

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**УКРАЇНСЬКИЙ  
БІОФАРМАЦЕВТИЧНИЙ  
ЖУРНАЛ**

**УКРАИНСКИЙ  
БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ  
ЖУРНАЛ**

**UKRAINIAN  
BIOPHARMACEUTICAL  
JOURNAL**

Том I, №3. – 2009

Харків  
ПП «Фармітек»

**Редакційна колегія:**

Бондарь В.С., Березнякова А.І., Яковлева Л.В. (*заступник головного редактора*), Безуглий В.М., Вороніна Л.М., Гладченко О.М., Ковальов В.М., Гризодуб А.І., Гриценко І.С. (*науковий консультант*), Дедух Н.В., Деримедвідь Л.В., Дикий І.Л., Дроговоз С.М., Загайко А.Л. (*відповідальний секретар*), Залюбовська О.І., Зупанець І.А., Кисличенко В.С., Кравченко В.М., Малоштан Л.М. (*головний редактор*), Маслова Н.Ф., Риженко І.М., Таран Т.Г., Самура Б.А., Сахарова Т.С., Стрельніков Л.С., Філімонова Н.І., Черних В.П. (*головний науковий консультант*), Хворост О.П.

**Редакційна рада:**

Гризодуб А.І., Гольцев А.М., Головенко М.Я. (Одеса), Германюк Т.А. (Вінниця), Дев'яткіна Т.О. (Полтава), Краснопольский Ю.М., Лук'янчук В.Д. (Луганськ), Мамчур В.Й. (Днепропетровск), Мікулінський Ю.Ю., Петренко О.Ю., Сеннікова І.Г., Субота Н.П., Чайковський Ю.Б. (Київ), Чекман І.С. (Київ), Корольченко Л.В. (Москва), Сернов Л.М. (Москва)

Черговий випуск журналу присвячений проблемам експериментальної фармакології, фармацевтичної біохімії та фармакогнозії. В статтях представлені результати досліджень з вивчення токсикологічних показників, фармакокінетики та фармакологічної активності різних субстанцій. Наведені матеріали щодо сучасного стану клінічного застосування гепаринів.

Для науковців, лікарів, клінічних провізорів, організаторів системи охорони здоров'я.

Рекомендовано вченою радою Національного фармацевтичного університету (протокол № 10 від 29.05.2009 р.)

Узгоджено ПП «Фармітек»

# *Експериментальна фармакологія*

## **Рецензенти рубрики:**

**Дроговоз С.М.**

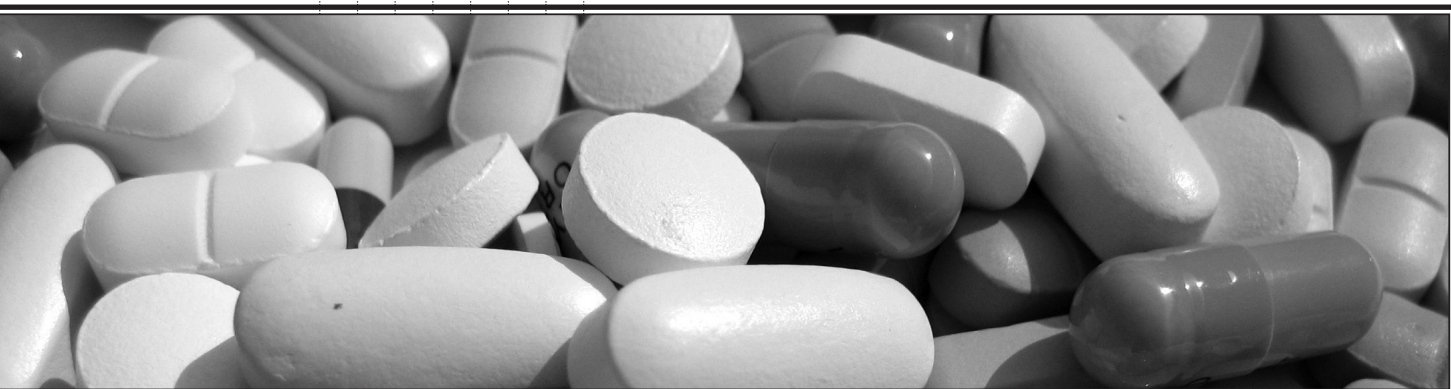
*докт. мед. н., проф.*

**Березнякова А.І.**

*докт. мед. н., проф.*

**Яковлева Л.В.**

*докт. фарм. н., проф.*



УДК: 615.9:615.21

# ТОКСИКОМЕТРИЧНІ ПАРАМЕТРИ ПОТЕНЦІЙНОГО ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРА ВІТІН-1

В. Д. Лук'янчук, О. В. Крилова

*Луганський державний медичний університет, кафедра фармакології**Ключові слова:* координаційна сполука германію, ВІТІН-1, церебропротектор, токсикометрія

