1. 4. – P. 841–845.

20. Simopoulos A. I. Omega-6/Omega-3 Essential Fatty Acid Ratio: The Scientific Evidence. “The importance of Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio in Cell Function” / A. P. Simopoulos, L. G. Cleland // *World Rev. Nutr. Diet.* – Basel, Karger, 2003. – **92**. – P. 23–36.

И. Б. Привроцкая¹, О. С. Покотило²

*ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО¹
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ИВАНА ПУЛЮЯ²*

ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ЛИПИДОВ ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО АРГИНИНОВОГО ПАНКРЕАТИТА У КРЫС

Резюме

В результате проведенных исследований установлено динамику изменений относительного содержания суммы и отдельных насыщенных (НЖК), моно- и полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) общих липидов печени белых крыс при остром поражении L-аргинином поджелудочной железы. Установлено, что поражение печени панкреотоксинами сопровождается значительными нарушениями жирнокислотного состава общих липидов гепатоцитов, которые проявляются увеличением относительного содержания НЖК и уменьшением ПНЖК. Экспериментально доказано, что введение БАД “Альфа+омега” на протяжении 7 дней крысам с острым L-аргининовым панкреатитом приводило к нормализации жирнокислотного профиля общих липидов в печени уже через 3 суток.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: жирные кислоты, печень, панкреатит, L-аргинин, крысы.

I. B. Pryvrotska¹, O. S. Pokotylo²

*I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY¹
I. PULIUY TERNOPIL STATE TECHNICAL UNIVERSITY²*

FATTY ACID COMPOSITION OF LIVER LIPID AT ACUTE ARGININE PANCREATITIS IN RATS

Summary

As a result of research the dynamics of changes of relative content of the sum and separate saturated (NLC), mono-and polyunsaturated fatty acids (PUFA), total lipids of liver of white rats with acute lesion of pancreas by L-arginine was defined. It was determined that the lesion of pancreas by toxic metabolites of the pancreas is accompanied by significant violations of the fatty acid composition of total lipids of hepatocytes that are shown by increase of the relative content of PUFA and decrease of NLC. It was proved experimentally that the introduction of dietary supplements “Alpha+Omega” for 7 days to rats with acute L-arginine pancreatitis led to normalization of the fatty acid profile of total lipids of the liver after 3 days.

KEY WORDS: fatty acids, the liver, pancreatitis, L-arginine, rats’.

Отримано 30.06.11

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

ПЕРЕБІГ ЛІПОПОЛІСАХАРИДНОГО ЗАПАЛЕННЯ ЯСЕН ПРИ ІНСУЛІНОЗАЛЕЖНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ

Метою роботи було дослідити, як супутній інсулінозалежний цукровий діабет впливає на перебіг ліпополісахаридного запалення тканин пародонта. Дослідження проведено на білих щурах, яким у слизову оболонку ясен вводили ліпополісахарид. Цукровий діабет викликали стрептозотоцином. Ліпополісахаридне запалення тканин ясен супроводжувалося оксидативним та нітрооксидативним стресом (у тканинах пародонта і крові зростав вміст NO_x , ТБК-активних продуктів та окисномодифікованих білків). Активність супероксиддисмутази знижувалася в тканинах пародонта, активність каталази суттєво не змінювалася в пародонті й дещо підвищувалася у плазмі крові, а вміст церулоплазміну зменшувався в крові. Спостерігалось також суттєве зменшення вмісту відновленого глутатіону в обох тканинах. Загальна антиоксидантна активність крові мала виражену тенденцію до зниження. У тварин з пародонтитом, що розвивався на фоні цукрового діабету, явища оксидативного та нітрооксидативного стресу були значно більш вираженими, ніж у щурів, яким стрептозотоцин не вводили. Також при поєднаній патології достовірно сильніше погіршувалися показники антиоксидантної системи. Розуміння патогенезу запалення тканин пародонта, асоційованого з цукровим діабетом, необхідне для розробки правильних профілактичних і терапевтичних методів у таких пацієнтів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: запалення тканин ясен, цукровий діабет, оксидативний та нітрооксидативний стрес.

ВСТУП. Запальні захворювання тканин пародонта є однією з найважливіших проблем сучасної стоматології. Понад 50 % дорослого населення Європи мають симптоми гінгівіту, 35 % – тієї або іншої форми пародонтиту. Доведено взаємозв'язки між захворюваннями пародонта і соматичною патологією. Одне з провідних місць у патології людини за своїм соціальним і медичним значенням займає цукровий діабет, що характеризується неухильною тенденцією до зростання захворюваності, тяжкістю лікування і серйозним прогнозом. Літературні дані підтверджують, що цукровий діабет є фактором ризику запальних захворювань ротової порожнини [6, 12, 15, 19-21]. Механізми, що лежать в основі впливу діабету на патогенез гінгівіту чи пародонтиту, особливості перебігу поєднаної патології, можливості корекції порушень метаболізму на сьогодні все ще потребують детальнішого вивчення. Крім того, існують прямі й непрямі докази, які підтримують концепцію, що пародонтна інфекція негативно впливає на глікемічний контроль у людей з діабетом [16-18]. Відомо, що основну пародонтопатогенну роль відіграють анаеробні грамнегативні мікроорганізми. Дослідження вмісту пародонтальних

© Г. Б. Колодницька, М. М. Корда, 2011.

кишень показало переважання в них саме анаеробної мікрофлори. Усе вищенаведене визначає актуальність дослідження патогенетичних аспектів розвитку запальних захворювань пародонта, асоційованих з цукровим діабетом. Перебіг будь-яких запальних захворювань, у тому числі й тканин пародонта, тісно пов'язаний з порушеннями захисних систем організму, зокрема системи імунного й антиоксидантного захисту, а також з розвитком оксидативного та нітрооксидативного стресу. Тому оцінка стану імунної та антиоксидантної систем, процесів вільнорадикального окиснення і системи оксиду азоту набуває важливого значення як у вивченні механізмів формування, так і в розробці методів лікування запалення тканин пародонта на фоні цукрового діабету.

Метою даної роботи було дослідити в експерименті біохімічні механізми розвитку запалення в тканинах ясен, викликаного токсинами грамнегативної мікрофлори, при стрептозотоциновому діабеті.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди виконано на 32 безпородних щурах-самцях масою 150–180 г, яких утримували на стандартній дієті. Всіх тварин поділили на 4 групи: 1-ша – контроль (інтактні щури); 2-га – тварини, в яких

викликали запалення тканин ясен (щоденно протягом 7 днів вводили в слизову оболонку ясен по 20 мікролітрів (1 мг/мл) ліпополісахариду *E. Coli* (ЛПС)); 3-тя – щури, в яких викликали інсулінозалежний цукровий діабет шляхом одноразового внутрішньочеревного введення стрептозотоцину в дозі 45 мг/кг; 4-та – ліпополісахарид+стрептозотин. Для підтвердження цукрового діабету в цільній крові щурів у динаміці визначали вміст глюкози за допомогою портативного глюкометра. На 7-му добу від початку введення ліпополісахариду і на 30-ту добу з моменту введення стрептозотоцину тварин, рівень глюкози в яких був у межах 12–18 ммоль/л, декапітували під тіопенталовим наркозом. У гомогенаті тканин пародонта та крові визначали рівень нітратів і нітритів (NO_x) [10], ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) [1] та окисномодифікованих білків (ОМБ) [5], активність антиоксидних ферментів супероксиддисмутази (СОД) [9], каталази (КТ) [4] та вміст відновленого глутатіону (GSH) [13]. У плазмі крові також визначали вміст церулоплазміну (ЦП) [2] і загальну антиоксидну активність (ЗАА) [11].

Результати виражали як середнє+SEM з 8 експериментів. Зміни $p < 0,05$ розглядали як статистично достовірні. Статистичний аналіз виконували, використовуючи стандартні статистичні програми і t-критерій Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Для оцінки інтенсивності процесів ліпопероксидації ми визначали вміст у тканинах речовин радикальної деградації ліпідів – ТБК-активних продуктів. Надмірне утворення вільних радикалів призводить також до окисної модифікації білків. Про інтенсивність даного процесу судили за вмістом у плазмі крові альдегідо- і кетоніохідних, що утворюються при дії активних радикалів на амінокислотні залишки в молекулах білків. Як видно з таблиці, введення в слизову ясен ЛПС протягом 7 днів призводило до достовірного зростання вмісту ТБК-активних продуктів як у плазмі крові (в 1,2 раза), так і в тканині пародонта (в 1,4 раза). Активність ліпопероксидних реакцій була підвищеною також у крові тварин, в яких моделювали інсулінозалежний діабет. Введення щурам ЛПС викликало окисну модифікацію як нейтральних, так і лужних амінокислот. Через 7 днів після початку введення ЛПС вміст у тканинах пародонта 2,4-динітрофенілгідразонів, що визначалися при 310 нм (відображає концентрацію альдегідо- і кетоніохідних нейтрального характеру), підвищився в 1,7 раза порівняно зі здоровими тваринами, а таких, що визнача-

лися при 430 нм (альдегідо- і кетоніохідні основного характеру), зріс в 2,1 раза. У плазмі крові достовірно збільшувався тільки показник вмісту альдегідо- і кетоніохідних основного характеру. Разом із тим, у щурів зі стрептозотоциновим діабетом окисна модифікація білків була особливо виражена в плазмі крові (вміст ОМБ_{310} і ОМБ_{430} зростав, відповідно, у 2,3 і 2,4 раза), а в тканинах пародонта зміни вмісту окисномодифікованих білків виявилися недостовірними. Проте найбільшою мірою явища оксидативного стресу проявилися в щурів, у яких моделювали ліпополісахаридне запалення ясен на фоні цукрового діабету. В цієї групи тварин, порівняно з інтактними щурами, активність процесів ліпопероксидації зростала в 1,5 раза в крові та в 1,7 раза в тканинах пародонта. Концентрація модифікованих вільними радикалами білків під впливом ЛПС і стрептозотоцину підвищувалася більше як у 3 рази в крові й понад у 2,5 раза в яснах щурів.

Отже, можемо стверджувати, що оксидативний стрес є одним з тих фундаментальних механізмів, що відіграють важливу роль у патогенезі запалення ясен, викликаного токсинами грамнегативної мікрофлори. Особливо активізуються вільнорадикальні процеси в тканинах пародонта в умовах, коли токсична дія ліпополісахариду відбувається на тлі інсулінозалежного цукрового діабету.

Дослідження останніх років у сфері патологічної фізіології і біохімії переконливо довели, що в організмі широкий спектр біорегуляторної дії проявляє оксид азоту. Відомо, що при запальному процесі у тканинах ясен спостерігається постійний вміст високоактивної індукцибельної синтази оксиду азоту, що сприяє збільшенню синтезу NO в пародонті [8]. Як випливає з результатів, наведених у таблиці, введення в слизову ясен ЛПС підвищувало вміст нітритів і нітратів у крові й тканинах пародонта в 1,4 раза. Сам стрептозотин не викликав зростання вмісту NO_x у досліджуваних тканинах, проте моделювання ліпополісахаридного запалення ясен на фоні цукрового діабету спричиняло різке збільшення продукції оксиду азоту (вміст нітритів і нітратів у крові зріс в 1,6 раза, а в тканинах ясен – в 1,9 раза). У цьому контексті можна припустити, що порушення обміну NO , поряд з оксидативним стресом, є однією з ключових ланок в патогенетичних побудовах у тварин із запальними процесами ясен, що перебігають на фоні цукрового діабету. Індукцибельна NO -синтаза не відрізняється постійним вмістом у клітинах, а синтезується при патологічних станах, зокрема під впливом бактеріальних ліпополісахаридів.

харидів, ендотоксинів, цитокінів та інших факторів, що активують також процеси вільнорадикального окиснення. Надмірне утворення NO, що має місце при стимуляції iNOS ендотоксинами мікрофлори, призводить до посиленого утворення пероксинітриду і, як наслідок, до нітрооксидативного стресу. NO також може виконувати корисну функцію при пародонтиті, виступаючи неспецифічним фактором захисту від бактерій. Вироблення макрофагами NO при пародонтиті сприяє разом з іншими радикалами реакціям фагоцитозу. Першорядну роль у продукуванні NO через стимуляцію індукцибельної NO-синтази відіграють ясенні нейтрофіли і фібробласти [14]. Дефіцит NO сприяє розмноженню збудників у тканинах пародонта, що супроводжується обтяженням патологічного процесу і його хронізацією.

Було також показано, що при пародонтиті відбуваються виражені порушення системи антиоксидного захисту в біологічних рідинах ротової порожнини [3, 7]. З метою дослідження впливу ЛПС і стрептозотоцину на функціональний стан антиоксидної системи ми визначали активність каталази і супероксиддисмутази, вміст церулоплазміну і відновленого глутатіону та загальну антиоксидну активність плазми крові. Як показали результати наших експериментів, ураження пародонта токсином грамнегативної мікрофлори супроводжувалось глибокими порушеннями антиоксидної системи. Так, на 7-му добу після введення токсину

активність одного з основних антиоксидних ферментів організму – СОД, що відповідає за знешкодження супероксиданіонрадикала і тим самим блокує ланцюг ліпопероксидації ще на стадії ініціації, зменшилася в тканинах ясен більше ніж в 1,5 раза. Активність КТ достовірно не змінювалася у цієї групи тварин, а вміст ГSH знижувався в 1,6 раза. Необхідно відмітити, що цукровий діабет не супроводжувався достовірними змінами показників антиоксидної системи у тканинах пародонта. У плазмі крові після введення ЛПС активність КТ неочікувано підвищувалася (в 1,3 раза), вміст ЦП і ГSH у крові, а також загальна антиоксидна активність плазми крові мали тенденцію до зниження. У щурів з діабетом мало місце достовірне зменшення тільки концентрації відновленого глутатіону в плазмі крові. У тканинах пародонта сам стрептозотцин не викликав суттєвих змін досліджуваних показників антиоксидної системи. Максимальні зміни показників функціонування антиоксидної системи зафіксовано у тварин з ліпополісахаридним запаленням на тлі цукрового діабету. В цьому випадку вміст ГSH і ЦП у плазмі крові зменшувалася в 1,4 раза, а загальна антиоксидна активність плазми – більше ніж в 1,5 раза. Разом із тим, активність КТ у крові зростала в 1,4 раза. Різко знижувались активність СОД (у 2,3 раза) і вміст ГSH у пародонті (в 1,8 раза). Таким чином, можна дійти висновку, що оксидативний стрес, який відіграє фундамен-

Таблиця – Показники оксидативного і нітрооксидативного стресу в плазмі крові й тканинах пародонта щурів з ліпосахаридним запаленням пародонта на фоні цукрового діабету

Показник	Група тварин			
	Показник			
	Контроль	ЛПС	Стрептозотцин	ЛПС+стрептозотцин
Плазма крові				
NO _x , ммоль/л	2,64±0,12	3,60±0,15*	2,45±0,15	4,27±0,20*#
ТБК-АП, мкмоль/л	46,78±2,24	56,90±2,45*	59,70±3,20*	72,39±5,02*#
ОМБ ₃₁₀ , мкмоль/мг білка	0,80±0,05	0,88±0,06	1,80±0,12*	2,35±0,18*#
ОМБ ₄₃₀ , мкмоль/мг білка	0,55±0,03	0,80±0,07*	1,30±0,09*	2,08±0,15*#
КТ, мкат/л	0,47±0,02	0,60±0,03*	0,52±0,03	0,67±0,04*
ЦП, г/л	0,28±0,01	0,20±0,04	0,24±0,03	0,20±0,02*
ГSH, ммоль/л	2,90±0,10	2,75±0,25	2,02±0,14*	2,12±0,17*
ЗАА, % гальмування утворення ТБК-АП	54,30±3,12	45,30±2,10	47,35±3,18	35,32±2,15*#
Тканини пародонта				
NO _x , ммоль/кг	0,92±0,07	1,28±0,08*	0,98±0,06	1,74±0,11*#
ТБК-АП, мкмоль/кг	2,63±0,16	3,80±0,15*	2,81±0,25	4,54±0,21*#
ОМБ ₃₁₀ , мкмоль/мг білка	3,70 ± 0,22	6,35 ± 0,42*	4,10 ± 0,35	9,40 ± 0,50*#
ОМБ ₄₃₀ , мкмоль/мг білка	2,85 ± 0,19	5,84 ± 0,45*	2,95 ± 0,18	8,35 ± 0,62*#
СОД, од.	0,23±0,01	0,15±0,01*	0,20±0,009	0,10±0,008*#
КТ, мкат/мг білка	1,07±0,08	1,25±0,15	0,95±0,06	0,59±0,02*#
ГSH, ммоль/кг	175,27±9,58	110,70±8,18*	150,20±8,50	97,73±5,18*

Примітка. * – різниця достовірна порівняно з контролем; # – різниця достовірна порівняно з групою тварин, яким вводили ліпополісахарид.

тальну роль у патогенезі запальних захворювань тканин ясен, що виникають під впливом токсинів грамнегативної мікрофлори на фоні інсулінозалежного цукрового діабету, великою мірою детермінується порушеннями функціонування системи антиоксидного захисту організму.

ВИСНОВОК. У патогенезі запалення тканин ясен, викликаного токсином грамнегативної мікрофлори ліпополісахаридом, важлива роль належить оксидативному та нітрооксидативному стресу. Перебіг ліпополісахаридного запалення суттєво погіршується при інсулінозалежному цукровому діабеті.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андреева Л. И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л. И. Андреева, Л. А. Кожемякин, А. А. Кишкун // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
2. Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – Минск : Беларусь, 1982. – 311 с.
3. Косенко К. Н. Показатели свободнорадикального окисления липидов и антиоксидантной защиты в ротовой жидкости больных генерализованным пародонтитом разных возрастных групп / К. Н. Косенко, Б. Б. Седлецкая, Т. П. Терешина // Вісн. стоматол. – 2004. – № 4. – С. 27–30.
4. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
5. Мещишен І. Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові / І. Ф. Мещишен // Буковинський мед. вісн. – 1998. – 2, № 1. – С. 156–158.
6. Мохорт О. М. Особенности комплексного лечения генерализованного пародонтита у больных на сахарный диабет : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук / О. М. Мохорт. – К., 2000. – 19 с.
7. Плотникова В. Г. Влияние лизоцимсодержащих препаратов на прооксидантно-антиоксидантный статус крыс при экспериментальном пародонтите / В. Г. Плотникова, О. А. Макаренко // Вісн. стоматол. – 2006. – № 2. – С. 20–25.
8. Чайковська І. В. Роль порушень метаболізму оксиду азоту в патогенезі генералізованого пародонтиту / І. В. Чайковська // Арх. клін. експерим. мед. – 2008. – 17(2). – С. 226–228.
9. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
10. A spectrophotometric method for the direct detection and quantitation of nitric oxide, nitrite, and nitrate in cell culture media / L. Ridhour, J. E. Sim, M. Hayward [et al.] // Anal. Biochem. – 2000. – 281. – P. 223–229.
11. Assay using brain homogenate for measuring the antioxidant activity of biological fluids / J. Stock, J. M. Gutteridge, R. J. Sharp, I. L. Dormandy // Clin. Sci. and Mol. Med. – 1974. – 47. – P. 215–222.
12. Diabetes mellitus as a risk factor for periodontitis / F. Cairo, R. Rotundo, G. Frazzingaro [et al.] // Minerva. Stomatol. – 2001. – 50(9-10). – P. 321–330.
13. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // Arch. of Bioch. and Biophys. – 1959. – 82. – P. 70–77.
14. Evaluation of the activity of leukocytes during experimental periodontitis in the monkey / G. Gagnot, J. F. Michel, E. Legall [et al.] // J. Biol. Buccale. – 1988. – 16(1). – P. 25–30.
15. Feher D. Neurogenic inflammation of gingivomucosal tissue in streptozotocin-diabetic rat / D. Feher, A. Gyorffi, A. Fazekas // Arch. Physiol. Biochem. – 2001. – 109(3). – P. 230–233.
16. Garofalo G. S. Relationships between diabetes mellitus and periodontal disease: current knowledges and therapeutic prospects / G. S. Garofalo // Clin. Ter. – 2008. – 159(2). – P. 97–104.
17. Herring M. E. ah Periodontal disease and control of diabetes mellitus / M. E. Herring, S. K. Sh // J. Am. Osteopath. Assoc. – 2006. – 106(7). – P. 416–421.
18. Nagata T. Relationship between diabetes and periodontal disease / T. Nagata // Clin. Calcium. – 2009. – 19(9). – P. 1291–1298.
19. Pathogenic aspects of the periodontal disease associated to diabetes mellitus / C. Alves, J. Andion, M. Brandao, R. Menezes // Arq. Bras. Endocrinol. Metabol. – 2007. – 51(7). – P. 1050–1057.
20. Relationship diabetes mellitus-periodontal disease: etiology and risk factors / L. Foia, V. Toma, D. Ungureanu [et al.] // Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat. Iasi. – 2007. – 111(3). – P. 748–753.
21. The relationship between diabetes mellitus and destructive periodontal disease: a meta-analysis / N. G. Chavarry, M. V. Vettore, C. Sansone, A. Sheiham // Oral. Health. Prev. Dent. – 2009. – 7(2). – P. 107–127.

ТЕЧЕНИЕ ЛИПОПОЛИСАХАРИДНОГО ВОСПАЛЕНИЯ ДЕСЕН ПРИ ИНСУЛИНОЗАВИСИМОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Резюме

Целью работы было исследовать, как сопутствующий инсулинозависимый сахарный диабет влияет на течение липополисахаридного воспаления тканей пародонта. Исследование проведено на белых крысах, которым в слизистую оболочку десен вводили липополисахарид. Сахарный диабет вызывали стрептозоточином. Липополисахаридное воспаление тканей десен сопровождалось оксидативным и нитрооксидативным стрессом (в тканях пародонта и крови возрастало содержание NO_x , ТБК-активных продуктов и окислительно-модифицированных белков). Активность супероксиддисмутазы снижалась в тканях пародонта, активность каталазы существенно не менялась в пародонте и несколько повышалась в плазме крови, а содержание церулоплазмينا уменьшалось в крови. Наблюдалось также существенное уменьшение содержания восстановленного глутатиона в обеих тканях. Общая антиоксидантная активность крови имела выраженную тенденцию к снижению. У животных с пародонтитом, который развивался на фоне сахарного диабета, явления оксидативного и нитрооксидативного стресса были значительно более выражены, чем у крыс, которым стрептозоточин не вводили. Также при сочетанной патологии достоверно сильнее ухудшались показатели антиоксидантной системы. Понимание патогенеза воспаления тканей пародонта, ассоциированного с сахарным диабетом, необходимо для разработки правильных профилактических и терапевтических методов у таких пациентов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: воспаление тканей десен, сахарный диабет, оксидативный и нитрооксидативный стресс.