*Експериментальні та розрахункові дані токсикометрії свідчать про те, що координаційна германійорганічна сполука з оксиетилідендифосфоною кислотою та пірацетамом не представляє особливої небезпеки для теплокровних тварин, в тому числі і для людини.*

## ВСТУП

Цереброваскулярна патологія посідає одне з лідируючих місць у ряді головних причин смертності населення в нашій країні, що визначає її як одну з важливих медичних і соціальних проблем [1]. Разом з високою смертністю соціально вагомими є і наслідки інсультів — розвиток стійкої інвалідності з втратою працездатності, повторних порушень мозкового кровообігу, судинної деменції [10–15].

Однією з головних причин такого стану речей є, в першу чергу, відсутність високоефективних і безпечних лікарських засобів для лікування даної патології. У зв'язку із цим актуальною проблемою сучасної фармакології є дослідження і розробка нових високоефективних засобів фармакотерапії ішемічного інсульту.

Проведеними нами раніше скринінговими дослідженнями на моделі тотальної ішемії головного мозку встановлена виражена протиішемічна активність координаційної сполуки германію з оксиетилідендифосфоною кислотою і пірацетамом (під лабораторним шифром ВІТІН-1) [2], котру було синтезовано співробітниками кафедри загальної хімії та полімерів Одеського національного університету ім. І. І. Мечнікова під керівництвом д. хім. н., професора І. Й. Сейфулліної.

Для оптимального з позиції безпеки застосування нових лікарських засобів необхідно вже на стадії доклінічних досліджень вивчити його токсикологічну характеристику, що дозволить в значній мірі зменшити кількість та інтенсивність проявів побічних реакцій в умовах їх клінічного застосування [3, 9].

У зв'язку із цим, метою даної роботи були визначення і аналіз токсикометричних характеристик потенційного церебропротектору ВІТІН-1 при його внутрішньоочеревинному введенні білим щурам.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Досліди виконані на 32 білих нелінійних щурах масою 200–220 г відповідно до рекомендацій Державного фармакологічного центру (ДФЦ) МОЗ України [4] в лабораторії кафедри фармакології Луганського державного медичного університету (ЛДМУ), що сертифікована ДФЦ для проведення доклінічних досліджень потенційних ліків (Свідоцтво № 07 від 29.09.2005 р.). Германійорганічну сполуку вводили внутрішньоочеревинно одноразово у вигляді 10 % водного розчину у різних дозах. У кожній групі використано по 8 щурів. Параметри гострої токсичності ВІТІН-1 ( $LD_{16}$ ,  $LD_{50}$ ,  $LD_{84}$  і  $LD_{99}$ ) визначали методом пробіт-аналізу кривих летальності, а лінеаризацію отриманих даних проводили методом найменших квадратів [5]. Для максимально повної токсикометричної оцінки сполуки, що вивчається, обчислювали наступні показники безпеки: величина зворотна середньолетальної дози (абсолютна токсичність) —  $1/LD_{50}$ , діапазон смертельних доз (зона гострої токсичної дії) —  $LD_{84}/LD_{16}$ , функція кута нахилу (варіабельність смертельних доз) —  $S$ , сумарний показник токсичності —  $1/(LD_{50} \cdot s)$ , тангенс кута нахилу кривої летальності —  $tg \alpha$ , а також інтегральний показник токсичності —  $1/LD_{50} \cdot tg \alpha$ . Екстраполяцію на людину токсикометричних параметрів, отриманих в експерименті, проводили методом [6] з використанням констант біологічної активності.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На підставі отриманих в експерименті даних про відсоток загибелі тварин залежно від вели-

**В. Д. Лук'янчук** — завідувач кафедри фармакології Луганського медичного університету, д. м. н., проф.

**О. В. Крилова** — сполукувач кафедри фармакології Луганського медичного університету

чин доз ВІТІН-1, наведених в таблиці 1, побудована крива летальності в координатах «Пробіти — доза (мг/кг)» (див. рис. 1). Отримані при цьому дані використані як базові для подальшого обчислення таких основних параметрів токсичності, як  $LD_{16}$ ,  $LD_{50}$ ,  $LD_{84}$ ,  $LD_{99}$ , які представлені в таблиці 2. Як відомо, головним з точки зору інформативності показником токсичності будь-якого ксенобіотика є статистично найбільш точна величина, що призводить до загибелі 50% піддослідних тварин ( $LD_{50}$ ).