H. B. Kolodnytska, M. M. Korda
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

PECULIARITIES OF LIPOPOLYSACCHARIDE INFLAMMATION OF GUMS AT INSULIN DEPENDENT DIABETES MELLITUS

Summary

The aim of the study was to investigate how insulin dependent diabetes mellitus affects the lipopolysaccharide inflammation of periodontal tissue. The study was conducted on white rats. Lipopolysaccharide was injected into the mucous of the gums. Diabetes was caused by streptozotocin. Lipopolysaccharide inflammation of gum tissue was accompanied by oxidative and nitrooxidative stress (the content of NO_x , TBA-active products and oxidative-modified proteins in periodontal tissues and blood was increased). Superoxide dismutase activity decreased in the periodontal tissues, catalase activity did not change significantly in periodontium and slightly increased in plasma, and ceruloplasmin level decreased in the blood. There was also a significant decrease in reduced glutathione content in both tissues. Total antioxidant activity of blood had a pronounced downward trend. In animals with periodontitis, which developed on the background of diabetes, the oxidative and nitrooxidative stress was much more pronounced than in rats without streptozotocin. Also, in combined pathology the parameters of antioxidant system deteriorated much more noticeable. Understanding of the pathogenesis of periodontal tissue inflammation associated with diabetes is necessary for the development of appropriate preventive and therapeutic methods in such patients.

KEY WORDS: inflammation of gum tissue, diabetes mellitus, oxidative and nitrooxidative stress.

Отримано 05.09.11

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

**ДОСЛІДЖЕННЯ ЛІПОФІЛЬНОЇ ФРАКЦІЇ ТРАВИ ПЕРСТАЧУ ГУСЯЧОГО
(POTENTILLA ANSERINA L.)**

У статті наведено результати вивчення ліпофільної фракції, отриманої з трави перстачу гусячого, зібраного в різні періоди вегетації, визначено вихід ліпофільної фракції відносно сировини, встановлено вміст у рослинній сировині пігментів та жирних кислот.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: перстач гусячий, ліпофільна фракція, пігменти, жирні кислоти.

ВСТУП. Перстач гусячий – рослина родини розових (Rosaceae), яку використовують у народній медицині завдяки наявності у траві та кореневищах з коренями різноманітних біологічно активних речовин. Він має безпечні властивості, в'яжучі, кровоспинні й кровоочисні властивості, стимулює виділення сечі, жовчі, шлункового соку, запобігає запорам. Найвираженіший ефект від застосування перстачу гусячого проявляється при тривалому споживанні [7].

У джерелах літератури відсутні відомості про дослідження ліпофільної фракції перстачу гусячого, тому це стало метою наших досліджень.

Відомо, що основними компонентами ліпофільних екстрактів рослинної сировини є жирні кислоти. Ненасичені жирні кислоти складають основу клітинних мембран, забезпечуючи їх гнучкість, і суттєво впливають на всі процеси, що перебігають у клітинах [4]. Вони беруть участь у метаболізмі гормонів, біосинтезі жирів, мають F-вітамінну, імуностимулювальну та протипухлинну дію, знижують рівень холестерину в крові [9].

Важливою функцією поліненасичених жирних кислот (лінолевої, ліноленової, арахідонової) є їх роль як попередника групи сполук, що регулюють тканинний або клітинний обмін, – ейкозаноїдів. Головними представниками ейкозаноїдів прийнято вважати простагландини, простацикліни, тромбокساني та лейкотриєни, що мають протизапальні й антитромботичні властивості, сприяють зменшенню у крові холестерину, регулюють судинний тонус,

покращують кровопостачання серцевого м'язу і підвищують антитоксичну функцію печінки [1, 2, 6, 10].

Метою даної роботи було вивчити якісний склад та кількісний вміст жирних кислот, каротиноїдів і хлорофілів у ліпофільному екстракті трави перстачу гусячого.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Об'єктом наших досліджень була надземна частина (трава) перстачу гусячого, який збирали в різні періоди вегетації (навесні, влітку та восени) на території Тернопільської області у Бережанському районі.

Виділення ліпофільних комплексів з рослинної сировини проводили шляхом вичерпного екстрагування досліджуваних об'єктів хлороформом в апараті Сокслета [3, 8].

Ліпофільна фракція трави перстачу гусячого – густа масляниста однорідна маса коричневого кольору із зеленим відтінком, добре розчинна у хлороформі, не розчинна у воді та спирті. Вихід ліпофільних речовин з трави перстачу гусячого в перерахунку на абсолютно суху сировину становив $(1,61 \pm 0,02)$ %. Одержаний ліпофільний екстракт трави перстачу гусячого використано для проведення подальших досліджень.

Жирнокислотний склад ліпофільної фракції перстачу гусячого аналізували методом газорідинної хроматографії після метилування жирних кислот у зразках екстракту. Умови хроматографування: колонка – капілярна, кварцова, розміром 30 м+0,25 мм, НР – 225, товщина шару – 0,25 мкм. Температуру колонки програмували при 165 °С (2 хв). Приріст тем-

© С. М. Марчишин, О. Б. Амброзюк, 2011.

ператури – зі швидкістю 20 °С за 1 хв до температури 225 °С (15 хв). Температура випарувача та детектора – 250 °С. Швидкість руху газу-носія (водню) – 0,94 мл/хв. Ділення потоку – 1:50.

Відсотковий вміст кожного з компонентів розраховували за відношенням площі піків кожної кислоти на хроматографі до сумарної площі піків усіх компонентів. Для ідентифікації кислот проводили порівняння показників часу утримання піків метилових ефірів і стандартної суміші.

Для визначення вмісту каротиноїдів і хлорофілів використовували тривимірну флуоресцентну спектроскопію. 3DF-спектри реєстрували в ультрафіолетовому та видимому діапазонах за допомогою флуориметра Hitachi4010. Вимірювання проводили в інтервалі довжин хвиль збудження – 220–750 нм, в інтервалі довжин хвиль флуоресценції – 220–800 нм; крок сканування – 10 нм; щілини – збудження/флуоресценція – 5/5 нм; розчинники – хлороформ та метанол. Побудову тривимірних графіків виконували, використовуючи програмований пакет Specta Data Lab, розроблений у науково-дослідному інституті хімії Харківського національного університету ім. М. Каразіна [5].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати вивчення жирнокислотного складу ліпофільної фракції трави перстачу гусячого наведено в таблиці 1.

Як видно з даних, наведених у таблиці 1, у ліпофільних фракціях досліджуваної сировини було ідентифіковано і кількісно визначено 9 жирних кислот: пальмітинову, пальмітоолеїнову, стеаринову, олеїнову, лінолеву, α -ліноленову, ерукову, лігноцерінову, ацетерукову. Встановлено, що у ліпофільному екстракті трави, заготовленої у весняний і осінній період (рис. 1, 3), у максимальній кількості міститься лінолева кислота (48,76 і 48,79 % відповідно), у траві перстачу гусячого, яку збирали влітку

(рис. 2), переважає α -ліноленова кислота (55,07 %). Крім того, тільки у літній траві перстачу гусячого містяться ерукова, лігноцерінова, ацетерукова кислоти.

З насичених жирних кислот у ліпофільному екстракті трави перстачу гусячого виявлено у значній кількості пальмітинову кислоту, найменша кількість якої спостерігалась у літній період вегетаційного розвитку і становила 18,29 %.

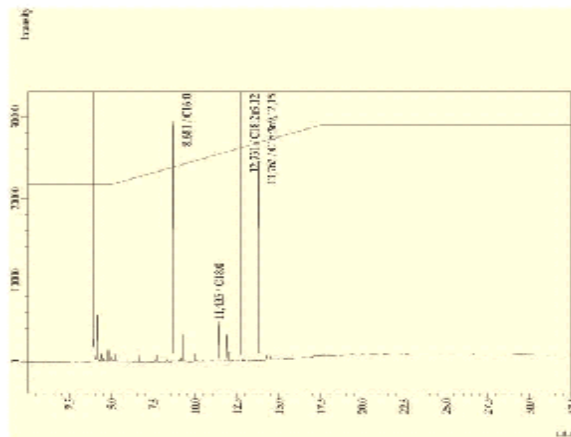


Рис. 1. Хроматограма метилових ефірів ліпофільного екстракту трави перстачу гусячого (весна).

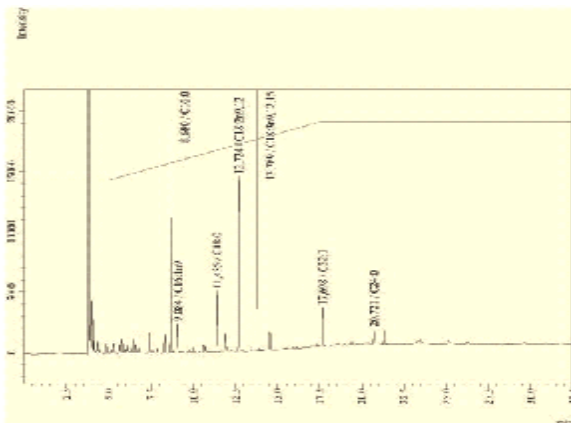


Рис. 2. Хроматограма метилових ефірів ліпофільного екстракту надземної частини перстачу гусячого (літо).

Таблиця 1 – **Жирнокислотний склад ліпофільної фракції перстачу гусячого**

№	Назва жирної кислоти	Вуглецевий скелет жирних кислот	Весна	Літо	Осінь
			%		
1	Пальмітинова	C16:0	24,25	18,29	25,07
2	Пальмітоолеїнова	C16:1n9	–	2,44	–
3	Стеаринова	C18:0	4,15	4,55	4,31
4	Олеїнова	C18:1n9	–	–	2,65
5	Лінолева	C18:2n9,12	48,76	12,76	48,79
6	α -ліноленова	C18:3n9,12,15	22,84	55,07	19,19
7	Ерукова	C22:1	–	3,25	–
8	Лігноцерінова	C24:0	–	1,87	–
9	Ацетерукова	C24:1n11	–	1,78	–

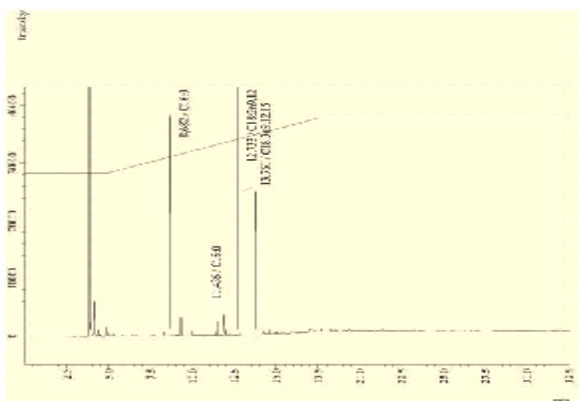


Рис. 3. Хроматограма метилових ефірів ліпофільного екстракту надземної частини перстачу гусячого (осінь).

З метою більш детального визначення якісного складу ліпофільного екстракту перстачу гусячого нами проведено аналіз тривимірних спектрів флуоресценції та їх проекції на площину збудження/випромінювання, які представлено у логарифмічних шкалах інтенсивності.

Результати досліджень показали, що ліпофільному комплексу трави перстачу гусячого у метанолі (літо) властиві піки в ділянках λ_{exc} – 230–250 і 260–300 нм, λ_{em} – 260–350 і 290–350 нм, що свідчить про наявність у досліджуваному об'єкті простих фенолів, піки збудження λ_{exc} – 300–360 нм і випромінювання λ_{em} – 390–460 нм характерні для флавонів, а серія піків λ_{exc} – 350–480, 500–580, 600–690 нм і λ_{em} – 650–750 нм характерна для хлорофілів (сліди). Аналіз ліпофільного комплексу трави перстачу в хлороформі (літо) показав серію піків (λ_{exc} – 290–460, 500–690 нм, λ_{em} – 650–750 нм), яка вказує на наявність хлорофілів.

Для ліпофільного екстракту (розчинник – метанол) трави перстачу гусячого, який зби-

рали навесні, характерними були піки збудження λ_{exc} – 230–250, 260–300 нм, випромінювання λ_{em} – 300–350 нм, що свідчить про наявність простих фенолів, піки збудження λ_{exc} – 300–380 нм і випромінювання λ_{em} – 390–460 нм властиві флавонам, а серія піків λ_{exc} – 340–450, 500–580, 600–690 нм і λ_{em} – 650–700 нм характерна для хлорофілів. У хлороформному екстракті (весна) спостерігали піки λ_{exc} – 250–460, 500–700 нм і λ_{em} – 650–750 нм, що вказують на наявність хлорофілів.

Для ліпофільної фракції (розчинник – метанол) трави перстачу гусячого, зібраної восени, серія піків у ділянках збудження флуоресценції λ_{exc} від 220 до 240 і від 260 до 310 нм та випромінювання λ_{em} від 300 до 360 нм характеризувала вміст поліфенолів і флавоноїдів; серія піків λ_{exc} – 280–440, 490–550, 600–710 нм і λ_{em} – 650–740 нм – вміст хлорофілів. Ліпофільному комплексу хлороформної витяжки (осінь) перстачу гусячого властиві піки в ділянках збудження λ_{exc} – 250–270, 240–520 нм та випромінювання λ_{em} – 340–390, 330–360 нм, що свідчать про наявність в екстракті простих поліфенолів, та серія піків λ_{exc} – 280–440, 490–550, 600–710 нм і λ_{em} – 650–740 нм, які вказують на наявність хлорофілів.

Визначення кількісного вмісту пігментів у ліпофільній фракції перстачу гусячого в метанолі показало, що вміст флавоноїдів у весняний період становив 20,26 мг/г, у літній – 10,41 мг/г, в осінній – 34,45 мг/г; каротиноїдів і хлорофілів – 0,31 і 1,38 мг/г та 0,40 і 7,78 мг/г відповідно (табл. 2).

Вміст пігментів у хлороформній фракції становив: каротиноїдів – 7,70 мг/г (весна), 7,10 мг/г (літо), 4,63 мг/г (осінь); хлорофілів – 2,27; 2,07 та 0,27 мг/г відповідно.

Таблиця 2 – Кількісний вміст пігментів у ліпофільній фракції перстачу гусячого

Назва речовини	Трава		
	весняна, мг/г	літня, мг/г	осіння, мг/г
Хлороформна фракція			
Хлорофіли	2,27	2,07	0,27
Каротиноїди	7,70	7,10	0,17
Метанольна фракція			
Хлорофіли	1,38	7,78	–
Каротиноїди	0,31	0,40	–
Флавоноїди	20,26	10,41	34,45

ВИСНОВКИ. 1. Вперше отримано і досліджено ліпофільні фракції надземної частини (трави) перстачу гусячого.

2. Вивчено якісний склад і визначено кількісний вміст жирних кислот у ліпофільно-

му екстракті трави перстачу гусячого в різні періоди вегетації.

3. Визначено кількісний вміст пігментів (каротиноїдів, хлорофілів, флавоноїдів) у ліпофільних екстрактах трави перстачу гусячого, заготовленого в різні періоди вегетації.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Біологічна хімія / за ред. Л. М. Вороніної. – Х. : Основа, 2000. – 608 с.
2. Гапоненко В. П. Хімічне вивчення ліпофільних фракцій деяких видів роду *Hypocistis* L. / В. П. Гапоненко, І. Г. Левашова, А. Г. Сербін // Укр. журн. клініч. та лаб. медицини. – 2009. – 4, № 4. – С. 47–49.
3. Державна Фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”. – 1-ше вид. – Харків : РІГЕР, 2001. – 556 с.
4. Исаев В. А. Полиненасыщенные жирные кислоты и их роль в мозговом кровообращении / В. А. Исаев // Технология и качество. – 2006. – № 4. – С. 17–23.
5. Калущка О. Б. Аналіз ліпофільної фракції надземних та підземних органів пирію повзучого / О. Б. Калущка, С. М. Марчишин, О. В. Лукиєнко // Фармац. часопис. – 2008. – 7, № 3. – С. 89–91.
6. Кисличенко В. С. Дослідження складу токоферолів та жирних кислот кори, листя, квіток бужку звичайного / В. С. Кисличенко, В. В. Король, А. І. Попик // Укр. біофармац. журн. – 2009. – 1, № 2. – С. 31–33.
7. Носаль І. М. Від рослини – до людини: Розповіді про лікувальні та лікарські рослини України / Іван Носаль. – К. : Веселка, 1995. – 606 с.
8. Солодовниченко Н. М. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати : посіб. з фармакогнозії з основами біохімії лікарських рослин / Н. М. Солодовниченко, М. С. Журавльов, В. М. Ковальов. – Харків : Золоті сторінки, 2001. – 408 с.
9. Фармакогнозія з основами біохімії лікарських рослин / за ред. В. М. Ковальова. – Харків : Прапор, 2000. – 704 с.
10. Docosahexaenoic acid but not eicosapentaenoic acid lowers ambulatory blood pressure and heart rate in humans / Mori Trevor A., Bao Danny Q., Burke Valerie [et al.] // Hypertension. – 1993. – 34 (2). – P. 253–260.

С. М. Марчишин, О. В. Амброзіук

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИПОФИЛЬНОЙ ФРАКЦИИ ТРАВЫ ЛАПЧАТКИ ГУСИНОЙ (POTENTILLA ANSERINA L.)

Резюме

В статье приведены результаты изучения липофильной фракции, полученной из травы лапчатки гусиной, собранной в разные периоды вегетации, определен выход липофильной фракции по отношению к сырью, установлено содержание в растительном сырье пигментов и жирных кислот.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: лапчатка гусиная, липофильная фракция, пигменты, жирные кислоты.

S. M. Marchyshyn, O. V. Ambroziuk

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPII STATE MEDICAL UNIVERSITY

RESEARCH OF LIPOPHYLIC FRACTION OF FINGER GOOSE (POTENTILLA ANSERINA L.)

Summary

In the article there are presented the results of study of lipophilic fraction received out of finger goose gathered in different periods of vegetation. There was determined the going out of lipophilic fraction concerning the raw material, set the content in vegetable raw material of pigments and fatty acids.

KEY WORDS: finger goose, lipophylic fraction, pigments, fatty acids.

Отримано 06.09.11

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

**ВПЛИВ ОДНОРАЗОВОГО ТА БАГАТОРАЗОВОГО ВВЕДЕННЯ
ТІОЦЕТАМУ НА ЕКСКРЕТОРНУ ФУНКЦІЮ НИРОК
ЗА УМОВ ВОДНОГО НАВАНТАЖЕННЯ**

При одноразовому введенні тіоцетаму в гострому експерименті визначено наявність м'якої сечогінної дії. Препарат незначно, але вірогідно вище, порівняно з його компонентами пірацетамом та тіотриазоліном, збільшує діурез, концентрацію та екскрецію іонів натрію і калію в сечі щурів. При багаторазовому (7 діб) введенні тіоцетаму спричиняє помірні діуретичну та салуретичну дії завдяки збільшенню клубочкової фільтрації, депресії каналцевої реабсорбції води та іонів натрію на рівні проксимального і дистального відділів нефрону.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: тіоцетам, водне навантаження, функції нирок, одноразове та багаторазове введення.

ВСТУП. Одним із шляхів раціональної фармакотерапії є отримання високоефективних і безпечних лікарських засобів на тлі комбінації вже відомих лікарських препаратів. Так, широко використовуваний в останні роки в різних галузях медицини оригінальний вітчизняний препарат політропної, метаболічної дії “Тіотриазолін” [1, 5, 7, 11], завдяки його антиоксидантним, мембраностабілізуючим, протиішемічним властивостям, значно покращив фармакодинаміку, фармакокінетику та зменшив побічну дію низки відомих лікарських препаратів – “Аміодарону”, “Індометацину”, “Пірацетаму” та ін. при поєднаному застосуванні [1]. Враховуючи позитивні фармакотехнологічні, фармакологічні властивості тіотриазоліну, гібридне його поєднання з пірацетамом у вигляді препарату “Тіоцетам” значно посилило ноотропну, нейропротекторну та протиішемічну дії пірацетаму, а також антиоксидантну, енерготропну дії тіотриазоліну [1, 7]. Результати експериментальних досліджень та клінічних спостережень довели доцільність застосування препарату при лікуванні різних захворювань нервової системи [1, 6, 8, 10].

Хоча ренальні ефекти тіотриазоліну як складової частини тіоцетаму описано в [2–4], дослідження щодо впливу тіоцетаму на функцію нирок за різних режимів водного обміну відсутні. Отримання такої інформації практично важливе при клінічному застосуванні пре-

парату, особливо у хворих з порушеннями водно-сольового обміну і функції нирок.