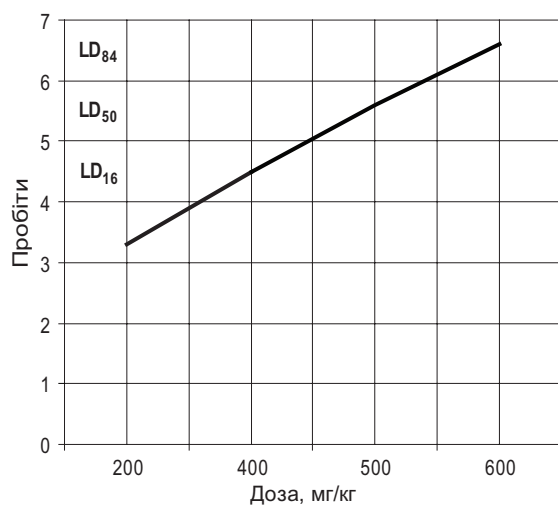
Оцінюючи міру токсичності аналізованого потенційного церебропротектора ВІТІН-1, відповідно до класифікації К.К. Сидорова [7], яка передбачає розділення речовин на класи залежно від величин їх середньосмертельних доз і шляхів введення в організм, ВІТІН-1 належить до IV класу токсичності, тобто до малотоксичних речовин,

**Таблиця 1**
**ЗАЛЕЖНІСТЬ ЗАГИБЕЛІ ТВАРИН  
ВІД ДОЗ ВІТІН-1, ЩО ВВОДЯТЬСЯ**

Доза ВІТІН-1, мг/кг	Загибель тварин, %
200	0
400	32,5
500	62,5
600	100,0

**Таблиця 2**
**ПАРАМЕТРИ ГОСТРОЇ  
ТОКСИЧНОСТІ (МГ/ КГ) ВІТІН-1  
ДЛЯ БІЛИХ ЩУРІВ ПРИ ОДНОРАЗОВОМУ  
ВНУТРІШНЬООЧЕРЕВИННОМУ ВВЕДЕННІ**

Стат. показник	$LD_{16}$	$LD_{50}$	$LD_{84}$	$LD_{99}$
$M \pm m$	$320,65 \pm 30,55$	$439,31 \pm 41,95$	$557,96 \pm 30,96$	$617,29 \pm 34,24$


**Рис. 1.** Крива летальності білих щурів в умовах одноразового внутрішньоочеревинного введення ВІТІН-1

що дозволяє говорити про відносну безпечність даного майбутнього лікарського засобу.

Аналізуючи отримані значення параметрів токсичності ВІТІН-1 у порівняльному аспекті, є підстави констатувати вельми значний інтервал між їх абсолютними величинами, про що наочно свідчать дані, наведені на рис. 2. Отже, зона токсичної дії ВІТІН-1 має вельми значну широту навіть за умов внутрішньоочеревинного введення, яке, як відомо, прирівнюється до внутрішньовенного у людей. Цей факт є одним з найбільш важливих, що обумовлює відносну безпеку координаційної сполуки германію, яка вивчається.

Результати комплексного визначення параметрів гострої токсичності дозволяють вже на першому етапі доклінічних досліджень судити про те, що потенційні ліки, що вивчаються, є відносно безпечними у токсикологічному відношенні. Слід зазначити, що встановлені в експерименті параметри гострої токсичності ВІТІН-1 вже на даному етапі доклінічного дослідження дозволяють отримати необхідну інформацію про співвідношення «ризик-користь» і прогнозувати при його медичному застосуванні можливості розвитку побічних реакцій токсичного генезу.

Наразі неможливо судити про небезпеку оригінальної хімічної сполуки лише за величинами параметрів токсичності. Тому надалі нами було розраховано ряд токсикометричних параметрів, які дозволяють характеризувати ксенобіотик, який вивчається, з точки зору його потенційної і реальної небезпеки у виникненні і розвитку гострого смертельного отруєння. Отримані при цьому дані наведені в таблиці 3.

Аналіз отриманих параметрів небезпеки дозволяє констатувати, що абсолютна токсичність ВІТІН-1 порівняно низька і складає 0,0031 мг/кг, при діапазоні смертельних доз 1,27. Варіабельність смертельних доз (функція кута нахилу), значення якої в разі внутрішньоочеревинного введення ВІТІН-1 складає менше 2, на думку І. В. Саноцького та І. П. Уланової [8], вказує на досить низьку міру небезпеки і токсичності досліджуваної сполуки в умовах, що моделюються. Крім того, отримані в експерименті величини сумарного і інтегрального показників токсичності свідчать про те, що ВІТІН-1 не має високої потенційної й, тим більше, реальної небезпеки виникнення і розвитку смертельного отруєння в умовах інтраперитонеального введення.

Таким чином, із вищезазначеного витікає, що отримані величини параметрів потенційної і реальної небезпеки виникнення і розвитку гострого смертельного отруєння ВІТІН-1 при його одноразовому внутрішньоочеревинному введенні

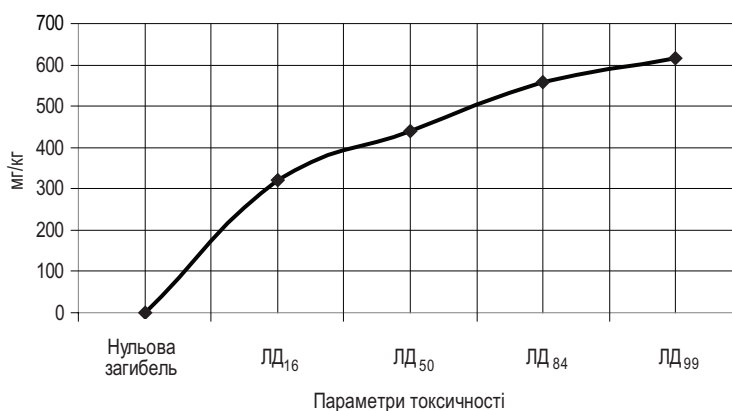


Рис. 2. Графічне зображення параметрів токсичності (мг/кг) ВІТІН-1 в умовах експерименту

Таблиця 3

**ПАРАМЕТРИ, ЩО ХАРАКТЕРИЗУЮТЬ ПОТЕНЦІЙНУ І РЕАЛЬНУ НЕБЕЗПЕКУ  
ВИНИКНЕННЯ ГОСТРОГО СМЕРТЕЛЬНОГО ОТРУЄННЯ ВІТІН-1 В УМОВАХ ЙОГО  
ОДНОРАЗОВОГО ВНУТРІШНЬООЧЕРЕВИННОГО ВВЕДЕННЯ В ОРГАНІЗМ ЩУРІВ**

$1/LD_{50}$	$LD_{84}/LD_{16}$	$tg \alpha$	$1/LD_{50} \cdot tg \alpha$	$S = ((LD_{84}/LD_{50}) + (LD_{50}/LD_{16}))/2$	$1/(LD_{50} \cdot S)$
0,0031	1,2701	0,0084	0,000019	1,32	0,0017

ні білим щурам, дозволяють стверджувати, що дана координаційна сполука відносно безпечна.

Для більш поглибленого та достатньо всебічного вивчення параметрів токсикометрії потенційного церебропротектора була проведена екстраполяція токсичних доз ВІТІН-1, отриманих в експерименті на людині з використанням констант біологічної активності. Визначені для людини такі параметри токсичності ВІТІН-1, як  $LD_{16}$ ,  $LD_{84}$ ,  $LD_{50}$  і  $LD_{99}$ , що використані як початкові вже для обчислення показників небезпеки розвитку гострого смертельного отруєння координаційної сполуки германію, що вивчається, для людини в умовах внутрішньовенного введення.

Аналіз даних, наведених в таблиці 4, дозволяє судити про досить низьку вірогідність токсичної дії церебропротектора для людини в умовах його раціонального застосування.

Таблиця 4

**ПАРАМЕТРИ ТОКСИЧНОСТІ  
(МГ/КГ) ВІТІН-1 ДЛЯ ЛЮДИНИ, ЩО  
ОТРИМАНІ МЕТОДОМ ЕКСТРАПОЛЯЦІЇ  
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДАНИХ**

Стат. показник	$LD_{16}$	$LD_{50}$	$LD_{84}$	$LD_{99}$
$M \pm m$	$50,49 \pm 4,81$	$69,17 \pm 6,60$	$87,86 \pm 8,38$	$97,19 \pm 34,24$

сичної дії церебропротектора для людини в умовах його раціонального застосування.