Тому метою даного дослідження стало вивчення впливу тіоцетаму на функцію нирок за різних режимів його застосування в порівняльному аспекті до дії його компонентів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для досягнення поставленої мети було проведено експериментальне дослідження на щурах із дизайном за типом “випадок-контроль” та рандомізованим формуванням вибірки. Дослідження складалось із двох частин. У першій вивчено вплив одноразового введення тіоцетаму та його компонентів на функцію нирок, у другій — вплив багаторазового (протягом 7 днів) введення. Експеримент проведено на 80 білих нелінійних щурах-самцях масою 0,16–0,20 кг, які перебували в умовах віварію зі сталим підтриманням температури, вологості та освітлення. Тварин поділили по 10 особин на 6 дослідних груп та 2 групи контролю (відповідно до двох частин експерименту). Щурам дослідних груп вводили внутрішньочеревно, відповідно, тіотриазолін (50 мг/кг) (корпорація “Артеріум”), пірацетам (200 мг/кг) (“Фармак”) та тіоцетам (250 мг/кг) (корпорація “Артеріум”). За 4 дні до початку експерименту тварин переводили на стандартний за вмістом іонів натрію режим харчування (зерно пшениці) без обмеження доступу до води. Функції нирок вивчали на тлі змодельованої гіпергідратації організму (ентеральне водне навантаження в об’ємі 5 %

від маси тіла). Концентрацію іонів натрію та калію в сечі оцінювали методом фотометрії полум'я на ФПЛ-1; білка в сечі – сульфосаліциловим методом за А. І. Міхеєвою, І. А. Богодаровою (1969); креатиніну в сечі й плазмі крові – за реакцією з пікриновою кислотою [9]. Показники діяльності нирок розраховували за формулами [9]. Статистичну обробку результатів проводили рутинними методами варіаційної статистики з використанням пакетів комп'ютерних програм Statistica 6.0 for Windows та QuattroPro 12.0 for Windows. Вірогідність різниці оцінювали за критерієм Стюдента при рівні $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Отримані результати показали, що одноразове введення тіоцетаму за умов змодельованої гіпергідратації організму викликало вірогідно вище збільшення діурезу (рівень діурезу за 2 год складав $4,62 \pm 0,21$ мл, $p < 0,05$) порівняно з роздільним введенням його компонентів: тіотриазоліну – $(3,85 \pm 0,28)$ мл та пірацетаму – $(4,08 \pm 0,11)$ мл. Після багаторазового (7 діб) введення тіоцетаму також спостерігали м'яку сечогінну дію, дещо меншу за інтенсивність порівняно з одноразовим введенням: діурез достовірно збільшувався до $(4,10 \pm 0,26)$ мл/2 год ($p < 0,05$), причому для тіотриазоліну цей показник складав $(4,18 \pm 0,28)$ мл/2 год, а для пірацетаму – $(3,78 \pm 0,2)$ мл/2 год (рис. 1). Діуретичний ефект тіотриазоліну підтверджується даними літератури [2, 3]. Різниця між діуретич-

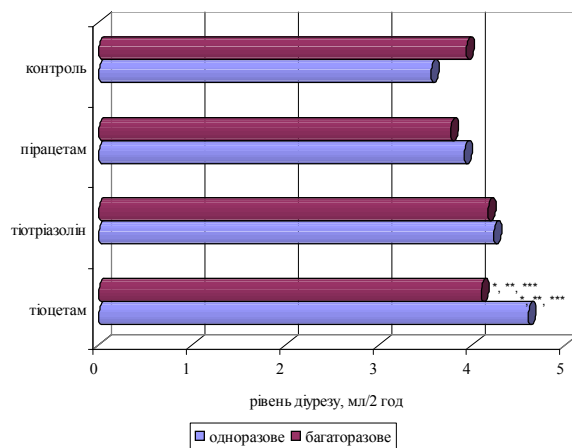


Рис. 1. Зміни діурезу при одно- та багаторазовому введенні тіоцетаму в дозі 250 мг/кг порівняно з його компонентами (* – вірогідність різниці порівняно з контролем; ** – вірогідність різниці порівняно з тіотриазоліном; *** – вірогідність різниці порівняно з пірацетамом, $p < 0,05$).

ним ефектом тіоцетаму при одно- і багаторазовому введенні була недостовірною ($p > 0,05$).

При оцінці рівня екскреції іонів натрію та калію визначено, що тіоцетам вірогідно більше впливає на виведення натрію із сечею порівняно з тіотриазоліном та пірацетамом як при одноразовому (табл. 1), так і при багаторазовому введенні (табл. 2).

Встановлено, що при одноразовому введенні за умов гіпергідратації екскреція іонів натрію із сечею для пірацетаму та тіотриазоліну залишалася на одному рівні (табл. 1), тоді як для тіоцетаму вона зростала майже вдвічі

Таблиця 1 – Екскреція іонів натрію та калію в щурів при одноразовому введенні тіоцетаму, пірацетаму та тіотриазоліну за умов ентеральної гіпергідратації ($M \pm SD$)

Показник	Контроль (n=10)	Тіотриазолін, 50 мг/кг (n=10)	Пірацетам, 200 мг/кг (n=10)	Тіоцетам, 250 мг/кг (n=10)
Концентрація іонів натрію, ммоль/л	0,8±0,03	0,71±0,04	0,66±0,03 $p < 0,01$	1,23±0,07 $p < 0,01$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Екскреція іонів натрію, мкмоль/2 год	3,18±0,18	2,68±0,09 $p < 0,05$	2,68±0,10 $p < 0,05$	5,64±0,27 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Концентрація іонів калію, ммоль/л	8,33±0,58	8,67±0,47	7,83±0,42	15,92±1,71 $p < 0,01$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Екскреція іонів калію, мкмоль/2 год	33,79±4,28	32,98±2,21	31,895±1,548	72,45±6,26 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Натрій/калієвий коефіцієнт, од.	0,098±0,008	0,082±0,002	0,084±0,001	0,080±0,006

Примітка. Тут і в наступній таблиці: p – вірогідність різниці з контролем; p_1 – вірогідність різниці з тіотриазоліном; p_2 – вірогідність різниці з пірацетамом.

Таблиця 2 – Екскреція іонів натрію та калію в щурів при багаторазовому введенні тіоцетаму, пірацетаму і тіотриазоліну за умов ентеральної гіпергідратації (M±SD)

Показник	Контроль (n=10)	Тіотриазолін, 50 мг/кг (n=10)	Пірацетам, 200 мг/кг (n=10)	Тіоцетам, 250 мг/кг (n=10)
Концентрація іонів натрію, ммоль/л	0,43±0,02	0,89±0,04 p<0,001	0,63±0,08 p<0,05 p ₁ <0,01	0,97±0,03 p<0,001 p ₂ <0,01
Екскреція іонів натрію, мкмоль/2 год	1,66±0,16	3,68±0,22 p<0,001	2,29±0,19 p<0,05 p ₁ <0,001	3,99±0,26 p<0,001 p ₂ <0,001
Концентрація іонів калію, ммоль/л	5,92±0,37	7,17±0,92	7,47±0,72	6,00±0,59
Екскреція іонів калію, мкмоль/2 год	22,64±1,79	29,32±3,53	27,77±2,80	24,61±2,63
Натрій/калієвий коефіцієнт, од.	0,07±0,003	0,13±0,02 p<0,01	0,08±0,006 p ₁ <0,05	0,17±0,01 p<0,001 p ₂ <0,001

(p<0,05), що свідчило про потенціювання дії компонентів. Концентрація іонів калію в сечі й екскреція під впливом тіотриазоліну і пірацетаму суттєво не відрізнялися від контролю, а під впливом тіоцетаму калійурез зростав більш як вдвічі порівняно з контролем і дією складових (табл. 1).

За багаторазового введення тіоцетаму екскреція іонів калію зростала (табл. 2), натрійурез зріс у 2,3 раза, що призвело до збільшення Na⁺/K⁺ коефіцієнта в 2,4 раза. Кліренс іонів натрію збільшився в 2,5 раза, переважно за рахунок зменшення реабсорбції в проксимальному відділі нефрону. Стандартизована до 100 мкл клубочкового фільтрату екскреція іонів натрію також зросла в 2,3 раза (p<0,05).

Отже, багаторазове введення тіоцетаму більшою мірою, порівняно з його компонентами, впливає на іонорегулювальну функцію нирок із переважним впливом на екскрецію іонів натрію.

При оцінці екскреції із сечею білка встановлено, що тіоцетам при одноразовому введенні вірогідно не впливав на концентрацію білка в сечі: середнє значення концентрації складало 0,003 г/л як для тіоцетаму, так і для його компонентів (p>0,05). Двогодинна екскреція білка для тіоцетаму була відносно вищою порівняно з його компонентами ((0,0018±0,004) мг/2 год для тіоцетаму, (0,0013±0,003) мг/2 год для тіотриазоліну та (0,0015±0,004) мг/2 год для пірацетаму), але такі зміни не вірогідні як порівняно між групами, так і з контролем (p>0,05). Також невірогідними відносно компонентів препарату та порівняно з контрольною групою були зміни в концентрації креатиніну в сечі, хоча за абсолютними показниками екскреція креатиніну із

сечею за дії тіоцетаму збільшувалась при дво-годинному інтервалі ((3,16±0,14) мкмоль/2 год для тіоцетаму, (2,61±0,18) мкмоль/2 год для тіотриазоліну та (2,96±0,18) мкмоль/2 год для пірацетаму).

Під час проведення розрахунків встановлено, що зростання діурезу під впливом тіоцетаму відбувалось за рахунок підвищення клубочкової фільтрації, але меншою мірою, ніж за дії пірацетаму (рис. 2).

Тіоцетам за умов тривалого введення також знижував відносну реабсорбцію води (майже на рівні тіотриазоліну) (рис. 3). При оцінці впливу тіоцетаму на рівень проксимальної та дистальної реабсорбції іонів натрію (мкмоль/хв на 100 мкл клубочкового фільтрату) визначено незначне зниження проксимальної реабсорбції за дії тіоцетаму ((11,761±0,164) мкмоль/хв, p<0,05) порівняно з контролем (але меншою мірою, ніж для піра-

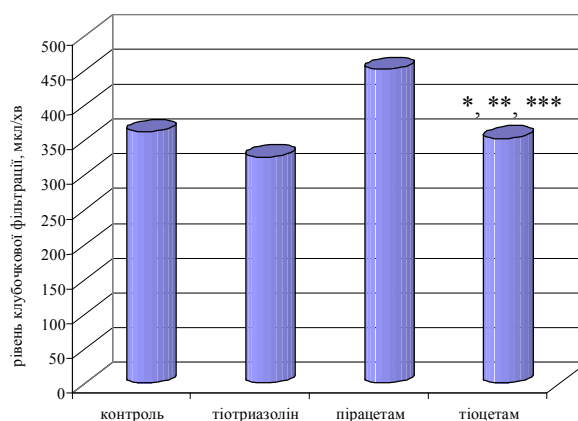


Рис. 2. Вплив тіоцетаму на рівень клубочкової фільтрації (мкл/хв) у щурів за умов тривалого введення (* – вірогідність різниці порівняно з контролем; ** – вірогідність різниці порівняно з тіотриазоліном; *** – вірогідність різниці порівняно з пірацетамом, p<0,05).

цетаму, – (11,93±0,189) мкмоль/хв та майже на рівні тіотриазоліну – (11,66±0,264) мкмоль/хв). Дистальний транспорт іонів натрію за дії тіоцетаму збільшувався більш вагомо ((1,270±0,073) мкмоль/хв, $p < 0,05$) порівняно з пірацетамом (0,889±0,027 мкмоль/хв), але менше порівняно з тіотриазоліном ((1,411±0,098) мкмоль/хв).

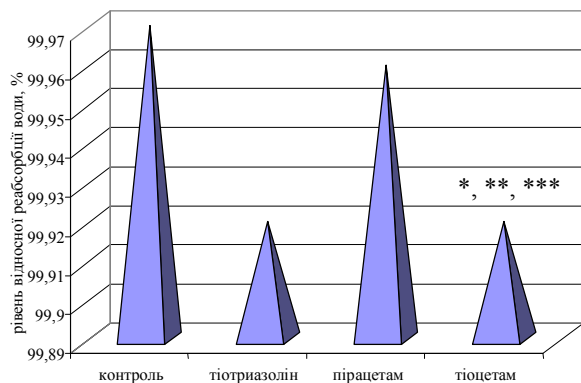


Рис. 3. Вплив тіоцетаму на рівень відносної реабсорбції води у щурів за умов тривалого введення (* – вірогідність різниці порівняно з контролем; ** – вірогідність різниці порівняно з тіотриазоліном; *** – вірогідність різниці порівняно з пірацетамом, $p < 0,05$).

Таким чином, тіоцетам на тлі водного навантаження різною мірою впливає на іонорегуляторну та екскреторну функції нирок залежно від тривалості курсу введення препарату.

Встановлена в експерименті на щурах здатність тіоцетаму збільшувати діурез та екскрецію іонів натрію обґрунтовує можливість його використання в клініці при станах, що супроводжуються набряковим синдромом, та захворюваннях, при яких бажаним є тривале застосування діуретичних засобів несиальної дії. Вплив на інтегративну діяльність різних від-

ділів нефрону та швидкість клубочкової фільтрації може спрогнозувати використання цього препарату при лікуванні гострої ниркової недостатності в складі комплексної терапії. На нашу думку, важливим є м'який, помірний вплив тіоцетаму на водно-сольовий гомеостаз, що особливо є цінним при тривалому його застосуванні. Оскільки на сьогодні цей препарат використовують у клінічній практиці при лікуванні неврологічних та кардіологічних хворих, для яких характерна поліпрагмазія в базисному лікуванні, "ниркові" властивості тіоцетаму досить важливі.

ВИСНОВКИ. 1. При одноразовому введенні тіоцетаму (250 мг/кг) встановлено м'яку сечогінну дію препарату. Тіоцетам незначно, але вірогідно вище, порівняно з його компонентами пірацетамом та тіотриазоліном, збільшує діурез, концентрацію та екскрецію іонів натрію та калію із сечею у щурів.

2. При багаторазовому (7 днів) введенні тіоцетаму спричиняє помірні діуретичну та салуретичну дії завдяки збільшенню клубочкової фільтрації, депресії канальцевої реабсорбції води та іонів натрію на рівні проксимального і дистального відділів нефрону.

ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ. Для вироблення рекомендації щодо впровадження тіоцетаму як засобу комплексного впливу на функції нирок у клінічну практику доцільно дослідити функцію нирок за умов спонтанного діурезу та при змінній мінералокортикоїдній активності. Оскільки в досліджуваній дозі (250 мг/кг) встановлено незначний діуретичний ефект препарату, важливим також є титрування дози для оцінки впливу на екскреторну функцію нирок.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Волошин Н. А. Тиотриазолін, тиоцетам, тиодарон в практиці врача / Н. А. Волошин, В. А. Визир, І. Н. Волошина. – Запорозьке : ЗГМУ, 2008. – 224 с.
2. Геруш О. В. Вплив тіотриазоліну на показники функції нирок та водно-сольового обміну : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фармац. наук / О. В. Геруш. – Харків, 2004. – 32 с.
3. Геруш О. В. Вплив тіотриазоліну на показники функції нирок у щурів за умов спонтанного добового діурезу / О. В. Геруш, І. В. Геруш, Ю. Є. Роговий // Клін. та експерим. патологія. – 2005. – 4, № 3. – С. 28–32.
4. Гордієнко В. В. Нефропротекторна дія тіотриазоліну за кадмієвою інтоксикацією у щурів різного

- віку / В. В. Гордієнко // Клін. та експерим. патологія. – 2004. – 3, № 4. – С. 10–15.
5. Кардиопротекторы / [И. С. Чекман, Н. А. Горчакова, С. Б. Французова и др.]. – К., 2005. – 204 с.
6. Кузнецова С. М. Тиоцетам в системе реабилитации больных, перенесших инсульт / С. М. Кузнецова // Запорожский мед. журн. – 2010. – 12, № 5. – С. 142–146.
7. Метаболитные препараты / [И. А. Мазур, И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев и др.]. – Запорожье. – 309 с.
8. Москаленко М. А. Первый опыт применения препарата тиоцетам при лечении детей с органической патологией головного мозга / М. А. Москаленко, О. С. Евтушенко, А. А. Омеляненко [и др.] // Междунар. неврол. журн. – 2006. – № 1. – С. 49–51.

9. Рябов С. И. Функциональная нефрология / С. И. Рябов, Ю. В. Наточин. – СПб. : Лань, 1997. – 304 с.

10. Середа Д. А. Терапевтическая эффективность нового церебропротективного и ноотропно-го препарата тиоцетам в остром периоде тяжелой

ЧМТ / Д. А. Середа, Ю. К. Дейниченко, И. Ф. Беленичев [и др.] // Медицина неотложных состояний. – 2006. – № 2. – С. 87–89.

11. Тиотриазолин / [А. Д. Визир, В. В. Дунаев, И. А. Мазур и др.]. – Запорожье : НПО Фарматрон, 1996. – 27 с.

О. М. Коровенкова, Р. Б. Косуба

БУКОВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ЧЕРНОВЦЫ

ВЛИЯНИЕ ОДНОРАЗОВОГО И МНОГОКРАТНОГО ВВЕДЕНИЯ ТИОЦЕТАМА НА ЭКСКРЕТОРНУЮ ФУНКЦИЮ ПОЧЕК ПРИ ВОДНОЙ НАГРУЗКЕ

Резюме

При однократном введении тиоцетам в остром эксперименте определено наличие мягкого мочегонного действия. Препарат незначительно, но достоверно выше, по сравнению с его компонентами пирacetамом и тиотриазолином, увеличивает диурез, концентрацию и экскрецию ионов натрия и калия в моче крыс. При многократном (7 суток) введении тиоцетам вызывает умеренные диуретическое и салуретическое действия благодаря увеличению клубочковой фильтрации, депрессии канальцевой реабсорбции ионов натрия и воды на уровне проксимального и дистального отделов нефрона.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: тиоцетам, водная нагрузка, функции почек, однократное и многократное введение.

О. М. Korovenkova, R. B. Kosuba

BUKOVYNIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY, CHERNIVTSI

EFFECT OF SINGLE AND MULTIPLE INTRODUCTION TIOTSETAMA FOR RENAL FUNCTION UNDER CONDITIONS OF WATER STRESS

Summary

At a single-dose in the acute experiment tiotsetama there was determined the presence of a mild diuretic action. Tiotsetam is slightly, but significantly higher compared with its components. Pyracetam and thiotriazolin increase diuresis, significantly increase the concentration and excretion of sodium and potassium in the urine of rats and affect acid-regulated renal function.

At reusable Tiotsetam introduction it has a mild diuretic effect, leads to changes ion-regulating acid-secretory function and kidney function, but also significantly affect glomerular filtration, proximal reabsorption of water, the proximal and distal reabsorption of sodium ions.

KEY WORDS: Thiotcetam, water stress, renal function, single and multiple introduction.

Отримано 07.09.11

Адреса для листування: Буковинський державний медичний університет, Театральна пл., 2, Чернівці, 58002, Україна.

В. І. Корнієнко, Б. А. Самура, М. І. Романенко, О. О. Мартинюк
ХАРКІВСЬКА ДЕРЖАВНА ЗООВЕТЕРИНАРНА АКАДЕМІЯ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ВПЛИВ АМОНІЙНИХ СОЛЕЙ 1-N-МЕТИЛБЕНЗИЛТЕОБРОМІН-8-АМІНООЦТОВОЇ КИСЛОТИ НА ЗБУДЛИВІСТЬ ВІСЦЕРАЛЬНИХ НОЦИЦЕПТОРІВ І ПЕРЕБІГ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ЗАПАЛЬНОЇ РЕАКЦІЇ У ЩУРІВ

Проведено дослідження впливу амонійних солей 1-N-метилбензилтеобромін-8-амінооцтової кислоти на чутливість вісцеральних ноцицепторів і перебіг експериментального запального процесу. Виявлено діетил-амонійну сіль 1-N-метилбензилтеобромін-8-амінооцтової кислоти (спол. 9), яка має знеболювальну та антиексудативну дію, порівнянні з активністю диклофенаку.

Амонійні солі 1-N-метилбензилтеобромін-8-амінооцтової кислоти є групою органічних сполук, перспективною для проведення подальшого синтезу та фармакологічного скринінгу з метою створення на їх основі фармакологічних речовин, які мають анальгетичну і протизапальну дію.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: амонійні солі 1-N-метилбензилтеобромін-8-амінооцтової кислоти, анальгетична активність, протизапальна активність.

ВСТУП. Характерними симптомами при розвитку багатьох гострих та хронічних захворювань людини є біль і запалення. Фармакологічна корекція запального процесу нестероїдними протизапальними засобами (НПЗЗ) продовжує привертати увагу експериментаторів і клініцистів [1], тоді як неселективні НПЗЗ загрожують розвитком виразкової хвороби шлунка і дванадцятипалої кишки в результаті зниження синтезу гастропротекторних простагландинів, селективні блокатори циклооксигенази-2 (ЦОГ-2) – розвитком тромболітичних ускладнень, зокрема інфаркту міокарда [5, 6, 8, 10–12].

Знеболювальна дія НПЗЗ пов'язана з пригніченням периферичних механізмів формування болю за рахунок зменшення синтезу простагландинів та кінінів [4]. У зв'язку з побічними ефектами НПЗЗ, які обмежують їх застосування у великій групі пацієнтів, ведеться пошук нових фармакологічних речовин, які володіють протизапальними властивостями [15].

Перспективною є група метилксантинів, які відіграють важливу роль в організмі людини. Протизапальний ефект метилксантинів реалізується за допомогою модуляції синтезу ряду цитокінів: інгібуванням експресії генів, що відповідають за синтез прозапальних цитокінів

© В. І. Корнієнко, Б. А. Самура, М. І. Романенко, О. О. Мартинюк, 2011.

чинника некрозу пухлин α , інтерлейкіну-1в (ІІ-1в), інтерлейкіну-6 (ІІ-6), інтерлейкіну-8 (ІІ-8), а також посиленням експресії генів, які відповідають за синтез протизапальних цитокінів інтерлейкіну-10 (ІІ-10) [7, 13, 14, 16, 17].

Проведений дескрипторний аналіз даних комп'ютерного прогнозу за програмою PASS вперше синтезованих амонійних солей 1-N-метилбензилтеобромін-8-амінооцтової кислоти свідчить про високу вірогідність наявності в цих речовин анальгетичних і протизапальних властивостей.

Метою роботи було експериментальне дослідження анальгетичної і протизапальної активності амонійних солей 1-N-метилбензилтеобромін-8-амінооцтової кислоти.

Роботу виконано за програмою науководослідних робіт Національного фармацевтичного університету, вона є фрагментом НДР із проблеми "Створення нових лікарських препаратів" (№ державної реєстрації 0198U007008).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження анальгетичної дії амонійних солей 1-N-метилбензилтеобромін-8-амінооцтової кислоти проводили на білих щурах лінії Вістар масою 170–195 г. Синдром болю відтворювали шляхом внутрішньочеревного введення 1 % водного розчину оцтової кислоти в дозі 1 мл на 100 г маси тіла тварини. Досліджували речовини

(спол. 1–10) вводили внутрішньошлунково у вигляді 3–5 % тонкодисперсної водної суспензії, стабілізованої твіном-80, в дозі 0,01 ЛД₅₀ за допомогою металевго зонда за 30 хв до введення хімічного подразника оцтової кислоти. Число корчів підраховували через 20 хв після внутрішньочеревного введення оцтової кислоти протягом 30 хв. Зменшення кількості корчів у щурів дослідних груп, порівняно з контрольною групою, послужило показником анальгетичної активності досліджуваних речовин, яку виражали у відсотках зниження числа оцтових корчів у піддослідних тварин порівняно з контрольними групами [2]. Анальгетичну активність оцінювали за здатністю речовини зменшувати кількість корчів у дослідній групі тварин порівняно з контрольною, виражали у відсотках, розраховували за формулою:

$$AA = \frac{C_k - C_d}{C_d} \cdot 100 \%,$$

де AA – анальгетична активність, %; C_к – середня кількість корчів у контрольній групі; C_д – середня кількість корчів у дослідній групі.