Подальша оцінка параметрів небезпеки ВІТІН-1, таких як абсолютна токсичність, сумарний показник токсичності, високе значення зони гострої токсичної дії, отриманих розрахунковим методом, наведених в таблиці 5, також вказує на відносну безпеку даної координаційної сполуки для людини.

Таким чином, на підставі отриманих експериментальних і розрахункових даних токсикометрії можна дійти висновку, що германійорганічна сполука ВІТІН-1 при її одноразовому внутрішньочеревиному (внутрішньовенному) введенні є малотоксичною і практично безпечною у токсикологічному відношенні для теплокровних, у тому числі і для людини, в плані виникнення і розвитку гострих отруєнь.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ  
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

- Бурчинський С. Метаболічна стратегія в терапії ішемії головного мозку/Бурчинський С. // Ліки. — 2005. — № 6. — С. 82–83
- Лукьянчук В. Д., Крылова Е. В., Сейфуллина И. Й. Скрининг церебропротекторів в ря-

Таблиця 5

**ПАРАМЕТРИ НЕБЕЗПЕКИ ВІТІН-1 ДЛЯ ЛЮДИНИ,  
ЩО ОТРИМАНІ НА ОСНОВІ ЕКСТРАПОЛЯЦІЇ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДАНИХ**

Стат. показник	$1/LD_{50}$	$LD_{84}/LD_{16}$	S	$1/LD_{50} \cdot S$	$tg \alpha$	$1/LD_{50} \cdot tg \alpha$
M	0,01445	1,74	1,32	0,01095	0,0084	1,7210

- ду новых координационных соединений германия с комплексонами и гидроксикарбоновыми кислотами на модели тотальной ишемии головного мозга/Лукьянчук В. Д., Крылова Е. В., Сейфуллина И. Й и др.//Журнал экстремальной медицины им. Г.О. Можаяева. — 2008. — Т. 9, № 4. — С. 123–126
3. Лукьянчук В. Д. Токсикометрия лекарственных средств на доклиническом этапе: состояние проблемы, дискуссионные аспекты (обзор литературы)/Лукьянчук В. Д.//Современные проблемы токсикологии. — 1998. — № 2. — С. 12–14
  4. Доклинические исследования лекарственных средств: Методические рекомендации/Под ред. член-кор. АМН Украины А. В. Стефанова. — К., 2002. — 567 с.
  5. Прозоровский В. Б. Использование метода наименьших квадратов для пробит-анализа кривых летальности/Прозоровский В. Б.//Фармакология и токсикология. — 1962. — Т. 23, № 1. — С. 115–120
  6. Рыболовлев Ю. Р., Рыболовлев Р. С. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности//Журнал АН СССР. — 1979. — Т. 247, № 6. — С. 1513–1516
  7. Сидоров К. К. Токсикология новых промышленных химических веществ/Сидоров К. К.; М.: Медицина, 1973. — Вып. 3. — 47 с.
  8. Саноцкий И. В., Уланова И. Г. Критерии вредности в гигиене и токсикологии при оценке опасности химических соединений. — М.: Медицина, 1975. — 343 с.
  9. Hodgson E., Levi P. E. Textbook of modern toxicology. — Appleton and Lang, 1998. — 496 p.
  10. Stroke patterns in cardio-embolic infarction in a population — based study/Urbinelli R., Bolard P., Lemesle M. [et. al]//Neurology Res. — 2001. — Vol. 23. — P. 309–314
  11. Hachinski V Proclamation: world Stroke Day. Stroke: a preventable and treatable catastrophe. Materials of the World Stroke Congress, Vancouver, 2005; 6
  12. Muir K. W. Heterogeneity of Stroke pathophysiology and neuroprotective clinical trial design/Muir K. W.//Stroke. — 2002. — Vol. 33. — P. 1545–1550
  13. Global and region burden of disease and risk factors, 2001: systemic analysis of population health data/Lopez A. D., Ezzati M. [et. al]//Lancet/ — 2006. — Vol. 367. — P. 1747–1757
  14. Pasgulin A Epidemiology and pathophysiology of cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage/Pasgulin A.//J Neurosurg. Sci. — 1998. — Vol. 42, № 1, Suppl 1. — P. 15–21
  15. Grande P O Pathophysiology of brain insult. Therapeutic implications with the Lund Concept. Schweiz. Med. Wochenschr., 2000, 130 (42): P. 1538–1543

### УДК: 615.9: 615.21

#### ТОКСИКОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРА ВИТИН-1

Лукьянчук В. Д., Крылова О. В.