Антиексудативний ефект амонійних солей 1-N-метилбензилтеобромін-8-амінооцтової кислоти досліджували на моделі гострого запального набряку, викликаного субплантарним введенням флогогену – карагеніну. Досліди проведено на білих щурах лінії Вістар обох статей масою 175–195 г. Досліджувані речовини вводили в дозі 0,01 ЛД₅₀ внутрішньошлунково за 30 хв до введення флогогенного агента. Тваринам контрольних груп вводили воду. Через 30 хв під апоневроз задньої лапки щура вводили по 0,1 мл 1 % водної суспензії карагеніну. За допомогою онкометра вимірювали об'єм лапки у щурів до початку досліді й у момент максимального розвитку набряку – через 4 год. Антиексудативну ак-

тивність визначали за ступенем зменшення експериментального набряку в піддослідних щурів порівняно з контрольними тваринами і виражали у відсотках. Як препарат порівняння використовували диклофенак натрію (ЕД₅₀=8 мг/кг). Ступінь пригнічення набряку розраховували за формулою:

$$\% \text{ пригнічення} = \frac{U_k - U_o}{U_k} \cdot 100,$$

де U_к і U_о – об'єм лапки в контролі й у досліді відповідно [2].

При проведенні експериментальних досліджень тварини перебували в стандартних умовах згідно з нормами і принципами Директиви Ради ЄС із питань захисту хребетних тварин, яких використовували для експериментальних та інших наукових досліджень.

Отримані дані оброблено загальноприйнятими методами варіаційної статистики за t-критерієм Стьюдента з використанням програмного забезпечення "Windows-2000", електронних таблиць Excel і пакета математичної обробки Mathcad-5,0 [3, 9].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналіз отриманих експериментальних даних (табл.) показує, що амонійні солі 1-N-метилбензилтеобромін-8-амінооцтової кислоти (спол. 9, 8, 10, 6 та 1) зменшували прояв у тварин рефлекторної реакції на хімічний подразник у межах від 25,3 до 51,2 %. Менш виражену знеболювальну активність мали сполуки 2, 3, 5 і 7, які знижували кількість корчів, викликаних оцтовою кислотою, на 10,1–19,1 %.

Найбільшу анальгетичну активність (58,8 %) проявила діетиламонійна сіль 1-N-метилбензилтеобромін-8-амінооцтової кислоти (спол. 9). За величиною анальгетичної дії амонійні солі 1-N-метилбензилтеобромін-8-амінооцтової кис-

Таблиця – Анальгетична та протизапальна активність амонійних солей 1-N-(3-метил-7-β-метоксіетилксантиніл-8-)амінооцтової кислоти

Сполука	Шифр	Доза, мг/кг	Анальгетична активність		Протизапальна активність	
			кількість корчів (M±m)	пригнічення больового подразнення, % від контролю	об'єм лапки через 4 год (M±m), мл	пригнічення запального набряку, % від контролю
1	γ-7935	23,1	23,14±0,85*	44,0	1,72±0,08*	25,3
2	γ-7936	22,2	37,14±0,69	10,1	2,85±0,11	–
3	γ-7937	23,6	36,14±1,21	12,5	2,47±0,12	–
4	γ-7938	6,15	27,71±0,64*	32,9	2,17±0,09	5,3
5	γ-7939	17,9	33,43±0,79	19,1	2,30±0,10	–
6	γ-7940	11,3	24,0±1,10*	41,9	1,44±0,07*	37,4
7	γ-7943	7,8	35,57±0,64	13,9	2,50±0,13	–
8	γ-7944	15,4	27,14±0,72*	34,3	1,18±0,06*	48,7
9	γ-7945	15,8	17,0±0,76**	58,8	1,11±0,05**	51,2
10	γ-7946	13,4	21,71±0,64*	47,4	1,34±0,07*	41,8
Контроль	–	–	41,3±0,11	–	2,30±0,08	–
Диклофенак	8,0	–	17,5±0,71*	57,4	1,22±0,08*	47,0

Примітка. * і ** – достовірність відмінності з контролем (p<0,05 і p<0,01).

лоти можна розташувати в порядку зменшення таким чином: діетиламонійна (спол. 9), ізопропоксипропіламонійна (спол. 10), β -гідроксietiламонійна (спол. 1), дигідроксietiламонійна (спол. 6), N-метилпіперазинієва (спол. 8) та піперидинієва (спол. 4). Заміна діетиламонійної солі 1-N-метилбензилтеобромін-8-амінооцтової кислоти (спол. 9) на піролідинієву (спол. 5), N-етилпіперазинієву (спол. 7), морфолінієву (спол. 3) та β -гідроксипропіламонійну (спол. 2) амонійні солі призводила до зниження анальгетичної активності. Можна припустити, що анальгетичний ефект амонійних солей серед похідних 1-N-метилбензилтеобромін-8-амінооцтової кислоти пов'язаний із пригніченням синтезу простагландинів та медіаторів болю.

Аналіз результатів (табл.) дослідження протизапальної активності свідчить про те, що амонійні солі похідних 1-N-метилбензилтеобромін-8-амінооцтової кислоти пригнічували експериментальний запальний набряк лапки в піддослідних щурів. Помірну протизапальну активність проявили амонійні солі похідних 1-N-метилбензилтеобромін-8-амінооцтової кислоти (спол. 9, 8, 10, 6, 1), які зменшували розвиток експериментального набряку лапки у щурів в межах від 25,3 до 51,2 %. Найбільшу протизапальну дію мала діетиламонійна сіль 1-N-метилбензилтеобромін-8-амінооцтової кислоти (спол. 9), яка в дозі 15,8 мг/кг зменшувала розвиток експериментального набряку лапки у щурів на 51,2 % ($p < 0,01$). Заміна діетиламонійної солі (спол. 9) на N-метилпіперазинієву (спол. 8), ізопропоксипропіламонійну (спол. 10) та дигідроксietiламонійну (спол. 6) солі призводила до зменшення антиексудативної активності даних сполук. Введення в молекулу 1-*n*-метилбензилтеобромін-8-аміно-

оцтової кислоти β -гідроксипропіламонію (спол. 2), морфолінію (спол. 3), піролідинію (спол. 5) і N-етилпіперазинію (спол. 7) амонійних лугів призводило до втрати протизапальної активності. Виявлена протизапальна дія сполук, які досліджували на моделі карагенінового запалення, вказує на те, що їх можна розглядати як потенційних інгібіторів ліпооксигенази, та свідчить про перспективність подальшого пошуку серед них сполук з високим протизапальним ефектом.

Таким чином, серед досліджених амонійних солей похідних 1-N-метилбензилтеобромін-8-амінооцтової кислоти на моделі хімічного больового подразнення та моделі карагенінового набряку виявлено сполуку 9, яка проявляє знеболювальну й антиексудативну дію та яку за активністю можна порівняти з ефектом диклофенаку, що свідчить про перспективність подальшого пошуку НПЗЗ у ряду похідних амонійних солей 1-N-метилбензилтеобромін-8-амінооцтової кислоти.

ВИСНОВОК. На моделі хімічного больового подразнення найбільшу анальгетичну (58,8 %) активність, а на моделі карагенінового набряку – протизапальну (51,2 %) проявила сполука 9 (діетиламонійна сіль 1-N-метилбензилтеобромін-8-амінооцтової кислоти).

ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ. Амонійні солі 1-N-метилбензилтеобромін-8-амінооцтової кислоти є групою органічних речовин, перспективною для проведення подальшого цілеспрямованого синтезу і фармакологічного скринінгу з метою створення на їх основі нових нестероїдних протизапальних засобів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Дзяк Г. В. Новые направления и перспективы противовоспалительной терапии в ревматологии / Г. В. Дзяк // Матер. Укр. ревматол. школы. – К., 2002. – С. 24–41.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів / под ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – С. 433–443.
3. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабиц. – К. : Морион, 2000. – 320 с.
4. Машковский М. Д. Лекарственные средства / М. Д. Машковский. – 15-е изд., перераб., испр. и доп. – М. : Изд-во Новая волна, 2009. – 1206 с.
5. Насонов Е. Л. Болевой синдром при патологии опорно-двигательного аппарата / Е. Л. Насонов // Врач. – 2002. – № 4. – С. 15.

6. Насонов Е. Л. Нестероидные противовоспалительные препараты в ревматологии / Е. Л. Насонов // Леч. врач. – 2006. – № 2. – С. 50–53.
7. Насонов Е. Л. Поражение желудка, связанное с приемом нестероидных противовоспалительных препаратов / Е. Л. Насонов, А. Е. Каратеев // Клин. мед. – 2000. – № 3. – Р. 4–9.
8. Насонов Е. Л. Применение нестероидных противовоспалительных препаратов / Е. Л. Насонов // Рос. мед. журн. – 2002. – **10**, № 4. – С. 206–212.
9. Сернов Л. Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л. Н. Сернов, В. В. Гацура. – М., 2000. – 352 с.
10. Сороцкая В. Н. Желудочно-кишечные осложнения как одна из причин смерти больных ревматическими заболеваниями / В. Н. Сороцкая, А. Е. Каратеев // Научно-практическая ревматология. – 2005. – № 4. – С. 34–37.

11. Шухов В. С. О нестероидных противовоспалительных средствах / В. С. Шухов // Леч. врач. – 2004. – № 2. – С. 48–51.

12. Basic biology and clinical application of specific cyclooxygenase-2 inhibitors / L. J. Trafford, P. E. Lipsky, P. Brooks [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2000. – 43. – P. 4–13.

13. Bennet A. Nimesulid: an NSAID that preferentially inhibits COX-2, and has various unique pharmacological activities / A. Bennet, G. Villa // *Exp. Opin. Pharmacotherapy.* – 2000. – № 1. – P. 277–286.

14. Gastroprotective therapy and risk of gastrointestinal ulcers: risk reduction by COX 2 therapy / F. Wolfe,

J. Anderson, T. A. Burke [et al.] // *J. Rheumatol.* – 2002. – 29. – P. 467–473.

15. Lapane K. I. The effect of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the use of gastroprotective medication in people with arthritis / K. I. Lapane, J. J. Pettiti // *Am. J. Manag. Care.* – 2001. – 7. – P. 402–408.

16. Sachs C. Oral analgesics for acute nonspecific pain / C. Sachs // *Am. Fam. Physician.* – 2005. – 71. – P. 913–918.

17. Schmidt L. E. Alpha-fetoprotein is a predictor of outcome in acetaminophen-induced liver injury / L. E. Schmidt, K. Dalhoff // *Hepatology.* – 2005. – 41, № 1. – P. 26–31.

В. И. Корниенко, Б. А. Самура, Н. И. Романенко, О. А. Мартинюк
ХАРЬКОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ ЗООВЕТЕРИНАРНАЯ АКАДЕМИЯ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ
ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ВЛИЯНИЕ АММОНИЙНЫХ СОЛЕЙ 1-N-МЕТИЛБЕНЗИЛТЕОБРОМИН-8-АМИНОУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ НА ВОЗБУДИМОСТЬ ВИСЦЕРАЛЬНЫХ НОЦИЦЕПТОРОВ И ТЕЧЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ У КРЫС

Резюме

Проведено исследование влияния аммонийных солей 1-N-метилбензилтеобромин-8-аминоуксусной кислоты на возбудимость висцеральных ноцицепторов и течение экспериментального воспалительного процесса. Выявлена диэтиламмонийная соль 1-N-метилбензилтеобромин-8-аминоуксусной кислоты (вещество 9), уменьшающая развитие экссудативной реакции на действие флогогенного агента на 51,2 %.

Аммонийные соли 1-N-метилбензилтеобромин-8-аминоуксусной кислоты являются группой органических веществ, перспективной для проведения дальнейшего целенаправленного синтеза и фармакологического скрининга с целью создания на их основе фармакологических веществ с анальгетическим и противовоспалительным действиями.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: аммонийные соли 1-N-метилбензилтеобромин-8-аминоуксусной кислоты, анальгетическая активность, противовоспалительная активность.

V. I. Korniyenko, B. A. Samura, M. I. Romanenko, O. O. Martynyuk
KHARKIV STATE ZOOVETERINARY ACADEMY
NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV
ZAPORIZHIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

INFLUENCE OF 1-N-METHYLBENZILTHEOBROMIN-8-AMINOACETIC ACID'S AMMONY SALTS TO EXCITABILITY OF VISCERAL NOCICEPTORS AND TENDENCY OF EXPERIMENTAL INFLAMMATORY REACTION ON RATS

Summary

Research of N-methylbenziltheobromin-8-aminoacetic acid's ammony salts influence to excitability of visceral nociceptors and tendency of experimental inflammatory process has been conducted. Diethylammony salt of 1-N-methylbenziltheobromin-8-aminoacetic acid (comp. 9) diminished development of exsudate reaction by the action of flogogen agent to 51,2 % has been found.

Ammonium salts are the perspective group of organic compounds for a further purposeful synthesis and leadthrough of pharmacological screening with the purpose of based pharmacological facilities with antiinflammatory properties creation.

KEY WORDS: ammoniacal salts of N-methylbenziltheobromin-8-aminoacetic acid, analgetic activity, antiinflammatory activity.

Отримано 19.05.11

Адреса для листування: В. І. Корнієнко, вул. Студентська, 6/18, кв. 1, Харків, 61024, Україна.

А. Л. Загайко, В. П. Филимоненко, О. А. Красільнікова,
Л. М. Вороніна, І. В. Сенюк
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, ХАРКІВ

БІОДОСТУПНІСТЬ І АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ ПОЛІФЕНОЛІВ З НАСІННЯ ВИНОГРАДУ У ВІЛЬНОМУ ВИГЛЯДІ ТА У СКЛАДІ ФІТОСОМ

Кверцетин при пероральному введенні виявляють у максимальних концентраціях, головним чином, у крові, печінці та м'язах через 2 год. Введення кверцетину у вигляді фітосом призводить до значно більшого його накопичення у тканинах щурів. Поліфеноли винограду в складі фітосом також проявляють вищу антиоксидантну активність порівняно з поліфенольним концентратом у вільному вигляді.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: поліфеноли, фітосоми, біодоступність, антиоксидантна активність.

ВСТУП. Поліфеноли винограду культурно-го проявляють широкий спектр біологічних активностей. Найважливішими з них є протизапальний, антиканцерогенний, імуномодулюючий, пробіотичний, кардіопротекторний та антидіабетичний ефекти [8, 12]. В основі багатьох захисних впливів поліфенолів лежать їх антиоксидантні властивості, тобто їх здатність пригнічувати активацію вільнорадикальних процесів – неспецифічного чинника більшості патологій [2].

Разом із тим, серйозним недоліком даних речовин є їх низька біодоступність. Слабка розчинність як у воді, так і в ліпідах зумовлює низьку абсорбцію поліфенолів при пероральному введенні [5]. Крім того, молекули поліфенолів часто мають у своєму складі декілька ароматичних кілець, що також знижує ймовірність їх транспорту до клітин шляхом простої дифузії. Проблема низької біодоступності долається за допомогою комплексування рослинних поліфенолів з фосфоліпідами з утворенням ліпосом [1]. Нещодавно розроблено технологію комплексування біофлавоноїдів з фосфатидилхоліном з утворенням фітосом та показано більшу біодоступність і ефективність поліфенолів у їх складі [9].

Метою даної роботи було порівняльне дослідження біодоступності та антиоксидантної активності поліфенолів з насіння винограду у вільному вигляді та у складі фітосом на моделі оксидативного стресу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Роботу виконано на безпородних щурах-самцях масою

© А. Л. Загайко, В. П. Филимоненко, О. А. Красільнікова, Л. М. Вороніна, І. В. Сенюк, 2011.

180–220 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Дослідження проводили відповідно до національних Загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Україна, 2001).

Поліфенольний концентрат (ПФК) з насіння винограду білих сортів вводили щоденно протягом 15 діб внутрішньошлунково з розрахунку 9 мг на 100 г маси тіла у вільному вигляді або у складі фітосом.

Фітосоми отримували, як описано в роботі [1]. Екстракт з насіння винограду упарювали, подрібнювали у гомогенізаторі за присутності лецитину (співвідношення сухий екстракт:лецитин складало 1:1). До сухої суміші додавали дистильовану воду, суміш струшували на універсальному струшувачі WU-4. Отримані фітосоми висушували шляхом ліофілізації. Сухий порошок перерозчиняли у воді та вводили тваринам, як зазначено вище.

Біодоступність перорально введених поліфенолів оцінювали на прикладі вільного [¹⁴C]кверцетину та [¹⁴C]кверцетину в складі фітосом (53 мкКи/ммоль, ChemSyn Laboratories, USA). Мічений кверцетин вводили з розрахунку 9 мг на 100 г маси тіла у радіоактивній дозі 58,5×10⁶ dpm. Через 0,5, 1, 2, і 5 год тварин декапітували, відбирали аліквоти плазми крові та зразки тканин. Зразки тканин подрібнювали, радіоактивність визначали у сцинтиляційній рідині ЖС-8 за допомогою лічильника радіоактивності БЕТА. Надходження [¹⁴C]кверцетину також досліджували на ізольованих гепатоцитах щурів в умовах *in vitro*.

Антиоксидантну активність поліфенолів оцінювали за їх здатністю гальмувати активацію перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у

щурів за умов стресу. Оксидативний стрес викликали шляхом одноразового внутрішньочеревного введення хлориду кобальту з розрахунку 3 мг на 100 г маси тіла [3]. Тварин декапітували під хлоразоло-уретановим наркозом через 1 год після ін'єкції. Інтактним тваринам вводили відповідний об'єм фізрозчину. Інтенсивність процесів ПОЛ визначали за вмістом ТБК-активних продуктів у крові та печінці спектрофотометрично, як описано в роботі [10].

Результати експериментів обробляли статистично, достовірність змін оцінювали за непараметричним U-критерієм Манна-Уїтні. Розходження вважали статистично значущими, якщо $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Розподіл міченого вільного [^{14}C]кверцетину в плазмі крові та тканинах тварин наведено в таблиці 1.

В дослідженні проміжки часу найбільшу радіоактивність (86–93 %) було виявлено у шлунково-кишковому тракті (ШКТ). в тому числі у вмісті шлунка, тонкої та товстої кишок. Через 30 хв 6,8 % мітки вже виявляли у крові, а також [^{14}C]кверцетин з'являвся в тканинах. Максимальне накопичення міченого [^{14}C]кверцетину в плазмі крові та тканинах спостерігали через 2 год після введення. Отримані нами дані узгоджуються з даними літератури про те, що пік концентрації кверцетину та його глікозилізованих похідних припадає на цей проміжок часу [7]. Абсорбований мічений кверцетин після всмоктування потрапляє у кров та перерозподіляється по клітинах органів і тканин.

Максимальна радіоактивність мала місце в печінці, серці, м'язовій тканині та нирках. Згідно з даними, отриманими в цій роботі, слідову кількість [^{14}C]кверцетину було виявлено в легенях та селезінці. В мозку радіоактивність практично не спостерігалася, що може бути пов'язано з досить великими розмірами молекули кверцетину, яка не проникає через

гематоенцефалічний бар'єр. Через 5 год після введення вміст міченого кверцетину як у плазмі крові, так і в тканинах суттєво знижувався, що зумовлено швидким метаболізмом біофлавоноїдів в організмі [4].

Динаміка радіоактивності у плазмі для кверцетину в складі фітосом подібна для міченого вільного кверцетину (рис. 1). Максимальна радіоактивність спостерігалася через 2 год, а через 5 год після введення вона значно знижувалась, що, очевидно, пов'язано з надходженням кверцетину до клітин тканин та органів, а також з виведенням його з організму. Проте слід відзначити, що у тварин, яким вводили фітосоми з [^{14}C]кверцетином, накопичення міченого кверцетину в плазмі відбувалося більш інтенсивно та перевищувало в 1,35 раза (через 1 год), 1,85 раза (через 2 год), 1,62 раза (через 3 год) аналогічний показник у щурів, яким вводили вільний [^{14}C]кверцетин.

Цікаві дані отримані нами при порівнянні біодоступності кверцетину на ізольованих гепатоцитах щурів в умовах *in vitro*. Встановлено, що при інкубації клітин з вільним [^{14}C]кверцетином найбільш інтенсивне його надходження до клітин відбувалося протягом перших 30 хв експерименту (рис. 2). В подальшому швидкість надходження міченої сполуки до клітин стабілізувалася, що знайшло відображення на кривій у вигляді "плато".

Динаміка надходження [^{14}C]кверцетину в складі фітосом суттєво відрізняється. Протягом 50 хв експерименту відбувалося постійне збільшення надходження міченого кверцетину до клітин і на 50 хвилині експерименту в 2,59 раза перевищувало цей показник при інкубації клітин з вільним [^{14}C]кверцетином.

Отримані нами результати свідчать про те, що флавоноїди у складі фітосом мають більшу біодоступність як в умовах *in vivo*, так і в умовах *in vitro*. Останнє можна пояснити утворенням молекулярного комплексу лецитину та

Таблиця 1 – Розподіл радіоактивності в органах і тканинах щурів після введення вільного [^{14}C]кверцетину (імп/хв/мг білка, $M \pm m$, $n=6$)

Тканина	Час після введення кверцетину, год			
	0,5	1	2	5
ШКТ	50 303±4460	54 530±4728	51 494±8091	53 870±789
Плазма крові	1460±35	1644±401	1696±157	982±149
Еритроцити	7±2	4±4	5±2	5±2
Печінка	304±78	684±240	1127±623	155±22
Серце	154±79	291±110	315±124	123±170
М'язова тканина	471±76	753±289	839±310	130±51
Легені	25±3	38±10	27±7	14±3
Мозок	0±0	1±1	1±2	1±2
Селезінка	5±1	6±1	5±1	18±30
Нирки	104±12	468±295	595±346	163±85

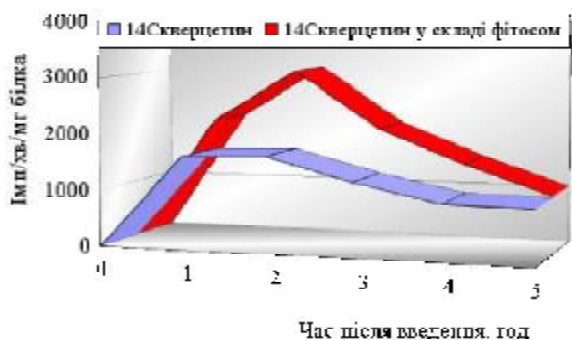


Рис. 1. Радіоактивність плазми крові щурів після введення $[^{14}\text{C}]$ кверцетину та $[^{14}\text{C}]$ кверцетину у складі фітосом (імп/хв/мг білка).

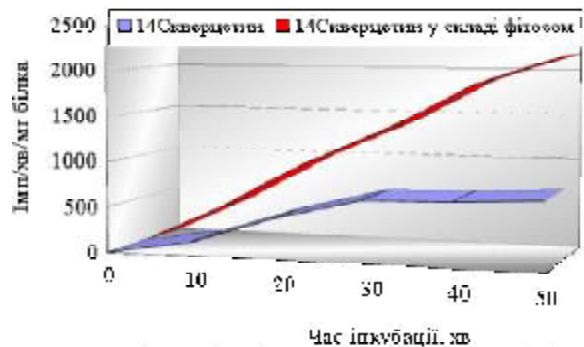


Рис. 2. Радіоактивність ізольованих гепатоцитів щурів після інкубації $[^{14}\text{C}]$ кверцетину та $[^{14}\text{C}]$ кверцетину у складі фітосом (імп/хв/мг білка).