**Ключевые слова:** координационное соединение германия, ВИТИН-1, церебропротектор, токсикометрия

Экспериментальные и расчетные данные токсикометрии свидетельствуют о том, что координационное германийорганическое соединение с оксиэтилидендифосфоновой кислотой и парацетамом не представляет особой опасности для теплокровных животных, в том числе и для человека.

### UDC: 615.9: 615.21

#### TOXICOMETRICAL CHARACTERISTIC OF POTENTIAL CEREBRAL PROTECTOR VITIN-1

V. D. Lukjanchuk, O. V. Krylova

**Key words:** coordination germaniumorganic compound, VITIN-1, cerebroprotector, toxicometry.

As a result of the conducted experimental and calculations information of toxicometrical of coordination germaniumorganic compound with oxyetilidendiphosfonic acid and pyracetamum its possible to re-done a conclusion, does not represent the special danger for warm-blooded animals and also man.

Адреса для листування:  
91045, м. Луганськ, кв. 50-ліття Оборони Луганська, 1,  
ЛугДМУ, кафедра фармакології  
Тел.: 8(0642)63-02-77

Надійшла до редакції: 20.01.2009 р.

УДК: 615.212.4: 615.015.3

## ВИВЧЕННЯ ДОЗОЗАЛЕЖНИХ ЖАРОЗНИЖУЮЧИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ НОВОГО ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

Г. О. СИРОВА

*Харківський національний медичний університет**Ключові слова: жарознижуючі властивості, доза, «Мігрепін»*

*Проведено вивчення на щурах специфічної (жарознижуючої) активності нового вітчизняного лікарського засобу «Мігрепін» в різних дозах (0,1 мг/кг, 1 мг/кг, 5 мг/кг, 12,5 мг/кг, 20 мг/кг). Препарат проявляє високу жарознижуючу активність в умовах «молочної» лихоманки в дозах 5 мг/кг, 12,5 мг/кг, 20 мг/кг — на рівні диклофенак-натрію (5 мг/кг). Одержані дані свідчать про перспективу застосування лікарського засобу при лихоманці, гіпертермії.*

### ВСТУП

Жарознижуючі властивості відомих лікарських засобів використовуються при патологічних станах, які супроводжуються гіпертермією, лихоманкою. Існує значний арсенал лікарських засобів, які мають жарознижуючі властивості. Особливо виділяються нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ), які мають жарознижуючу, протизапальну, анальгетичну активність [8–14]. Але ризик побічних реакцій (гастро-, нефро-, нейро-, гепатотоксичність, шкірні прояви, гіперчутливість) обмежують коло пацієнтів [8, 15, 6].

Попередні дослідження нового вітчизняного лікарського засобу під кодовою назвою «Мігрепін» показали його низьку гостру (ДЛ50 для мишей складає 2,9 г/кг, для щурів — 6 г/кг; згідно з класифікацією Сидорова К.К. відноситься до IV класу токсичності — малотоксичні речовини) і хронічну токсичність [4, 7], а також високу специфічну (протибольову, протизапальну, протисудомну) активність [5, 6].

Тому метою роботи було продовжити вивчення специфічної дії нового вітчизняного лікарського засобу «Мігрепін». Основним предметом досліджень було вивчення жарознижуючої дії «Мігрепіну» в різних дозах. Практичною метою дослідження був пошук оптимальних жарознижуючих доз.

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Фармакологічні дослідження проведено на 42 білих статевозрілих щурах лінії WAG

Г. О. Сирова — доцент кафедри фармакології та медичної рецептури Харківського національного медичного університету, к. фарм. н., доцент

обох статей з масою 180–300 г, яких було вирощено у експериментально-біологічній клініці ХНМУ. Тварини знаходилися в стандартних умовах на стандартном раціоні відповідно до санітарно-гігієнічних норм. Досліди на тваринах проводили відповідно до правил «Європейської Конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986).

Для вивчення жарознижуючої дії були застосовані скринінгові дослідження різних доз «Мігрепіну», який було введено одноразово внутрішньошлунково у вигляді завису на 3% крохмальному слизу (табл. 1.). Жарознижуюча активність «Мігрепіну» оцінювалася за його здатністю виявляти гіпотермічну дію у щурів на фоні «молочної» лихоманки. В якості білкового пірогена використовували прокип'ячене і підігріте до 37–40°С коров'яче молоко, яке вводили внутрішньом'язово у розрахунок 0,5 мл на 100,0 маси тварини [3]. На фоні максимального підвищення температури вводили «Мігрепін» (лікувальне введення). Реєстрацію ректальної температури проводили в динаміці електротермометром ТПЕМ-1 протягом трьох годин після введення препарату та через добу. Піддослідних тварин було розподілено на 7 груп по 6 щурів у кожній.

Статистичну обробку отриманих даних проводили загальноприйнятими методами [2].

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

«Молочна» лихоманка у щурів виявляється через підвищення температури тіла (38,8–39,2°С), максимальне підвищення температури спостерігається на 4-ій годині. Гіпертермія зберігається



Таблиця 1

## РОЗПОДІЛ ПІДДОСЛІДНИХ ТВАРИН ПО ГРУПАХ

№ групи	Умови дослідю	
1	Контроль	3 % крохмальний слиз
2	Препарат порівняння (Диклофенак-натрій, 5 мг/кг)	у вигляді завису на 3 % крохмальному слизу
3	«Мігрепін», 0,1 мг/кг	
4	«Мігрепін», 1 мг/кг	
5	«Мігрепін», 5 мг/кг	
6	«Мігрепін», 12,5 мг/кг	
7	«Мігрепін», 20 мг/кг	

Таблиця 2

## ЖАРОЗНИЖУЮЧА АКТИВНІСТЬ «МІГРЕПІНУ» В УМОВАХ «МОЛОЧНОЇ» ЛИХОМАНКИ

Показник, що вивчається	Контроль	Диклофенак-натрій	«Мігрепін» 0,1 мг/кг	«Мігрепін» 1 мг/кг	«Мігрепін» 5 мг/кг	«Мігрепін» 12,5 мг/кг	«Мігрепін» 20 мг/кг
Вихідна температура ( $T_{вих}$ )	37,0±0,1	37,0±0,2	37,1±0,1	37,2±0,1	37,2±0,2	37,1±0,1	37,1±0,1
Температура через 4 години ( $T_4$ )	39,0±0,1*	39,2±0,1*	39,2±0,1*	39,2±0,1*	39,2±0,1*	38,8±0,2*	39,2±0,1*
Температура через 1 годину після препарату ( $T_1$ )	38,9±0,2**	38,0±0,1*	38,1±0,1*	38,1±0,1*	38,0±0,1*	37,9±0,1*	37,9±0,1*
Температура через 2 години після препарату ( $T_2$ )	38,7±0,1*##	37,6±0,1*#	37,9±0,2*#	37,9±0,1*#	37,6±0,1*#	37,4±0,1*#	37,4±0,1*#
Температура через 3 години після препарату ( $T_3$ )	38,6±0,2**×	37,4±0,1*×	37,9±0,2*×	37,8±0,1*×	37,3±0,1*	37,3±0,1*	37,2±0,1*
Кінцева температура ( $T_к$ )	37,1±0,1	36,9±0,1	37,2±0,1	37,2±0,1	37,1±0,2	37,1±0,1	37,1±0,1

- \* — Різниця статистично вірогідна з контролем (по  $T_4$ );
- \*\* — Різниця статистично вірогідна з диклофенак-натрієм (по  $T_4$ );
- — Різниця статистично вірогідна з контролем (по  $T_1$ );
- .. — Різниця статистично вірогідна з диклофенак-натрієм (по  $T_1$ );
- # — Різниця статистично вірогідна з контролем (по  $T_2$ );
- ## — Різниця статистично вірогідна з диклофенак-натрієм (по  $T_2$ );
- × — Різниця статистично вірогідна з контролем (по  $T_3$ );
- ×× — Різниця статистично вірогідна з диклофенак-натрієм (по  $T_3$ ).

в контрольній групі протягом 7 годин спостереження, знижуючись до  $37,1 \pm 0,10^\circ\text{C}$  в кінці дослідю (через добу). Зниження температури тіла під впливом диклофенак-натрію до  $38,0 \pm 0,10^\circ\text{C}$  відзначено вже через годину після його введення. Аналогічні дані одержані в дослідях з «Мігрепіном» (в дозах 5 мг/кг, 12,5 мг/кг, 20 мг/кг). Через 3 години після лікування спостерігається нормалізація температури і під впливом дослідних доз «Мігрепіну», і під впливом диклофенак-натрію. Результати досліджень наведені у таблиці 2.