кверцетину з квазістабільним зв'язком. Даний комплекс проявляє значно більшу амфіфільність, що дозволяє йому легко проникати через ліпідний бішар мембрани клітин (у наших дослідженнях ентероцити, гепатоцити), а також вільно транспортуватися в цитозолі [9].

Дані про антиоксидантну активність поліфенолів винограду за умов оксидативного стресу наведено в таблиці 2. Введення тваринам хлориду кобальту спричиняло накопичення ТБК-реактивних продуктів як у печінці, так і в крові щурів, що свідчить про активацію процесів ПОЛ.

Поліфеноли винограду знижували рівень ТБК-реактивних продуктів у досліджених тканинах, що підтверджувало їх антиоксидантні властивості. Слід відзначити, що поліфеноли у складі фітосом проявляли більш виражену антиоксидантну активність порівняно з поліфе-

нольними концентратами: 21 % (концентрат) і 37 % (фітосоми) у сироватці крові та 22 % (концентрат) і 32 % (фітосоми) у печінці (табл. 2).

Цікаво, що досліджені поліфеноли у складі фітосом проявляли вищу активність за умов оксидативного стресу порівняно з фітосомами Leucoselect (дані літератури). Це може бути пов'язано зі складом поліфенолів у фітосомах. Так, фітосоми з поліфенолами винограду, отримані G. B. Vigna et al. [6] на основі стандартизованого поліфенольного екстракту Leucoselect, містять понад 95 % катехіну, епікатехіну, їх галатів і близько 5 % олігомерних проціанідинів (пентамерів, гексамерів, гептамерів тощо). Досліджені фітосоми, крім цих сполук, містять також групу антоціанів, кверцетин і його глікозид та інші поліфеноли, які можуть значно збільшувати антиоксидантну активність фосфоліпід-поліфенольних комплексів [11].

Таблиця 2 – Вплив поліфенольного концентрату з насіння винограду білих сортів у вільному вигляді та у складі фітосом на вміст ТБК-реактивних продуктів у сироватці крові та печінці щурів при введенні хлориду кобальту (мкмоль/мг білка, $M \pm m$, $n=6$)

Тканина	Вид впливу			
	Інтакт	CoCl_2	ПФК+ CoCl_2	Фітосоми+ CoCl_2
Сироватка крові	16,54±7,67	67,95±3,49*	58,33±2,99**	47,26±5,87***
Печінка	76,48±2,12	93,97±7,45*	79,31±5,78**	73,67±7,89***

Примітка. * – різниця достовірна між групами інтакт– CoCl_2 ; ** – різниця достовірна між групами CoCl_2 –ПФК+ CoCl_2 ; *** – різниця достовірна між групами ПФК+ CoCl_2 –фітосоми+ CoCl_2 .

ВИСНОВКИ. Максимальне накопичення ^{14}C -міченого кверцетину відбувається через 2 год після введення, головним чином, у плазмі крові, печінці, серці, м'язовій тканині та

нирках. Поліфеноли з насіння винограду білих сортів у складі фітосом проявляють більшу біодоступність та забезпечують ефективніший антиоксидантний захист порівняно з поліфенолами у вільному вигляді.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Краснопольский Ю. М. Технологические аспекты получения липосомальных препаратов в условиях ПГМР / Ю. М. Краснопольский, А. Е. Степа-

нов, В. И. Швец // Биофармац. журн. – 2009. – 1, № 3. – С. 18–29.

2. Окислительный стресс. Прооксиданты и анти-

оксиданты / [Е. Б. Меньшикова, В. З. Ланкин, Н. К. Зенков и др.]. – М. : Фирма "Слово", 2006. – 556 с.

3. Содержание и состав липопротеинов крови и печени крыс и некоторые показатели окислительного стресса при введении хлорида кобальта / П. А. Калиман, Р. В. Шаламов, А. Л. Загайко [и др.] // Укр. биохим. журн. – 1997. – **69**, № 5. – С. 138–148.

4. Bischoff S. C. Quercetin: potentials in the prevention and therapy of disease / S. C. Bischoff // Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care. – 2008. – **11**, № 6. – P. 733–740.

5. Del Rio D. Berry flavonoids and phenolics: bioavailability and evidence of protective effects / D. Del Rio, G. Borges, A. Crozier // Br. J. Nutr. – 2010. – **104**, № 3. – P. 67–90.

6. Effect of a standardized grape seed extract on low-density lipoprotein susceptibility to oxidation in heavy smokers / G. B. Vigna, F. Costantini, G. Aldini [et al.] // Metabolism. – 2003. – **52**, № 10. – P. 1250–1252.

7. Enzymatically modified isoquercitrin, alpha-oligoglucosyl quercetin 3-O-glucoside, is absorbed more easily than other quercetin glycosides or aglycone after oral administration in rats / T. Makino, R. Shimizu,

M. Kanemaru [et al.] // Biol. Pharm. Bull. – 2009. – **32**, № 12. – P. 2034–2040.

8. Gollucke A. P. Recent applications of grape polyphenols in foods, beverages and supplements / A. P. Gollucke // Recent. Pat. Food. Nutr. Agric. – 2010. – **2**, № 2. – P. 105–109.

9. Kidd P. M. Bioavailability and activity of phyto-some complexes from botanical polyphenols: the silymarin, curcumin, green tea, and grape seed extracts / P. M. Kidd // Altern. Med. Rev. – 2009. – **14**, № 3. – P. 226–246.

10. Levels of 4-hydroxynonenal and malondialdehyde are increased in brain of human chronic users of methamphetamine / P. S. Fitzmaurice, J. Tong, M. Yazdanpanah [et al.] // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 2006. – **319**, № 2. – P. 703–709.

11. The inactivation of lipid peroxide radical by quercetin. A theoretical insight / S. G. Chiodo, M. Leopoldini, N. Russo, M. Toscano / Phys. Chem. Chem. Phys. – 2010. – **12**, № 27. – P. 7662–7670.

12. Verma A. K. The biological potential of flavones / A. K. Verma, R. Pratap // Nat. Prod. Rep. – 2010. – **27**, № 11. – P. 1571–1593.

А. Л. Загайко, В. П. Филимоненко, О. А. Красильникова, Л. Н. Воронина, И. В. Сенюк
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

БИОДОСТУПНОСТЬ И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИФЕНОЛОВ ИЗ СЕМЯН ВИНОГРАДА В СВОБОДНОМ ВИДЕ И В СОСТАВЕ ФИТОСОМ

Резюме

Кверцетин при пероральном введении обнаруживают в максимальных концентрациях, главным образом, в крови, печени и мышцах через 2 часа. Введение кверцетина в виде фитосом ведёт к значительно большему его накоплению в тканях крыс. Полифенолы винограда в составе фитосом также обладают более высокой антиоксидантной активностью по сравнению с полифенольным концентратом в свободном виде.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: полифенолы, фитосомы, биодоступность, антиоксидантная активность.

A. L. Zahayko, V. P. Fylymonenko, O. A. Krasilnikova, L. M. Voronina, I. V. Senyuk
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

BIOAVAILABILITY AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF POLYPHENOLS FROM GRAPE'S SEEDS IN FREE KIND AND IN PHYTOSOMES

Summary

The grape polyphenol (quercetin) under oral administration is exposed in highest concentrations mainly in blood, liver and muscles in 2 hours. The quercetin administration in phytosomes causes larger its accumulation in rat tissues. Grape seeds polyphenols in phytosomes manifest the higher antioxidant activity than polyphenolic concentrate in free kind.

KEY WORDS: polyphenols, phytosomes, bioavailability, antioxidant activity.

Отримано 25.05.11

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

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ ДІЇ МАЗІ З ЕКСТРАКТОМ ЗВІРОБОЮ ЗВИЧАЙНОГО

У результаті проведених біофармацевтичних досліджень обґрунтовано склад мазі з екстрактом звіробою звичайного на гідрофільній основі та розроблено технологію її виготовлення. Встановлено, що дана мазь не токсична при шкірній аплікації за умов гострого дослідження. На моделі запалення лапки щура вивчено проти-запальну активність мазі з екстрактом трави звіробою звичайного. Пригнічення набряку, порівняно з контро-лем, становило 48,9 %.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: екстракт трави звіробою звичайного, мазь, протизапальна дія.

ВСТУП. У сучасній медицині для лікування багатьох захворювань широко застосовують фітопрепарати. Сьогодні на світовому фармацевтичному ринку частка засобів рослинного походження становить понад 40 %, причому в останні роки прослідковується тенденція до її збільшення. За прогнозами ВООЗ, частка фітопрепаратів у загальному обсязі лікарських засобів зростатиме [1].

Роль фітопрепаратів на етапах лікування патологічних станів різна: на початкових етапах вони здатні запобігати подальшому розвитку хвороби або пом'якшити її прояви, на етапі розвитку захворювання – виступають як засоби додаткової терапії, для зменшення побічних явищ, корекції порушених функцій. У процесі видукування фітопрепарати застосовують одночасно із синтетичними засобами, поступово витісняючи їх.

На території України є унікальні запаси лікарської рослинної сировини. У зв'язку з цим, у сучасних умовах найбільш перспективним напрямком становлення вітчизняної фармацевтичної промисловості є розвиток фіто-хімічних виробництв. До основних переваг фітопрепаратів можна віднести більш м'яку дію порівняно із синтетичними лікарськими засобами. Фітопрепарати, як правило, не викликають побічних ефектів і ускладнень, практично не призводять до звикання, мають низьку вартість, доступність лікарської рослинної сировини [1].

© В. А. Сологуб, Л. М. Грицик, А. Р. Грицик, 2011.

Звіробій звичайний (*Hypericum perforatum* L.) – багаторічна трав'яниста рослина родини звіробійних, яка поширена майже на всій території України. Траву звіробою звичайного широко застосовують в офіційній та народній медицині як протизапальний, епітелі-зуючий, спазмолітичний, в'яжучий, капіляро-зміцнюючий, венотонізуючий, антимікробний засіб [2, 5, 6].

На кафедрі фармації Івано-Франківсько-го національного медичного університету розроблено мазь на гідрофільній основі з екстрактом звіробою звичайного.

З метою визначення оптимального складу мазі, а саме природи і концентрації діючих та допоміжних речовин, було проведено біофармацевтичні дослідження.

Важливим фактором, який впливає на терапевтичну активність мазей, є природа носія. Мазева основа є складовою частиною мазі, яка визначає її масу, фізико-хімічні й споживчі властивості (консистенцію, стійкість при зберіганні, рН, зовнішній вигляд, колір, запах та ін.), концентрацію, швидкість та повноту вивільнення діючих речовин [3, 4, 7]. Для вибору основи використовували метод "агарових пластинок" та дифузю через напівпроникну мембрану. Оптимальну концентрацію екстракту в мазі визначали шляхом дифузії в агаровий гель, вимірюючи діаметр зони росту патогенної мікрофлори навколо препарату.

У результаті проведених біофармацевтичних та технологічних досліджень було запро-

поновано 5 % мазь з екстрактом трави звіробою звичайного на гідрофільній основі.

Встановлено, що мазь з екстрактом трави звіробою звичайного при нашкірній аплікації за умов гострого досліду є нетоксичною, що підтверджено морфолого-гістологічним дослідженням внутрішніх органів тварин. При розтині інтактних та піддослідних тварин макроскопічно внутрішні органи були без видимих змін. Для мікроскопічного дослідження брали шматочки печінки, нирок, шлунка, легені, серцевого м'яза. При патоморфологічному дослідженні внутрішніх органів білих мишей змін у внутрішніх органах, порівняно з інтактними тваринами, не виявлено.

Метою даного дослідження було вивчити протизапальну дію мазі з екстрактом звіробою звичайного.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Вивчення протизапальної та протинабрякової активності мазі з екстрактом трави звіробою звичайного проводили на моделі запалення лапки щура. Як патологічну модель запалення вибрали термічний опік (65°C – 30 с). При термічному опіку виявляють усі ознаки гострого запалення – гіперемію, підвищення судинно-тканинної проникності, розвиток набряку тощо. Протизапальний ефект мазі оцінювали за її здатністю пригнічувати набряк лапки щура. Кількісно протинабрякову дію визначали шляхом вимірювання об'єму лапки тварини до початку ек-

сперименту, через 2 год після опіку та через 1, 3, 5 і 24 год після початку лікування маззю з екстрактом звіробою звичайного.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати дослідження протизапальної активності мазі з екстрактом звіробою звичайного наведено в таблиці.

За результатами дослідження (табл.) встановлено, що через 2 год об'єм лапки щура збільшувався в середньому в 2 рази. У контрольній групі продовжував збільшуватися в наступні 5 год. До закінчення доби в частини тварин контрольної групи на фоні загального зниження набряку лапок спостерігались поодинокі некротично-виразкові осередки. У групі тварин, яких лікували досліджуваною маззю, через 1 год після аплікації набряк лапок зменшувався, порівняно з контролем, на 40,0 %. В наступні 3–5 год протизапальна активність підвищувалася на 43,7–49,1 %. Через 24 год розмір лапок майже не змінювався, і, порівняно з контролем, пригнічення набряку становило 48,9 %. Зменшення розміру набряку лапки спостерігалось у групі тварин, яких лікували основою мазі. Проте протизапальний ефект основи мазі не значний і статистично не вірогідний.

Наведені дані свідчать про те, що досліджувана мазь проявляє протизапальну і протинабрякову активність при нанесенні її на опікову поверхню лапки щура.

Таблиця – Протизапальна дія мазі з екстрактом трави звіробою звичайного

Група тварин	Вихідний об'єм лапки*	Об'єм лапки через 2 год після опіку*	Об'єм лапки після лікування опіків*			
			через 1 год	через 3 год	через 5 год	через 24 год
Контрольна	0,89±0,04	1,81±0,05	1,89±0,06	1,92±0,07	1,97±0,06	1,77±0,06
Мазева основа	0,90±0,02	1,75±0,06	1,74±0,04	1,86±0,05	1,83±0,06	1,72±0,05
Мазь з екстрактом звіробою звичайного	0,92±0,04	1,83±0,05	1,52±0,05	1,50±0,05	1,47±0,04	1,37±0,05

Примітка. * – об'єм лапки тварини в умовних одиницях.

ВИСНОВКИ. 1. У результаті проведених біофармацевтичних та мікробіологічних досліджень обґрунтовано склад мазі з екстрактом звіробою звичайного та запропоновано технологію її виготовлення.

2. Дослідження фармакологічної активності мазі показало, що розроблена лікарська форма не токсична, проявляє протизапальну і протинабрякову активність при нанесенні на опікову поверхню лапки щура.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Адекенов С. М. Современное состояние и перспективы производства отечественных фитопрепаратов / С. М. Адекенов // Российские аптеки. – 2003. – № 5. – С. 17–19.

2. Визначник рослин України. – К. : Урожай, 1965. – С. 464–466.

3. Гладух Є. В. Вивчення швидкості вивільнення дубильних речовин з лікарських форм альтану /

Є. В. Гладух // Фармац. журн. – 2003. – № 6. – С. 78–81.

4. Допоміжні речовини та їх застосування в технології лікарських форм: довідковий посібник / Ф. Жогло, В. Возняк, В. Попович, Я. Богдан ; за ред. Ф. Жогло. – Львів, 1996. – 96 с.

5. Иван Носаль. Від рослини – до людини / Носаль Иван. – К. : Веселка, 1992. – С. 93–99.

6. Лекарственные растения СССР / [Н. И. Гринкевич, И. А. Баландина, В. А. Ермакова и др.]. – М. : Высшая школа, 1991. – С. 104–105.

7. Фармацевтичні та медико-біологічні аспекти ліків / [І. М. Перцев, І. А. Зупанець, Л. Д. Шевченко та ін.] ; за ред. І. М. Перцева, І. А. Зупанця. – Х. : Вид-во НФаУ, 1999. – Т. 2. – 448 с.

В. А. Сологуб, Л. Н. Грицьк, А. Р. Грицьк
ИВАНО-ФРАНКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ МАЗИ С ЭКСТРАКТОМ ЗВЕРБОЯ ОБЫКНОВЕННОГО

Резюме

В результате проведённых биофармацевтических исследований определен состав мази с экстрактом звербоя обыкновенного на гидрофильной основе и разработана технология ее изготовления. Установлено, что эта мазь является нетоксичной при наружной аппликации в условиях острого опыта. На модели воспаления конечности крысы изучено противовоспалительное действие мази с экстрактом травы звербоя обыкновенного. Противовоспалительная активность, в сравнении с контролем, составила 48,9 %.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: экстракт травы звербоя обыкновенного, мазь, противовоспалительное действие.

V. A. Solohub, L. M. Hrytsyk, A. R. Hrytsyk
IVANO-FRANKIVSK NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

RESEARCH OF ANTI-INFLAMMATORY EFFECT OF OINTMENT WITH AN EXTRACT OF HYPERICUM PERFORATUM L.

Summary

There has been substantiated the composition of the ointment containing the extract of Hypericum perforatum L. on the hydrophilic basis in the results of biopharmaceutical research, and its technology has been worked out. It has been determined that the given ointment is not toxic while applied to the skin under the trial. Using rat's paws as experimental model, there has been determined the anti-inflammatory effect of the ointment containing the extract of Hypericum perforatum L. The inhibition of swelling in comparison to the control made up 48,9 %.

KEY WORDS: extract of *Hypericum perforatum* L., ointment, anti-inflammatory effect.

Отримано 30.09.11

Адреса для листування: А. Р. Грицьк, Івано-Франківський національний медичний університет, вул. Галицька, 2, Івано-Франківськ, 76018, Україна.

ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ПРОТЕЇНАЗО-ІНГІБІТОРНОЇ СИСТЕМИ У ЩУРІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ ПЕРІОДІВ ЗА УМОВ ГОСТРОГО ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ БЛІДОЮ ПОГАНКОЮ

Досліджено вплив токсинів блідої поганки Amanita phalloides на показники протеїназо-інгібіторної системи у щурів різних вікових періодів. У плазмі крові визначали рівень протеолітичної активності крові за даними лізису азоальбуміну, азоказеїну, азоколу; вміст білкових інгібіторів протеолізу – α_2 -макроглобуліну та α_1 -інгібітора протеїназ. Встановлено, що токсичне ураження блідою поганкою призводить до збільшення протеолітичної активності крові на тлі пригнічення інгібіторного потенціалу в усі терміни дослідження у старих тварин і його фазових змін у дорослих та молодих.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **бліда поганка, протеоліз, α_1 -інгібітор протеїназ, α_2 -макроглобулін.**

ВСТУП. Отруєння дикорослими грибами залишаються актуальною проблемою токсикології протягом багатьох років. Летальні наслідки реєструють насамперед при отруєннях грибами роду Amanita. Синдром отруєння A.phalloides відмічають у 90 % смертельних випадків [1, 7]. Летальність при отруєнні блідою поганкою (БП) досягає 95 % [13].

Одним з основних напрямків сучасних наукових досліджень є вивчення системи протеолізу як особливої форми біологічної регуляції. Протеоліз постійно відбувається в живих організмах та навколишньому середовищі під впливом мікроорганізмів, у результаті чого утворюються різноманітні біологічно активні речовини – ферменти, гормони, пептиди, амінокислоти тощо [9, 17].

Протеолітичні ферменти, які мають високу біологічну активність, беруть участь у функціонуванні різних органів та систем організму і в регуляції біологічних процесів. Вони не тільки здійснюють неспецифічний розпад білкових молекул, але і контролюють функції та системи організму, що реалізується в реакціях загального та обмеженого протеолізу. За сучасними уявленнями, саме ферменти протеолізу підтримують рівновагу між загибеллю і деградацією клітин та їх відновленням [6, 14].

Зокрема, процеси обмеженого протеолізу відіграють важливу роль у функціонуванні

ренін-ангіотензинової та калікреїн-кінінової систем, імунітету, гемостазу, системи комплекменту та апоптозу [3, 4]. Біологічна активність протеолітичних ферментів визначається концентрацією ферменту і субстрату, рН, іонною силою і температурою. Проте вміст у крові та тканинах специфічних білків (α_1 -інгібітора протеїназ (α_1 -ІП), α_2 -макроглобуліну α_1 -М, антитромбіну III, α_2 -антиплазміну, α_1 -антихімотрипсину та ін.), які утворюють комплекси з протеїназами, є однією з найбільш важливих ланок контролю за протеолізом [2, 10]. За фізіологічних умов активність протеолітичних ферментів урівноважена із рівнем інгібіторів протеїназ. При критичних станах відбувається порушення динамічної рівноваги між протеазами та їх інгібіторами, що зумовлює розвиток деструктивних і запальних змін у всьому організмі [3, 4].

Відомо, що активація процесів тканинного протеолізу є важливою ланкою в патогенезі захворювань різних органів [16, 17]. Проте патогенетичні механізми, пов'язані з активацією протеолітичних систем при отруєнні БП, практично не вивчали.

Крім того, в сучасній науковій літературі наведено багато інформації щодо механізмів токсичної дії отрути БП на живі істоти, проте практично відсутні дані про проведення системних досліджень стосовно вікових особливостей впливу токсинів БП. Саме на вплив віку

© І. П. Кузьмак, І. М. Кліщ, 2011.

на прояв токсичного ефекту вказували свого часу А. А. Голубев, Є. І. Любліна, Н. О. Толоконцев, Н. А. Філов [5]. На підставі аналізу результатів раніше проведених експериментальних досліджень було встановлено, що молоді й старі тварини більш чутливі до ряду токсичних агентів, ніж статевозрілі, дорослі особини, у зв'язку з високим рівнем обмінних процесів і утворенням більш токсичних продуктів метаболізму [8, 12].

Враховуючи вищесказане, метою даної роботи стало дослідження динаміки показників протеїназо-інгібіторної системи у тварин з гострим токсичним ураженням БП у віковому аспекті.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на безпородних білих щурах-самцях, яких утримували на стандартному раціоні віварію. В експерименті досліджували тварин трьох вікових періодів: 3-місячних (період статевого дозрівання; молоді), 6-місячних (період статевої зрілості; дорослі) та 18–24-місячних (період старості; старі) [8].

Отруєння тварин здійснювали шляхом одноразового внутрішньочеревного введення екстракту БП, отриманого за методом Wieland [18], в дозі 85 мг/кг маси тіла ($1/2 LD_{50}$). Евтаназію щурів проводили шляхом декапітації під тіопенталовим наркозом через 6, 24 та 72 год після отруєння з подальшим забором крові. Експерименти виконували відповідно до Загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених на I Національному конгресі з біоетики (Київ, 2000) та узгоджених із положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [15].

Протеолітичну активність плазми крові визначали, застосовуючи азосубстрати фірми "Simko" Ltd. (Україна): азоальбумін (лізис низькомолекулярних білків), азоказеїн (лізис високомолекулярних білків) і азокол (лізис колагену) [11]. Вміст α_1 -інгібітора протеїназ та α_2 -макроглобуліну визначали з використанням N-бензоїл-DL-аргінін-пара-нітроаніліду (БАПНА) за методом К. М. Веремеєнка [3].

Статистичну обробку результатів досліджень проводили за допомогою комп'ютерної програми "Excel" з використанням t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Проведені нами дослідження показали (табл. 1), що з віком інтенсивність процесів протеолізу знижується. Так, порівняно з молодими тварина-

ми, лізис азоальбуміну в дорослих становив 85,6 %, а у старих – 78,7 %. Аналогічну тенденцію ми спостерігали і стосовно азоказеїну та азоколу. На нашу думку, це може бути наслідком сповільнення з віком активності метаболічних процесів, зниження клітинного синтезу протеїнів та інтенсивності реакцій лімітованого протеолізу. Одночасно нами зафіксовано зростання з віком інгібіторного потенціалу (табл. 2), зокрема концентрація α_1 -ІП у 6-місячних тварин перевищувала аналогічний показник 3-місячних в 1,2 раза. У щурів 18–24-місячного віку цей показник зріс в 1,3 раза відносно 3-місячних. Стосовно α_2 -М ми отримали подібні результати – максимальна концентрація його спостерігалась у плазмі крові старих тварин і перевищувала відповідний показник у молодих на 37 %, а в дорослих – на 28 %.

При отруєнні тварин екстрактом БП протеїназна активність крові (ПАК) зростала в щурів усіх вікових груп, однак ступінь зростання був неоднаковим. Так, у молодих тварин максимальний лізис азоальбуміну спостерігався через 24 год після введення екстракту БП і становив 176 % порівняно з інтактними тваринами. Аналогічно у 3-місячних щурів зростали показники лізису азоказеїну й азоколу (на 94 та 92 % відповідно) порівняно з показниками групи інтактних тварин. У щурів 6-місячного віку також відбулося зростання ПАК (на 92, 77 та 81 % відповідно) з максимумом на 24 годину, однак менш виражене, ніж у молодих. Найбільш виражене зростання ПАК зафіксоване нами у старих тварин. Максимальне зростання лізису азоальбуміну (в 3,6 раза) спостерігалось через 24 год після отруєння БП порівняно з інтактними тваринами, лізис азоказеїну та азоколу зріс у 2,3 і 2,1 раза відповідно.

На наш погляд, зростання протеїназної активності за умов отруєння токсинами БП зумовлене перш за все впливом фалотоксинів, максимум дії яких спостерігався на 12–24 години від моменту отруєння. Фалотоксини, як відомо, здатні зв'язуватись із поверхнею клітин печінки, клітинними мембранами, викликаючи пошкодження мембран мітохондрій, що призводить до пригнічення реакцій окиснювального фосфорилування і зниження енергетичного потенціалу клітини, а також ендоплазматичного ретикулула, лізосом, що, у свою чергу, спричиняє загибель клітини. Збільшення концентрації та активності ферментів протеолізу тканинного походження призводить до "протеазного вибуху", у зв'язку з чим гіперактивуються згортальна, фібринолітична, калікреїн-кінінова, ренін-ангіотензин-

альдостеронова системи і система комплексу. Викликані зміни зумовлюють розвиток деструктивних і запальних змін у всьому організмі. Максимальні зміни у старих тварин, на наш погляд, зумовлені вищим ступенем деградації білків і меншим ступенем контролю за системою білкових інгібіторів.

При критичних станах відбувається також порушення динамічної рівноваги між протеазами та їх інгібіторами. У наших дослідженнях значних змін зазнавала активність білкових інгібіторів плазми крові. На 6 годину експерименту нами встановлено достовірне підвищення інгібіторного потенціалу крові у молодих і дорослих тварин, в основному за рахунок збільшення вмісту α_1 -ІП, який зріс на 38 та 35 % відповідно в обох вікових групах. Щодо α_2 -М, то його концентрація теж підвищилась, але лише на 27 % у молодих і на 32 % у дорослих щурів порівняно з інтактними. Виражене збільшення вмісту α_1 -ІП у перші години після отруєння може бути зумовлене його підвищеною продукцією паралельно з гіперпродукцією інших гострофазових білків у відповідь на токсичне ураження печінки. Крім того, зростання активності основних білкових інгібіторів можна розцінювати як неспецифічну захисну реакцію організму на посиленій протеоліз та за-

пуск фізіологічних процесів адаптації у відповідь на надходження ксенобіотика в організм. У наступні терміни дослідження ми спостерігали зниження білкових інгібіторів протеїназ плазми крові. Зокрема, через 72 год від моменту отруєння концентрація α_1 -ІП у крові молодих тварин була нижчою, порівняно з інтактними, в 1,7 раза, а в дорослих – в 1,3 раза порівняно з інтактними тваринами відповідних вікових груп. Концентрація α_2 -М у молодих щурів була нижчою в 1,4 раза, а в дорослих – в 1,5 раза порівняно з інтактними.

Щодо старих щурів, то ІП крові знижувався вже на 6 годину після токсичного ураження БП, а найбільші показники зафіксовано на 72 годину за рахунок α_2 -М, концентрація якого зменшилась на 62 % порівняно з інтактними тваринами. Вміст α_1 -ІП мав аналогічну тенденцію, однак показник зниження був дещо меншим (на 53 %) відносно групи інтактних тварин.

Зниження активності інгібіторів у плазмі крові може бути результатом дії декількох факторів: по-перше, відбувається інтенсивне зв'язування ними протеїназ, що виражено активуються; по-друге, протеолітичні ферменти в активованому стані здатні еліминувати комплекси протеїназа-інгібітор з наступним розщеп-

Таблиця 1 – Вплив токсинів блідої поганки на показники протеїназ плазми крові в щурів різних вікових періодів ($M \pm m$, $n=6$)

Вік	Показник	Група тварин			
		інтактні	уражені блідою поганкою		
			6 год	24 год	72 год
3-місячні	Лізис азоальбуміну, E_{440} /мл/год	2,86±0,13	3,95±0,1*	7,9±0,32*	6,1±0,03*
	Лізис азоказеїну, E_{440} /мл/год	3,93±0,01	4,99±0,24*	7,62±0,18*	4,75±0,06*
	Лізис азоколу, E_{440} /мл/год	1,94±0,08	2,21±0,13	3,73±0,15*	3,16±0,04*
6-місячні	Лізис азоальбуміну, E_{440} /мл/год	2,45±0,17	3,03±0,15*	4,71±0,09*	3,58±0,15*
	Лізис азоказеїну, E_{440} /мл/год	2,13 ± 0,09	2,87±0,04*	3,76±0,17*	3,55±0,07*
	Лізис азоколу, E_{440} /мл/год	1,58 ± 0,08	1,86±0,07*	2,85±0,03*	2,33±0,06*
18-місячні	Лізис азоальбуміну, E_{440} /мл/год	2,25±0,16	6,60±0,35*	8,09±0,31*	7,43±0,41*
	Лізис азоказеїну, E_{440} /мл/год	2,93±0,25	4,19±0,37*	6,68±0,12*	4,5±0,31*
	Лізис азоколу, E_{440} /мл/год	1,12±0,12	1,48±0,07*	2,35±0,08*	1,48±0,08*

Примітка. У цій і наступній таблиці: * – вірогідні відмінності у досліджуваних показниках порівняно з тваринами контрольної групи ($p < 0,05$).

Таблиця 2 – Динаміка концентрації інгібіторів протеолізу плазми крові в щурів з токсичним отруєнням БП ($M \pm m$, $n=6$)

Вік	Показник	Група тварин			
		інтактні	уражені блідою поганкою		
			6 год	24 год	72 год
3-місячні	α_1 -ІП, мкмоль/л	35,26±1,34	48,63±1,32*	31,13±0,49*	20,62±0,87*
	α_2 -М, г/л	1,92±0,05	2,43±0,16*	1,86± 0,09	1,33±0,05*
6-місячні	α_1 -ІП, мкмоль/л	41,75±1,5	56,45±2,56*	48,95±2,08*	32,9±0,77*
	α_2 -М, г/л	2,06±0,22	2,71±0,13*	2,15±0,17	1,4±0,1*
18-24-місячні	α_1 -ІП, мкмоль/л	45,17±1,56	28,57±0,99*	23,35±1,13*	21,22±0,45*
	α_2 -М, г/л	2,67±0,22	1,42±0,08*	1,22±0,12*	1,02±0,1*

ленням молекули білка; по-третє, враховуючи виражені прооксидантні властивості токсинів БП, на що вказує ряд авторів [1, 13], а також літературні дані про пошкодження вільними радикалами перш за все білкових молекул, можна вважати, що відбувається окиснення активних центрів інгібіторів (окиснювальна денатурація). Ймовірним є також зниження синтезу білків у печінці під впливом аманітинів,

що має місце за отруєння БП через 48–72 год від моменту надходження отрути.

ВИСНОВОК. Результати проведених досліджень свідчать про підсилення протеолітичної активності крові зі зниженням антипротеазного потенціалу в усі терміни дослідження у старих тварин і його фазові зміни у дорослих та молодих.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бойчук Б. Р. Отруєння грибами / Б. Р. Бойчук. – Тернопіль : Укрмедкнига, 1997. – 200 с.
2. Веремеенко К. Н. Активность цистеиновых протеиназ и их ингибиторов в раковых опухолях гортани / К. Н. Веремеенко, А. И. Кизим, Т. В. Семешкиева // Укр. биохим. журн. – 2005. – **77**, № 2. – С. 159–161.
3. Веремеенко К. Н. Протеолиз в норме и при патологии / К. Н. Веремеенко, О. П. Голобородько, А. И. Кизим. – К. : Здоров'я, 1988. – 200 с.
4. Веремеенко К. Н. Ферменты протеолиза и их ингибиторы в медицинской практике / К. Н. Веремеенко. – К. : Здоров'я, 1971. – 216 с.
5. Количественная токсикология / А. А. Голубев, Е. И. Люблина, Н. А. Толоконцев, В. А. Филов. – Л., 1973. – 286 с.
6. Локшина Л. А. Протеолитические ферменты в регуляции биологических процессов / Л. А. Локшина // Биоорганич. химия. – 1994. – **206**, № 2. – С. 142–143.
7. Молдаван М. Г. Общетокическое и нейротропное действие базидиальных грибов родов *Amanita* и *Psilocybe* / М. Г. Молдаван, А. А. Гродзинская // Современные проблемы токсикологии. – 2002. – № 2. – С. 15–20.
8. Савченков М. Ф. Методические вопросы исследований по возрастной токсикологии / М. Ф. Савченков // Гиг. и санит. – 1979. – № 11. – С. 58–61.
9. Самохіна Л. М. Активність протеїназ та їх інгібіторів у розвитку ушкодження нирок за умов стимульованої гіпертензії у дорослих і старих щурів / Л. М. Самохіна, В. В. Ломако, Г. О. Бабійчук // Прогресуючі нефропатії і ремоделювання серцево-судинної системи – сучасні уявлення про механізми розвитку, нове в діагностиці, лікуванні та профілактиці: матер. Всеукр. наук.-практ. конф., 17–18 квітня 2003 р., Інститут терапії АМНУ. – Харків, 2003. – С. 63–64.
10. Системная энзимотерапия. Теоретические основы, опыт клинического применения / под ред. К. Н. Веремеенко, В. Н. Коваленко. – К. : МОРИОН, 2000. – 320 с.
11. Сучасні методики експериментальних та клінічних досліджень Буковинської державної медичної академії : методичний посібник / [В. М. Магальяс, А. О. Михеев, Ю. Е. Роговий та ін.]. – Чернівці : БДМА, 2001. – 42 с.
12. Трахтенберг І. М. Токсичність і вік: проблема стара та нова // Нариси вікової токсикології / за ред. І. М. Трахтенберга. – К. : Авіцена, 2005. – С. 10–17.
13. Черний В. И. Отравление аманитальными грибами тяжелой степени: сравнительный анализ эффективности различных видов эфферентной терапии / В. И. Черний, Р. И. Новикова, И. В. Кузнецова // Організація токсикологічної допомоги в Україні : тези доп. наук.-практ. конф. – 2002. – С. 35–36.
14. Шило О. В. Обмежений протеоліз в умовах штучного гіпометаболічного стану у хом'яків / О. В. Шило, В. В. Ломако, Л. М. Самохіна // Вісник проблем біології і медицини. – 2009. – № 4. – С. 114–117.
15. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe. Strasbourg. – 1986. – № 123. – P. 52.
16. Mistră U. K. Ligation of the alpha-2-macroglobulin signaling receptor on macrophages induces synthesis of platelet activating factor / U. K. Mistră, S. V. Pizzo // J. Cell. Biochem. – 1996. – **61**, № 1. – P. 39–47.
17. Proteases: Potential Role in Health and Disease / Ed. Horl W.H., Heidland A. / International symposium on Proteases. – 1982, Wursburg, Germany / Plenum Press NY. – 1984. – 591p.
18. Wieland H. Über die Giftstoffe des Knollenblatterpilzes. VI. Amanitin, das Hauptgift des Knollenblatterpilzes / H. Wieland, R. Hallermayer // Liebig's Ann. Chem. – 1941. – **548**. – S. 1–18.

ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРОТЕИНАЗО-ИНГИБИТОРНОЙ СИСТЕМЫ В КРЫС РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ПЕРИОДОВ В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО ТОКСИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ БЛЕДНОЙ ПОГАНКОЙ

Резюме

Исследовано влияние токсинов бледной поганки *Amanita phalloides* на показатели протеиназо-ингибиторной системы у крыс разных возрастных периодов. В плазме крови определяли уровень протеолитической активности крови по данным лизиса азоальбумина, азоказеина, азокола; содержание белковых ингибиторов протеолиза – α_2 -макроглобулина и α_1 -ингибитора протеиназ. Установлено, что токсическое поражение бледной поганкой приводит к увеличению протеолитической активности крови на фоне угнетения ингибиторного потенциала во все сроки исследования у старых животных и его фазовых изменений у взрослых и молодых.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: бледная поганка, протеолиз, α_1 -ингибитор протеиназ, α_2 -макроглобулин.

I. P. Kuzmak, I. M. Klishch

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

THE CHANGES OF PROTEINASE-INHIBITORY SYSTEM INDICES IN RATS OF DIFFERENT AGE IN CASE OF AMANITA PHALLOIDES INJURY

Summary

The influence of *Amanita phalloides* toxins was investigated on indices of proteinase-inhibitory system in rats of different age. The blood proteolyses activity was determined by lysing of azoalbumin, azocasein and azocol; the level of protein inhibitors of proteolysis was determined by α_2 -macroglobulin and α_1 -proteinase inhibitor levels. The toxic liver injury by *Amanita phalloides* accompanied by increasing of proteolytic activity of blood and decreasing the inhibitory potential during all terms of investigation in old rats and its phase changes in young and adult rats.

KEY WORDS: *Amanita phalloides*, proteolyses, α_1 -proteinase inhibitor, α_2 -macroglobulin.

Отримано 14.09.11

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

СЛИННА АЛЬФА-АМІЛАЗА ЯК МАРКЕР СТРЕСОРНОЇ РЕАКЦІЇ ОРГАНІЗМУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Проведено аналіз літератури, що стосується застосування слинної альфа-амілази як індикатора психоемоційного стресу та маркера активності симпатoadреналової системи.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: слинна альфа-амілаза, ротова рідина, психоемоційний стрес.

Слина як легкодоступний об'єкт неінвазивного методу дослідження дозволяє вирішувати складні питання щодо психосоматичних змін під впливом стресогенних факторів. У цьому аспекті значний інтерес викликає слинна альфа-амілаза, яка складає близько 40 % білків ротової рідини (змішаної слини)¹.

Слинна альфа-амілаза

Слинна альфа-амілаза (α -1,4- α -D-глюкан 4-глюкангідролаза, К.Ф. 3.2.1.1) – один із найважливіших ферментів ротової рідини, є ендоглюкозидазою, яка, діючи на α -1-4-глікозидні зв'язки амілози, амілопектину, глікогену, розщеплює їх до декстринів, мальтози, ізомальтози і, таким чином, є першою ланкою в процесі травлення гомополісахаридів.

Слинна альфа-амілаза складає від 40 до 50 % загального білка ротової рідини, синтезується ацинарними клітинами переважно (80 %) привушних слинних залоз [40].

Як і більшість інших макромолекул слини, альфа-амілаза є мультифункціональною молекулою [37]. Крім участі в травленні полісахаридів, слинна альфа-амілаза виконує як мінімум дві відомі біологічні функції: зв'язується з високою афінністю з певними видами стрептококів, що заселяють ротову порожнину, та сприяє агрегації бактерій у ротовій рідині, перешкоджаючи їх адгезії до поверхні зубів [21, 27]. Будучи зв'язаною з бактеріями, альфа-амілаза зберігає свою ферментативну активність, тому що містить окремі, але схожі за будовою активні центри для розщеплення вуглеводів та для зв'язування бактерій [8]. Але одночасно альфа-амілаза, що входить до складу зубної пелікули, може сприяти адгезії мікроорганізмів до

© В. Ю. Цубер, Л. М. Тарасенко, 2011.

поверхні зубів та гідролізу бактеріями крохмалю з утворенням органічних кислот, що сприяє розвитку карієсу.

Будова та властивості ферменту

Молекула альфа-амілази складається з 496 амінокислотних залишків. Альфа-амілаза є металоферментом, коферментом якого є іон кальцію, що стабілізує первинну та вторинну структуру ферменту. Один моль кальцію припадає на один моль ферменту. Наявність у ротовій рідині хлорид-, бромід- та іодид-іонів підвищує активність альфа-амілази. За амінокислотним складом слинна альфа-амілаза на 94 % подібна до панкреатичної альфа-амілази людини [1] та на 97 % – до панкреатичної альфа-амілази свині [26], тому панкреатична альфа-амілаза свині може слугувати моделлю будови слинної альфа-амілази.

Відомо декілька ізоферментів слинної альфа-амілази, що відрізняються амінокислотним складом та наявністю залишків вуглеводів. Плазма крові містить дві ізоформи альфа-амілази – слинну (s-тип) та панкреатичну (p-тип) у співвідношенні 45 та 55 % відповідно. Відновлення та алкілування дисульфідних зв'язків у молекулі альфа-амілази призводить до повної втрати ферментативної активності [8]. Припускається, що в активному центрі альфа-амілази містяться залишки гістидину [8] та аспарагінової кислоти [36]. Температурним оптимумом активності ферменту є 37–40 °С. Оптимальне значення рН для активності альфа-амілази коливається в межах 6,7–7,4. Фермент зберігає порівняно високу активність у лужному середовищі, його активність починає поступово знижуватись при рН 9,0. Фермент

¹ Далі в тексті – ротова рідина

інактивується при низьких величинах рН, тому травлення вуглеводів, що почалося в ротовій порожнині, припиняється у кислому середовищі шлунка. Слинна альфа-амілаза не втрачає активності при кімнатній (22 °С) і більш високих температурах (37 °С) до трьох тижнів [10]. Декілька циклів заморожування та розморожування не впливають на активність цього ферменту. Однократне заморожування–розморожування рекомендують для зменшення в'язкості слини, зумовленої наявністю муцинів, з метою підвищення точності відбору піпеткою потрібного об'єму матеріалу [29].

Секреція альфа-амілази

Ацинарні клітини іннервуються як симпатичним, так і парасимпатичним відділами вегетативної нервової системи (ВНС), які, зокрема, контролюють секрецію альфа-амілази. Центр слиновиділення (ретикулярна формація) перебуває під регулюючим впливом кори головного мозку. Нейротрансмітери зв'язуються зі специфічними рецепторними білками біомембрани, викликаючи різке збільшення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} . Це призводить до посилення транспорту рідини й електролітів та помірного вивільнення білків. Показано, що симпатична стимуляція викликає повільну секрецію слини з високою активністю альфа-амілази, тоді як при парасимпатичній стимуляції вміст органічних речовин та активність альфа-амілази в слині є низькими [6]. При комбінованій симпатичній і парасимпатичній стимуляції секреція альфа-амілази набагато вища, ніж при сумі парціальних стимуляцій окремих відділів ВНС. При парасимпатичній стимуляції запас альфа-амілази в ацинарних гранулах набагато швидше відновлюється завдяки її синтезу, ніж при симпатичній стимуляції [5].

Нейромедіатор симпатичних нейронів норадреналін взаємодіє як з альфа-, так і з бета-адренорецепторами ацинарних клітин. Активація альфа-рецепторів пов'язана з підвищенням концентрації внутрішньоклітинного кальцію, тоді як активація бета-рецепторів викликає збільшення концентрації внутрішньоклітинного цАМФ. Це призводить до посиленого виділення секреторних білків, що зберігаються у зв'язаних з мембраною гранулах [7]. У дослідженнях на щурах було виявлено, що стимуляція бета-адренорецепторів збільшує концентрацію альфа-амілази в 30 разів, тоді як стимуляція альфа-адренорецепторів – у 10 разів [35]. Блокатори бета-адренорецепторів зменшують секрецію альфа-амілази [12] та протидіють зростанню активності альфа-амілази, яке відбувається у відповідь на дію стресорних факторів

на організм [31]. Стимуляція симпатичного відділу ВНС антагоністом альфа-2-адренорецепторів йохімбіном значно підвищує активність цього ферменту в ротовій рідині [30].

Альфа-амілаза та адгезія мікроорганізмів до поверхні зуба

Встановлено, що альфа-амілаза входить до складу набутої пелікули зубної емалі й може слугувати акцептором при адгезії мікроорганізмів до поверхні зуба [4]. Фермент *in vitro* стимулює адгезію амілазозв'язуючих бактерій до гідроксиапатиту [33]. Інгібітор альфа-амілази значно знижує частоту карієсу в щурів, яких тримали на дієті з термічно обробленого крохмалю [23]. Доведено існування взаємозв'язку між активністю альфа-амілази та частотою виникнення карієсу. Для цього у зубних бляшках та слині визначали загальну кількість карієсогенних бактерій (*S. salivarius*, *S. mutans*), активність сахарози та альфа-амілази. Єдиною достовірною відмінністю в осіб з високим та низьким рівнями карієсу є активність альфа-амілази, яка була вищою в осіб з високим рівнем карієсу [13].

Вплив деяких факторів на активність альфа-амілази

А. Стать: на даний час відсутні дані про існування відмінностей активності альфа-амілази між чоловіками та жінками, в тому числі за умов гострого стресу збільшення активності альфа-амілази не відрізнялося в осіб обох статей [29, 38].

Б. Вік: базальна активність альфа-амілази майже відсутня у новонароджених, але протягом перших трьох років життя постійно збільшується, досягаючи рівня дорослих [29].

В. Циркадні ритми: активність альфа-амілази значною мірою залежить від часу дня (найвища активність спостерігається пізно ввечері, а найнижча – в ранкові години після пробудження) [11] і обернено відображає концентрацію кортизолу, яка є найнижчою ввечері, а найвищою – після пробудження [28].

Г. Куріння: в літературі наведено суперечливі дані стосовно впливу звичного куріння на активність слинної альфа-амілази [16, 24]. Після вихарювання однієї цигарки активність слинної альфа-амілази у 20 здорових курців обох статей зменшилася на 44 % [17].

Зміни активності слинної альфа-амілази як маркер активності симпатоадреналової осі та психоемоційного стресу

Фізична активність, що супроводжується активацією симпатичної нервової системи, підвищує концентрацію альфа-амілази в ротовій рідині. Оскільки вивільнення слинної альфа-амілази стимулюється активацією автоном-

ної нервової системи, яка контролюється ЦНС, можна очікувати збільшення секреції цього ферменту також під впливом психоемоційного стресу [25]. Перші відомості про вплив стресу на секрецію альфа-амілази з'явилися в кінці 70-х років минулого століття [14], але широкий інтерес до цієї проблеми виник пізніше, після досліджень Chatterton і співавт., які спостерігали підвищення активності альфа-амілази в ротовій рідині у відповідь на низку стресорних подразнень, у тому числі на фізичні навантаження та психоемоційне напруження [32]. В даній роботі порівнювали зміни активності альфа-амілази в ротовій рідині та концентрації норадреналіну й адреналіну в плазмі крові у відповідь на зазначені стресори. Спостерігались значимі позитивні кореляції між досліджуваними параметрами за умов виконання фізичних вправ (відповідно, $r=+0,64$ та $r=+0,49$). Однак за умов психоемоційного стресу дана кореляція була незначною і недостовірною ($r=+0,17$). Всупереч цьому, при визначенні впливу психоемоційного напруження на активність альфа-амілази та вираження різних кардіоваскулярних параметрів, що відображають активність автономної нервової системи, було показано наявність тісного взаємозв'язку [9, 18, 19]. Найвища концентрація альфа-амілази в слині спостерігається відразу після впливу стресорного фактора. Активність ферменту повертається до вихідного рівня через 10–20 хв [15]. Важливо зазначити, що активність слинної альфа-амілази швидше змінюється при гострому стресі, ніж концентрація кортизолу; поріг активації ферменту при фізичній активності нижчий, ніж у кортизолу [29].

Оскільки альфа-амілаза відображає активність симпатичної нервової системи, її визначення пропонується як показник активації симпатoadреналової осі та чутливий біомаркер вираження стресорних змін в організмі. Спостерігали значне збільшення концентрації альфа-амілази в слині після 15-хвилинної "стресорної" відеогри [22]. Концентрація альфа-амілази підвищується під впливом екзаменаційного стресу, не зменшується при повторному впливі стресорного фактора [34]. Такаї і співавт. визначали вплив стресогенного та релаксогенного фільмів на концентрацію кортизолу та альфа-амілази в ротовій рідині. Виявлено, що стресогенний (неприємного змісту) фільм викликав підвищення концентрації як кортизолу, так і альфа-амілази. Натомість, при перегляді релаксогенного фільму зміни концентрації кортизолу в слині не спостерігалося, тоді як концентрація слинної альфа-амілази зменшилась [38].

Стрес – загальна неспецифічна реакція організму на дію надзвичайних подразників (стресорів), що характеризується активацією нейрогуморальних механізмів та зумовленими ними метаболічними і функціональними змінами [2].

Функція слинних залоз виявилась найбільш вдалою моделлю, що дозволила академіку І. П. Павлову на підставі безумовних рефлексів обґрунтувати вчення про умовнорефлекторну діяльність ЦНС. Вирішальна роль слиновидільного рефлексу в аналізі умовних рефлексів дає підстави для обґрунтування тісного взаємозв'язку діяльності слинних залоз і детермінованих станом ЦНС поведінкових реакцій [3].

Враховуючи дані про те, що вміст альфа-амілази у змішаній слині відображає білковосинтетичну функцію слинних залоз, можна вважати, що визначення активності цього ферменту та її змін під впливом стресогенних чинників є адекватним методичним підходом для оцінки типу реагування та стресостійкості організму.

Біомаркери стресу, що відображають гомеостаз ротової рідини, заслуговують на особливу увагу, оскільки їх легко отримувати неінвазивним способом. На відміну від дослідження активності гіпоталамо-гіпофізарно-наднирковозалозної осі, для чого вимірюють концентрацію кортизолу в ротовій рідині, оцінку активності симпатoadреналової осі донедавна проводили шляхом лише електрофізіологічних досліджень та визначення концентрацій катехоламінів у плазмі крові, що потребує складної апаратури та інвазивного втручання – забору зразка крові [28]. Рівень катехоламінів слини не є надійним маркером інтенсивності стресорної реакції організму, оскільки перехід норадреналіну з плазми крові в ротову рідину займає близько однієї години [20].

У дослідженнях Такаї і співавт. підвищення активності слинної альфа-амілази у відповідь на психоемоційні подразники було більш вираженим та спостерігалося значно раніше, ніж підвищення концентрації кортизолу в слині [39]. Це дало змогу авторам припустити, що зміна активності слинної альфа-амілази є кращим показником реакції організму на психоемоційний стрес порівняно з кортизолом. Крім того, даний фермент більш зручний для оцінки стресорних реакцій, тому що збільшення активності альфа-амілази, викликане психосоціальним стресом, не залежить від швидкості секреції слини [39].

Таким чином, слину альфа-амілазу можна розглядати як маркер активності симпатичної нервової системи, що є одним із провідних компонентів стресреалізуючої системи, а також як об'єктивний індикатор стресорних змін в організмі.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Денисов А. Б. Слюнные железы. Слюна / А. Б. Денисов. – М. : Изд-во РАМН, 2003. – 136 с.
2. Слюнные железы (биохимия, физиология, клинические аспекты) [Л. М. Тарасенко, Г. А. Суханова, В. П. Мищенко и др.]. – Томск : Изд-во НТЛ, 2002. – 124 с.
3. Тарасенко Л. М. Слюнные железы и слюна как чувствительные объекты исследования стрессоустойчивости организма (обзор собственных исследований, к 100-летию открытия условного рефлекса) / Л. М. Тарасенко, К. С. Непорада, Т. А. Петрушанко // Укр. стоматол. альманах. – 2004. – № 5–6. – С. 31–34.
4. Al-Hashimi I. Characterization of *in vivo* salivary-derived enamel pellicle / I. Al-Hashimi, M. J. Levine. // Arch. Oral Biol. – 1989. – № 34. – P. 289–295.
5. Asking B. Parasympathetic activation of amylase secretion in the intact and sympathetically denervated rat parotid gland / B. Asking, G. B. Proctor // Q. J. Exp. Physiol. – 1989. – № 74. – P. 45–52.
6. Asking B. Sympathetic stimulation of amylase secretion during a parasympathetic background activity in the rat parotid gland / B. Asking // Acta. Physiol. Scand. – 1985. – № 124. – P. 535–542.
7. Castle D. Intracellular transport and secretion of salivary proteins / D. Castle, A. Castle // Crit. Rev. Oral Biol. Med. – 1998. – № 9. – P. 4–22.
8. Characterisation of salivary β -amylase binding to *Streptococcus sanguis* / F. A. Scannapieco, E. J. Bergey, M. S. Reddy [et al.] // Infect. Immun. – 1989. – № 57. – P. 2853–2863.
9. Cortisol and children's adjustment: the moderating role of sympathetic nervous system activity / M. El-Sheikh, S. A. Erath, J. A. Buckhalt [et al.] // J. Abnorm. Child Psychol. – 2008. – № 36. – P. 601–611.
10. Decaro J. A. Methodological considerations in the use of salivary alpha-amylase as a stress marker in field research / J. A. Decaro // Am. J. Hum. Biol. – 2008. – № 20. – P. 617–619.
11. Determinants of the diurnal course of salivary alpha-amylase / U. M. Nater, N. Rohleder, W. Schlotz [et al.] // Psychoneuroendocrinology. – 2007. – № 32. – P. 392–401.
12. Effects of a beta-blocking agent, timolol maleate, on saliva in healthy volunteers / K. Laurikainen, E. Laurikainen, J. Tenovuori [et al.] // Scand. J. Dent. Res. – 1998. – № 96. – P. 121–127.
13. Fiehn N. E. Streptococci and activities of sucrases and α -amylases in supragingival dental plaque and saliva in three caries activity groups / N. E. Fiehn, V. Oram, D. Moe // Acta Odontol. Scand. – 1986. – № 44. – P. 1–9.
14. Human parotid alpha-amylase secretion as a function of chronic hyperbaric exposure / S. C. Gilman, G. J. Fischer, R. J. Biersner [et al.] // Undersea Biomed. Res. – 1979. – № 6. – P. 303–307.
15. Human salivary alpha-amylase reactivity in a psychosocial stress paradigm / U. M. Nater, N. Rohleder, J. Gaab [et al.] // International Journal of Psychophysiology. – 2005. – № 55. – P. 333–342.
16. Individual differences in salivary cortisol and alpha-amylase in mothers and their infants: relation to tobacco smoke exposure / D. A. Granger, C. Blair, M. Willoughby [et al.] // Dev. Psychobiol. – 2007. – № 49. – P. 692–701.
17. Inhibition of salivary enzymes by cigarette smoke and the protective role of glutathione / B. Zappacosta, S. Persichilli, A. Mordente [et al.] // Hum. Exp. Toxicol. – 2002. – № 21. – P. 7–11.
18. Innate secretory immunity in response to different stresses that evoke distinct patterns of cardiac autonomic activity / J. A. Bosch, E. J. De Geus, E. C. Veerman [et al.] // Psychosom. Med. – 2003. – № 65. – P. 245–258.
19. Integrating the measurement of salivary alpha-amylase into studies of child health, development, and social relationships / D. A. Granger, K. T. Kivlighan, C. Blair [et al.] // J. Pers. Soc. Relat. – 2006. – № 23. – P. 267–290.
20. Kennedy B. Catecholamines in human saliva / B. Kennedy // Life Sci. – 2001. – № 69. – P. 87–99.
21. Mandel I. D. The functions of saliva / I. D. Mandel // J. Dent. Res. – 1987. – № 66. – P. 623–627.
22. Modulation of attentional inhibition by norepinephrine and cortisol after psychological stress / P. D. Skosnik, R. T. Chatterton, T. Swischer [et al.] // Int. J. Psychophysiol. – 2000. – № 36. – P. 59–68.
23. Mormann J. E. Effect of α -amylase and α -glucosidase inhibitors on caries incidence and plaque accumulation in rats / J. E. Mormann, R. Schmid, H. R. Muhlemann. // Caries Res. – 1983. – № 17. – P. 353–356.
24. Nagaya T. No effects of smoking or drinking habits on salivary amylase / T. Nagaya, M. Okuno // Toxicol. Lett. – 1993. – № 66. – P. 257–261.
25. Nater U. M. Salivary alpha-amylase as a non-invasive biomarker for the sympathetic nervous system: Current state of research / U. M. Nater, N. Rohleder. // Psychoneuroendocrinology. – 2009. – № 34. – P. 486–496.
26. Primary structure of human pancreatic α -amylase gene: its comparison with human α -amylase gene / A. M. Horii, N. Emi, T. Tomita [et al.] // Gene – 1987. – № 60. – P. 57–64.
27. Psychological stress as a determinant of protein levels and salivary-induced aggregation of *Streptococcus gordonii* in human whole saliva / J. A. Bosch, H. S. Brand, A. J. Ligtenberg [et al.] // Psychosom. Med. – 1996. – № 58. – P. 374–382.
28. Psychosocial stress-induced activation of salivary alpha-amylase an indicator of sympathetic activity? / N. Rohleder, U. M. Nater, J. M. Wolf [et al.] // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 2004. – № 1032. – P. 258–263.
29. Rohleder N. Determinants of salivary alpha-amylase in humans and methodological considerations / N. Rohleder, U. M. Nater // Psychoneuroendocrinology. – 2009. – № 34. – P. 469–485.
30. Salivary alpha-amylase as a measure of endogenous adrenergic activity / R. T. Chatterton Jr., K. M. Vogelsong, Y. C. Lu [et al.] // Clin. Physiol. – 1996. – № 16. – P. 433–448.
31. Salivary alpha amylase as marker for adrenergic activity during stress: effect of betablockade / A. van Stegeren, N. Rohleder, W. Everaerd [et al.] // Psychoneuroendocrinology. – 2006. – № 31. – P. 137–141.
32. Salivary alpha-amylase levels after yohimbine challenge in healthy men / U. Ehlert, K. Erni, G. Heibisch

[et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2006. – № 91. – P. 5130–5133.

33. Scannapieco F. A. Salivary Alpha-Amylase: Role in Dental Plaque and Caries Formation / F. A. Scannapieco, G. Torres, M. J. Levine // CROBM – 1993. – № 4. – P. 301–307.

34. Schoofs D. Neuroendocrine stress responses to an oral academic examination: no strong influence of sex, repeated participation and personality traits / D. Schoofs, R. Hartmann, O. T. Wolf // Stress. – 2008. – № 11. – P. 52–61.

35. Skov Olsen P. Adrenergic effects on secretion of amylase from the rat salivary glands / P. Skov Olsen, P. Kirkegaard, T. Rasmussen // Digestion – 1988. – № 41. – P. 34–38.

36. Site-directed mutagenesis of a thermostable amylase from *Bacillus stearotherophilus*: putative role

of three conserved residues / M. Vihinen, P. Olikka, J. Niskanen [et al.] // J. Biochem. – 1990. – № 107. – P. 267–272.

37. Structural aspects of salivary glycoproteins / M. J. Levine, M. S. Reddy, L. A. Tabak [et al.] // J. Dent. Res. – 1987. – № 66. – P. 436–441.

38. Takai N. Effect of psychological stress on the salivary cortisol and amylase levels in healthy young adults / N. Takai, M. Yamaguchi, T. Aragaki // Arch. Oral Biol. – 2004. – № 49. – P. 963–968.

39. The psychosocial stress-induced increase of salivary alpha-amylase is independent of saliva flow rate N. Rohleder, J. M. Wolf, E. F. Maldonado [et al.] // Psychophysiology. – 2006. – № 43. – P. 645–652.

40. Zakowski J. J. Biochemistry of human alpha-amylase isoenzymes / J. J. Zakowski, D. E. Bruns // Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. – 1985. – № 21. – P. 283–322.

В. Ю. Цубер, Л. М. Тарасенко

УКРАИНСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ, ПОЛТАВА

СЛЮННАЯ АЛЬФА-АМИЛАЗА КАК МАРКЕР СТРЕССОРНОЙ РЕАКЦИИ ОРГАНИЗМА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Резюме

Проведен анализ литературы, касающейся применения слюнной альфа-амилазы как индикатора психоэмоционального стресса и маркера активности симпатoadреналовой системы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **слюнная альфа-амилаза, ротовая жидкость, психоэмоциональный стресс.**

V. Yu. Tsuber, L. M. Tarasenko

UKRAINIAN MEDICAL STOMATOLOGICAL ACADEMY, POLTAVA

SALIVARY ALPHA-AMYLASE AS A MARKER OF STRESSOR REACTION OF THE ORGANISM (LITERATURE REVIEW)

Summary

A study of literature on application of salivary alpha amylase as an indicator of psychoemotional stress and a marker of activity of the sympatho-adrenal axis, was conducted.

KEY WORDS: **salivary alpha-amylase, whole saliva, psychoemotional stress.**

Отримано 21.04.11

Адреса для листування: В. Ю. Цубер, вул. Степового Фронту, 34, кв. 66, Полтава, 36021, Україна.

УСПІХИ ХІМІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ СЕЧІ В КІНЦІ ХVІІІ–ПЕРШІЙ ТРЕТИНИ ХІХ СТ. У ПАМ'ЯТКАХ МАТЕРІАЛЬНОЇ КУЛЬТУРИ

Розглянуто деякі важливі події в історії медичної хімії в кінці ХVІІІ–першій половині ХІХ ст., прогрес якої був зумовлений розвитком суспільства та природничих наук, перш за все хімії. Використання аналізу органічних речовин, започаткованого Лавуазьє, стало передумовою виділення та вивчення різних органічних компонентів, які містяться в тканинах і рідинах людського тіла. Найбільш цікавим і важливим за досягнутими результатами було вивчення сечі. Статтю проілюстровано пам'ятками матеріальної культури різних країн, які вивчаються допоміжними історичними дисциплінами – нумізматикою та філателією.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **медична хімія, сеча, настільна медаль, поштова марка.**

ВСТУП. Постановка наукової проблеми. Правильне розуміння еволюції наукових ідей, творчої діяльності окремих учених, впливу науки та її представників на розвиток суспільства не можливе без знання історії тієї чи іншої науки, зокрема медичної хімії.

Метою і завданням даного дослідження було відтворити важливі події в розвитку медичної хімії в кінці ХVІІІ–першій половині ХІХ ст. з використанням об'єктів, які вивчаються нумізматикою та філателією, ввести ці об'єкти до наукового обігу та практики викладання як важливі матеріальні джерела історії науки.

Аналіз останніх досліджень з проблеми. Вивчення історії біологічної науки з використанням допоміжних історичних дисциплін (нумізматики, фалеристики, філателії) в історико-науковій літературі спеціально не проводили. Деякі відомості з проблеми, яка висвітлюється, подано в публікації, що стосується медичної урології [2].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. В дослідженні використовували історико-генетичний метод.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Передумовою виділення та вивчення різних органічних компонентів, які містяться в тканинах і рідинах людського тіла, стали створення і застосування аналізу органічних речовин видатним французьким хіміком, одним із засновників сучасної хімії, Антуаном Лораном де Лавуазьє (фр. *Antoine-Laurent de Lavoisier*, 1743–1794).

© В. Ю. Барштейн, 2011.

Серед багатьох медалей, присвячених Лавуазьє, зупинимось на настільній американській медалі (45 мм, бронза, скульптор – *A. Belskie*, The Medallie Art Co., 1970).

Центральну частину аверсу медалі займає рельєфний, погрудний, профільний, повернений на 3/4 ліворуч портрет видатного хіміка (рис. 1). Ліворуч і праворуч від портрета, горизонтально – роки життя “1743” “1794”. Під роком смерті – зображення геральдичної лілії. По краю медального поля кружно напис англійською мовою, зверху: “ANTOINE • LAURENT • LAVOISIER” (АНТУАН • ЛОРАН • ЛАВУАЗЬЄ), знизу: “FRENCH CHEMIST” (ФРАНЦУЗЬКИЙ ХІМІК).



Рис. 1. Антуан Лоран де Лавуазьє. Медаль, аверс (США).

В центрі реверсу медалі (рис. 2) – фігура напівоголеного чоловіка, що дихає, розкинувши руки, на тлі чотирьох фігур, серед яких дру-

гий зліва – Лавуазьє, який сидить, нотуючи результати експерименту з диханням людини. Композиція, обладнання, яке тримають зображені праворуч помічники Лавуазьє, нагадують малюнок дружини вченого Марі Лавуазьє, присвячений вищезазначеному експерименту. Зверху, по краю медального поля, кружно напис: “CARBON • DIOXIDE • EXPERIMENT” (ЕКСПЕРИМЕНТ З ДІОКСИДОМ ВУГЛЕЦЮ). Під композицією – горизонтальний напис: “RESPIRATION” (ДИХАННЯ). Всі написи – англійською мовою.



Рис. 2. Антуан Лоран де Лавуазьє. Медаль, реверс (США).

Лавуазьє розробив правильний підхід до органічного елементарного аналізу. Всі наступні способи аналізу були тільки вдосконаленими варіантами його методики.

Найбільш цікавим та важливим за досягнутими результатами було вивчення сечі.

Ще із середньовіччя зустрічається зображення лікаря, який займається вивченням сечі (уроскопією) за допомогою уроскопа – скляної колби, зазвичай круглої. Візуальне вивчення сечі вважали дуже важливим діагностичним прийомом.

Можемо вважати, що американська медаль із серії “Історія медицини” (39 мм, бронза, пруф, Монетний двір Франкліна, 70-ті роки ХХ ст.) присвячена ранішнім лабораторним клінічним дослідженням. Про це свідчить напис англійською мовою по краю медального поля аверсу (рис. 3), кружно, зверху: “THE EARLY CLINICAL LABORATORY” (ПЕРША КЛІНІЧНА ЛАБОРАТОРІЯ), знизу: “UROSCOPY” (УРОСКОПІЯ). Центральну частину медального поля аверсу займає матоване, рельєфне, багатофігурне зображення: праворуч – поважний лікар, сидячи в кріслі, розглядає склянку із сечею, намагаючись встановити діагноз, ліворуч – четверо хворих, ближче до лікаря – жінка з немовлям, ліворуч зверху – полиця зі склянками.



Рис. 3. Уроскопія. Медаль, аверс (США).

Медальне поле реверсу (рис. 4) розділене вертикально на дві частини: ліва третина – матова, з медичною емблемою – врізаним у медальне поле зображенням змії, яка обвиває посох Асклепія; частина медального поля, що залишилася, – дзеркальна, з матованим написом англійською мовою у вісім рядків: “UROSCOPY / · / THE EXAMINATION / OF URINE IS ONE / OF THE OLDEST / DIAGNOSTIC / PROCEDURES / KNOWN TO MAN.” (УРОСКОПІЯ / · / ДОСЛІДЖЕННЯ / СЕЧІ Є ОДНИМ / З НАЙСТАРІШИХ / ДІАГНОСТИЧНИХ / МЕТОДІВ, / ВІДОМИХ ЛЮДИНІ).

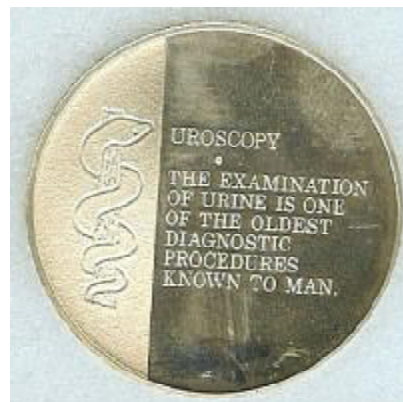


Рис. 4. Уроскопія. Медаль, реверс (США).

Отримані попередниками емпіричні знання про зв'язок змін кольору сечі, прозорості, наявності осаду і муті, навіть її смаку з різними захворюваннями привели багатьох хіміків, деякі з яких були лікарями, до спроб використати хімічні методи для вивчення сечі та її змін при різних патологічних станах [1].

Продовжуючи дослідження попередників, які при ряді захворювань виявили в сечі речовину, що згортається, коагулює, італійський анатом і лікар Доменіко Феліче Антоніо Котуньо (італ. *Domenico Felice Antonio Cotugno*; лат. *Dominicus Cotunnus*, 1736–1822) вперше

встановив, що наявність білка в сечі свідчить про захворювання нирок.

Пам'яті Котуньо присвячена італійська медаль (45,5 мм, мідь, скульптор – *Vincenzo Catenacci*, 1824).

Рельєфний, погрудний, профільний, повернений на 3/4 праворуч портрет вченого розташований у центрі медального поля аверсу (рис. 5). По краю медального поля кружно напис латинською мовою: “DOMINICVS COTVNNIVS” (ДОМЕНІКО КОТУНЬО).



Рис. 5. Доменіко Феліче Антоніо Котуньо. Медаль, аверс (Італія).

Центральну частину реверсу медалі (рис. 6) займає багатофігурна алегорична композиція: в центрі – Мінерва (лат. *Minerva* – римська богиня мудрості, покровителька, серед інших, і лікарів), яка, стоячи, тримає в піднятій лівій руці символ медицини – посох Асклепія, обвитий змією, а правою торкається овального медальйона із зображенням Гіппократа, який тримає в руках ангел, що стоїть навколішки. Праворуч від Мінерви – жіноча фігура, що тримає в правій руці світильник як символ знання, а піднятою лівицею вказує на чоловічу фігуру з оголеними м'язами. По краю медального поля кружно напис латинською мовою: “RERVVM ABDITA MONSTRAT” (ТОЙ, ЩО ДОНО-



Рис. 6. Доменіко Феліче Антоніо Котуньо. Медаль, реверс (Італія).

СИТЬ СОКРОВЕННІ ДУМКИ). Під композицією в центрі реверсу – горизонтальний напис латинською мовою у два рядки: “HIPPOCRATI NEAPOLITANO / MDCCCXXIV” (НЕАПОЛІТАНСЬКИЙ ГІППОКРАТ / 1824). Ще нижче: “P.D.R.M.P.” (*Prospero De Rosa Maestro di Prova*).

Остаточо пов'язав протеїнурію з дисфункцією нирок в 1827 р. англійський лікар Річард Брайт (англ. *Richard Bright*, 1789–1858), якого іноді називають батьком нефрології, тому що він був першим, хто описав клінічні прояви захворювання нирок, відомого як хвороба Брайта, або нефрит.

Брайт нагрів деяку кількість сечі в ложці над полум'ям лампи і спостерігав при цьому згортання білка. В деяких випадках він застосовував для згортання білка азотну кислоту.

Річарду Брайту присвячена американська медаль (45 мм, бронза, скульптор – *A. Belskie*, *The Medallie Art Co.*, 1971), центральну частину аверсу якої займає його рельєфний, погрудний, майже анфас портрет (рис. 7). Ліворуч і праворуч від портрета, горизонтально – роки життя “1789” “1858”. Над роком народження – зображення квітки, ймовірно, геральдичної троянди (символу любові та краси). По краю медального поля кружно напис англійською мовою, зверху: “RICHARD BRIGHT” (РІЧАРД БРАЙТ), знизу: “CLINICAL & MEDICAL INVESTIGATOR” (КЛІНІЧНИЙ ТА МЕДИЧНИЙ ДОСЛІДНИК).



Рис. 7. Річард Брайт. Медаль, аверс (США).

В центрі реверсу медалі (рис. 8) – фігура оголеного чоловіка, який напівлежить на тлі зображення сечоводів і нирок. Зверху, по краю медального поля, кружно напис у два рядки: “BRIGHT'S • DESEASE / KIDNEYS NEHRONS” (ХВОРОБА БРАЙТА / НИРКИ). Під зображенням чоловіка праворуч напис: “NEHRITIS” (НЕФРИТ). Нижче, в центрі, горизонтально – рік “1827”. Знизу, по краю медального поля, кружно у два рядки назви праць Брайта: “REPORTS OF MEDICAL CASES /

DIFFERENTIATION OF RENAL FROM CARDIAC DROPSY” (ОПИСИ МЕДИЧНИХ ВИПАДКІВ / ВІДМІННІСТЬ НИРКОВОЇ ВОДЯНКИ ВІД СЕРЦЕ-ВОЇ). Всі написи – англійською мовою.



Рис. 8. Річард Брайт. Медаль, реверс (США).

Ще одна американська медаль із серії “Історія медицини” (39 мм, бронза, пруф, Монетний двір Франкліна, 70-ті роки ХХ ст.) присвячена Брайту.

Центральну частину медального поля аверсу (рис. 9) займає матоване, рельєфне, багатофігурне зображення: ліворуч – Річард Брайт оглядає хворого, який лежить на ліжку, поряд – таз і глек, праворуч стоять троє колег Брайта, які уважно слухають його пояснення. По краю медального поля кружно напис англійською мовою, зверху: “OUTSTANDING CLINICIAN AND TEACHER” (ВИДАТНИЙ КЛІНІЦИСТ І ВЧИТЕЛЬ), знизу: “BRIGHT” (БРАЙТ).



Рис. 9. Річард Брайт. Медаль, аверс (США).

Медальне поле реверсу (рис. 10) розділене вертикально на дві частини: ліва третина – матова, з медичною емблемою – врізаним у медальне поле зображенням змії, яка обвиває посох Асклепія; частина медального поля, що залишилася, – дзеркальна, з матованим написом англійською мовою у дванадцять рядків: “RICHARD / BRIGHT / 1789 · 1858 / · / BY CAREFUL / OBSERVATION / HE DISCOVERED / PATTERNS OF / KIDNEY DISEASE / THAT NO ONE /

BEFORE HIM / HAD NOTED.” (РІЧАРД / БРАЙТ / 1789 · 1858 / · / В РЕЗУЛЬТАТІ СКРУПУЛЬОЗНИХ / СПОСТЕРЕЖЕНЬ / ВІН ВИЯВИВ / СИМПТОМИ / ХВОРОБИ НИРОК, / ЯКУ НІХТО / ДО НЬОГО / НЕ ПОМІТИВ.).

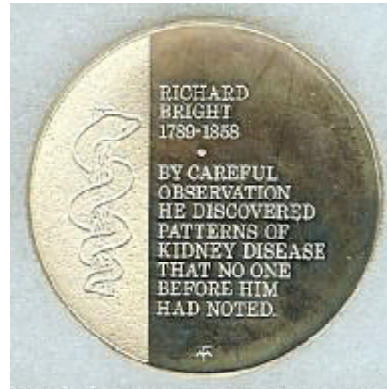


Рис. 10. Річард Брайт. Медаль, реверс (США).

Вивчення одного з улюблених об’єктів аналітичного дослідження хіміків на рубежі ХІХ ст. – сечового каменя дозволило видатному шведському хіміку, за освітою та професією – фармацевту, Карлу Вільгельму Шееле (швед. *Carl Wilhelm Scheele*, 1742–1786) виділити невідому речовину кислої природи, яка реагувала з мінеральними кислотами, але швидко розчинялась у лугах. Цю речовину Шееле виявив і в сечі. Деякий час її називали “кам’яна кислота”.

Шееле присвячена американська медаль (45 мм, бронза, скульптор – *A. Belskie*, The Medallist Art Co., 1970), центральну частину аверсу якої займає його рельєфний, напівпрофільний, повернений на 3/4 праворуч портрет (рис. 11). Ліворуч від портрета – хімічна колба, праворуч – пробірка, з якої виділяється кисень, бо поряд з пробіркою напис: “O₂”. По краю медального поля, кружно ліворуч, зверху та праворуч, напис англійською мовою, зверху: “1742 CARL WILHELM SCHEELE 1786” (1742 КАРЛ ВІЛЬГЕЛЬМ ШЕЕЛЕ 1786), знизу: “CHEMIST” (ХІМІК).



Рис. 11. Карл Вільгельм Шееле. Медаль, аверс (США).

В центрі реверсу медалі (рис. 12) – фігура оголеного чоловіка, який напівлежить, спираючись на праве коліно, тримаючи факел знань у лівій руці і правою відводячи хмари від сонця. По краю медального поля вертикальні написи, ліворуч: “EARTH” (ЗЕМЛЯ), праворуч: “WATER” (ВОДА) та горизонтальний напис знизу: “AIR AND FIRE” (ПОВІТРЯ І ВОГОНЬ). У праці “Хімічний трактат про повітря і вогонь” Шееле описав отримання та властивості “вогняного повітря” і зазначив, що атмосферне повітря складається з двох “видів повітря”: “вогняного” – кисню і “флогістерованого” – азоту. Всі написи – англійською мовою.



Рис. 12. Карл Вільгельм Шееле. Медаль, реверс (США).

“Кам’яною кислотою”, про яку ми згадували вище, зацікавились видатні французькі хіміки Антуан Франсуа де Фуркруа (фр. *Antoine Francois de Fourcroy*, 1755–1809) та Луї Ніколя Воклен (фр. *Louis-Nicolas Vauquelin*, 1763–1829). Вони вивчали не тільки сечові камені, а й сечу людини і тварин. Фуркруа дав нову назву “кам’яній кислоті” – сечова кислота. Разом із Вокленом вони визначили склад сечового каменя, намагаючись знайти спосіб його розчинення. Компонентами сечового каменя виявились сечова та щавлева кислоти, фосфати амонію, кальцію і магнію. В 1799 р. вчені повідомили про результати нових експериментів з вивчення сечі й сечових каменів, виявлення раніше невідомої речовини, яку вони назвали сечовиною. В 1808 р. Фуркруа і Воклен вперше описали отримання чистих препаратів сечовини [1].

Може здатися дивним, але Фуркруа не удостоївся бути увічненим в монетах, медалях, марках тощо. Навіть автор досить цікавої праці, присвяченої урології в поштових марках [2], намагаючись опублікувати щось, присвячене Фуркруа, ймовірно, припустився прикрої помилки – помістив марку НДР із зображенням метелика, якого знайшов інший Фуркруа, в 1758 р., коли герою нашої розповіді було лише 3 роки.

Луї Ніколя Воклену присвячена філателістична продукція Франції, яка побачила світ з нагоди 200-річчя з дня його народження.

Перш за все йдеться про поштову марку (номінал – 30+10 сантимів, художник – *Decaris*, 1963). Ліворуч – портрет ученого, праворуч – мікроскоп та, на задньому плані, обладнання лабораторії (рис. 13).



Рис. 13. Луї Ніколя Воклен. Поштова марка (Франція).

Швейцарський лікар і вчений Жан Луї Прево (фр. *Jean-Louis Prevost*, 1790–1850) та французький хімік Жан Батист Дюма (фр. *Jean-Baptiste Andre Dumas*, 1800 –1884) відкрили наявність сечовини в крові.

50-річчю перебування Жана Батиста Дюма в складі Паризької академії наук присвячена медаль (68 мм, бронза, Паризький монетний двір, 1882), створена відомим скульптором *Alphée Dubois*.

Портрет видатного хіміка, рельєфний, головний, профільний, повернений праворуч, займає центральну частину аверсу медалі (рис. 14). По краю медального поля кружно напис французькою мовою: “J.B.A. DUMAS SECRETAIRE PERPETUEL DE L’ACADEMIE DES SCIENCES” (Ж.Б. ДЮМА ПОСТІЙНИЙ СЕКРЕТАР АКАДЕМІЇ НАУК).



Рис. 14. Жан Батист Дюма. Медаль, аверс (Франція).

Реверс медалі (рис. 15) – текстовий, напис французькою мовою в дев’ять рядків: “A / J.B.A. DUMAS / • / SES CONFRERES / SES

ELEVES / SES AMIS / SES ADMIRATEURS / • / 1832–1882” (Ж.Б. ДЮМА ВІД ЙОГО КОЛЕГ,



Рис. 15. Жан Батист Дюма. Медаль, реверс (Франція).

ЙОГО УЧНІВ, ЙОГО ДРУЗІВ, ЙОГО ШАНУВАЛЬНИКІВ 1832–1882). Дійсно, Дюма став членом академії в 1832 р., а з 1868 р. – її постійним секретарем.

ВИСНОВКИ. Вивчення та введення в науковий обіг пам'яток матеріальної культури – настільних медалей, поштової марки дозволили відтворити яскраві епізоди в історії медичної хімії (дослідження складу сечі, відкриття сечовини і сечової кислоти, наявності сечовини в крові). Ці дослідження та відкриття стимулювали появу ряду гіпотез про процеси утворення сечовини в організмі, пошуки біохімічних шляхів утворення сечі та сечової кислоти.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Шамин А. Н. История биологической химии. Истоки науки [Текст] / А. Н. Шамин. – М. : КомКнига, 2006. – 392 с.

2. Rugendorff Erwin W. Urology & Philately. A Philatelic Ramble through Urology [Текст] / Erwin W. Rugendorff. – New York, NY. – 2005. – 116 p.

В. Ю. Барштейн

ИНСТИТУТ ПИЩЕВОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ И ГЕНОМИКИ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК УКРАИНЫ, КИЕВ

УСПЕХИ ХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ МОЧИ В КОНЦЕ XVIII–ПЕРВОЙ ТРЕТИ XIX СТ. В ПАМЯТНИКАХ МАТЕРИАЛЬНОЙ КУЛЬТУРЫ

Резюме

Рассмотрены некоторые важные события в истории медицинской химии в конце XVIII–первой половине XIX в., прогресс которой был обусловлен развитием общества и естественных наук, в первую очередь химии. Использование анализа органических веществ, созданного Лавуазье, стало предпосылкой выделения и изучения различных органических компонентов, содержащихся в тканях и жидкостях человеческого тела. Наиболее интересным и важным по достигнутым результатам было изучение мочи. Статья проиллюстрирована памятниками материальной культуры разных стран, которые изучаются вспомогательными историческими дисциплинами – нумизматикой и филателией.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: медицинская химия, моча, настольная медаль, почтовая марка.

V. Yu. Barshteyn

INSTITUTE OF FOOD BIOTECHNOLOGY AND GENOMICS OF NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV

SUCCESSES OF URINE CHEMICAL RESEARCHES AT THE END OF XVIII AND IN THE FIRST THIRD OF XIX CENTURY IN THE MONUMENTS OF MATERIAL CULTURE

Summary

Some important events in the history of medical chemistry at the end of XVIII and in the first third of XIX century, progress of which was conditioned by the development of society and natural sciences, above all – the chemistry, are considered. The use of organic matters analysis, which was created by Lavoisier, became the precondition of selection and study of different organic components, contained in fabrics and liquids of human body. The most interesting and important by the obtained results was a study of the urine. The article is illustrated by the monuments of material culture of different countries which are studied by the auxiliary historical disciplines: by numismatics and philately.

KEY WORDS: medical chemistry, urine, art medal, postage stamp.

Отримано 19.09.11

Адреса для листування: В. Ю. Барштейн, вул. Пушкінська, 11, кв. 19, Київ, 01034, Україна.

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕННЯ СТАТЕЙ

1. Стаття повинна мати відношення установи з рекомендацією до друку та підписом керівника установи і експертний висновок про можливість відкритої публікації, які завірені печаткою. Під текстом статті обов'язкові підписи всіх авторів та наукового керівника роботи. Особливо необхідно вказати науковий ступінь і вчене звання кожного автора, а також прізвище, ім'я, по батькові, адресу (в тому числі електронну), телефон і факс автора, з яким можна вести листування і переговори.

2. Статтю треба друкувати на одному боці аркуша формату А4 (210×297 мм), 1800–2000 друкованих знаків на сторінці, українською мовою. Надсилати необхідно 2 примірники статті.

3. Обсяг оригінальної статті, включаючи таблиці, рисунки, список літератури, резюме, не повинен перевищувати 8 сторінок, обсяг проблемної статті, огляду літератури, лекції – 12 сторінок, короткого повідомлення, рецензії – 5 сторінок.

4. Матеріал необхідно готувати на комп'ютері за стандартом IBM. Електронний варіант статті надсилати на дискеті 3,5". Текст треба набирати у програмі WORD 6,0 або будь-якої вищої версії, рисунки готувати у форматах JPG, TIF, CDR. Для формул бажано використовувати вбудований у WORD редактор формул.

5. Статті треба писати за такою схемою: УДК, ініціали і прізвища авторів, повна назва установи (великими літерами), назва роботи (великими літерами), резюме українською мовою, ключові слова українською мовою, вступ, методи дослідження, результати й обговорення, висновки, список літератури, ініціали і прізвища авторів російською мовою, повна назва установи російською мовою (великими літерами), назва статті російською мовою (великими літерами), резюме російською мовою, ключові слова російською мовою, ініціали і прізвища авторів англійською мовою, повна назва установи англійською мовою (великими літерами), назва статті англійською мовою (великими літерами), резюме англійською мовою, ключові слова англійською мовою.

Текст статті (опис оригінальних та експериментальних досліджень) має бути побудований таким чином:

- постановка проблеми у загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями;
- аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання даної проблеми і на які спирається автор; виділення невирішених раніше частин загальної проблеми, котрим присвячується означена стаття;
- формулювання цілей статті (постановка завдання);
- виклад основного матеріалу дослідження з повним обґрунтуванням отриманих наукових результатів;
- висновки з даного дослідження і перспективи подальших досліджень у даному напрямку.

Кожен із цих розділів потрібно виділити.

6. Ілюстрації до статті (діаграми, графіки, фотографії) треба надсилати у двох примірниках. На звороті кожної ілюстрації необхідно вказати номер, прізвища авторів і відмітки "Верх", "Низ". У підписах до мікрофотографій вказувати збільшення і метод фарбування матеріалу. Фотографії повинні бути контрастними, рисунки – чіткими. Таблиці повинні мати короткі заголовки і власну нумерацію. Відтворення одного і того ж матеріалу у вигляді таблиць і рисунків не допускається.

7. Усі позначення мір (одиниці різних величин, цифрові дані клінічних і лабораторних досліджень) необхідно подавати відповідно до Міжнародної системи одиниць (СІ) згідно з вимогами групи стандартів ДСТУ 3651-97 "Одиниці фізичних величин". Назви фірм, реактивів і препаратів наводити в оригінальній транскрипції.

8. В описі експериментальних досліджень слід вказувати вид, стать, кількість тварин, методи анестезії при маніпуляціях, пов'язаних із завданням тваринам болю, метод умертвіння їх. Обов'язковою умовою є гуманне ставлення до тварин при проведенні експериментів.

9. У тексті статті при посиланні на публікацію слід зазначити її номер згідно зі списком літератури у квадратних дужках.

10. До статті необхідно додати список літератури, надрукований на окремому аркуші. Джерела друкувати за алфавітом.

Приклади бібліографічних посилань.

– посилання на книги:

1. Мосіяшенко В. А. Українська етнопедогогіка : навч. посіб. / В. А. Мосіяшенко. – Суми : Унів. кн., 2005. – 174 с.
2. Методика нормування ресурсів для виробництва продукції рослинництва / [Вітвіцький В. В., Кисляченко М. Ф., Лобастов І. В., Нечипорук А. А.]. – К. : НДІ "Укрупромпродуктивність", 2006. – 106 с.
3. Механізація переробної галузі агропромислового комплексу / О. В. Гвоздев, Ф. Ю. Ялпачик, Ю. П. Рогач, М. М. Сердюк. – К. : Вища освіта, 2006. – 478 с.
4. Теоретичні основи державного земельного кадастру : навч. посіб. / [Ступень М. Г., Гулько Р. Й., Микула О. Я. та ін.]; за заг. ред. М. Г. Ступеня. – Львів : Априорі, 2003. – 341 с.

– посилання на статті:

1. Ма Шуїн. Проблеми психологічної підготовки в системі фізкультурної освіти / Ма Шуїн // Теорія та методика фізичного виховання. – 2007. – № 5. – С. 12–14.
2. Регіональні особливості смертності населення України / Л. А. Чепелевська, Р. О. Моїсеєнко, Г. І. Баторшина [та ін.] // Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України. – 2007. – № 1. – С. 25–29.

– посилання на тези доповідей:

1. Бай Г. Вплив виробничої діяльності АТ "Галичфарм" на атмосферне повітря / Г. Бай // Студентська молодь і науковий прогрес в АПК : Міжнар. студент. наук. форум, 24-25 вер. 2008 р. : тези доп. – Львів, 2008. – С. 3.

– посилання на патенти, авторські свідоцтва:

1. Пат. 2187888 Российская Федерация, МПК⁷ Н 04 В 1/38, Н 04 J 13/00. Приемопередающее устройство / Чугаева В. И. ; заявитель и патентообладатель Воронеж. науч.-исслед. ин-т связи. – № 2000131736/09 ; заявл. 18.12.00 ; опубл. 20.08.02, Бюл. № 23 (II ч.).
2. А. с. 1007970 СССР, МКИ⁷ В 25 J 15/00. Устройства для захвата неориентированных деталей типа валов / В. С. Ваулин, В. Г. Кемайкин (СССР). – № 3360585/25-08 ; заявл. 23.11.81 ; опубл. 30.03.83, Бюл. № 12.

– посилання на дисертації і автореферати дисертацій:

1. Петров П. П. Активність молодих зірок сонячної маси : дис. ... доктора фіз.-мат. наук : 01.03.02 / Петров Петро Петрович. – К., 2005. – 276 с.
2. Новосад І. Я. Технологічне забезпечення виготовлення секцій робочих органів гнучких гвинтових конвеєрів : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. техн. наук / І. Я. Новосад. – Тернопіль, 2007. – 20 с.

11. Редакція виправляє термінологічні та стилістичні помилки, усуває зайві ілюстрації, при потребі скорочує текст.

12. Статті, оформлені без дотримання наведених правил, не реєструються. У першу чергу друкуються статті передплатників журналу, а також матеріали, що замовлені редакцією.

13. Автор несе повну відповідальність за достовірність даних, наведених у статті й списку літератури.

14. Публікація статей платна. Вартість – 33 грн за 2000 знаків. Оплата здійснюється після рецензування статті.

15. Статті треба відсилати за адресою: Редакція журналу "Медична хімія", видавництво Тернопільського державного

медичного університету імені І. Я. Горбачевського, майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.