Як видно з таблиці 2, введення пірогену сприяє статистично вірогідному підвищенню температури ( $T_4$ ) у щурів дослідних груп. У контрольній групі спостерігається гіпертермічна реакція ще протягом 3-х годин, а нормалізація температури спостерігається наприкінці дослідю.

Аналіз динаміки жарознижуючої активності «Мігрепіну» і диклофенак-натрію при лікувальному введенні показав, що гіпотермічна дія починається вже через одну годину після введення, максимальна активність «Мігрепіну» спостерігається через три години. Виявлено, що «Мігрепін» і диклофенак-натрію в дослідних дозах знижують температуру тіла щурів на 3–5 %.

Максимальну гіпотермічну дію виявляє «Мігрепін» у дозі 20 мг/кг і максимальна активність спостерігається через дві години після введення.

Таким чином, в результаті проведеного доклінічного дослідження встановлена жарознижуюча активність різних доз «Мігрепіну» при лікувальному введенні на моделі «молочної» лихоманки у щурів. Як видно з таблиці 3, «Мігрепіну» в дозах 5 мг/кг, 12,5 мг/кг,

Таблиця 3

**ДИНАМІКА ЖАРОЗНИЖУВАЛЬНОЇ ДІЇ «МІГРЕПІНУ»**

Умови досліджу	Диклофенак-натрій	«Мігрепін» 0,1 мг/кг	«Мігрепін» 1 мг/кг	«Мігрепін» 5 мг/кг	«Мігрепін» 12,5 мг/кг	«Мігрепін» 20 мг/кг
Відсоток пригнічення температури через 1 годину після введення препарату	3 %	3 %	3 %	4 %	3 %	4 %
Відсоток пригнічення температури через 2 години після введення препарату	4 %	4 %	4 %	4 %	4 %	5 %
Відсоток пригнічення температури через 3 години після введення препарату	5 %	4 %	4 %	5 %	4 %	5 %

20 мг/кг властива жарознижуюча дія на рівні диклофенак-натрію.

**ВИСНОВКИ**

1. Проведено вивчення на щурах специфічної (жарознижуючої) активності нового вітчизняного лікарського засобу «Мігрепін» в різних дозах (0,1 мг/кг, 1 мг/кг, 5 мг/кг, 12,5 мг/кг, 20 мг/кг, 0,6 г/кг) на моделі «молочної» лихоманки.
2. «Мігрепін» проявляє високу жарознижуючу активність в дозах 5 мг/кг, 12,5 мг/кг, 20 мг/кг на рівні диклофенак-натрію (5 мг/кг).

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ  
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Брагин Е. О. Нейрохимические механизмы регуляции болевой чувствительности. М.: Издательство УДН, 1991. — С. 41–42.
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика/пер. сангл. — М.: Практика, 1998. — 459 с.
3. Дроговоз С. М., Зупанець І. А., Мохорт М. А., Яковлева Л. В. та ін. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації)/за редакцією член-кор. АМН України О. В. Стефанова. — К.: Авіцена, 2001. — С. 292–306.
4. Звягінцева Т. В., Киричок Л. Т., Сирова Г. О., Миронченко С. І. та ін. //Медична хімія. — 2008. — Т. 10, № 1. — С. 59–62.
5. Звягінцева Т. В., Киричок Л. Т., Сырвая А. О., Трутаев И. В. и др. //Материалы III съезда фармакологов России «Фармакология — практическому здравоохранению», 2007. — Т. 7. Специальный выпуск. Часть 1. — С. 1703.

6. Звягінцева Т. В., Киричок Л. Т., Сирова Г. О., Трутаев И. В. та ін. //Фармакологія та лікарська токсикологія. — 2008. — № 1. — С. 102–105.
7. Звягінцева Т. В., Киричок Л. Т., Сирова Г. О., Трутаев И. В. та ін. //Медична хімія. — 2008. — Т. 10, № 2. — С. 83–86.
8. Мохорт М. А., Яковлева Л. В., Шаповал О. М. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації)/за редакцією член-кор. АМН України О. В. Стефанова. — К.: Авіцена, 2001. — С. 307–320.
9. Сигидин Я. А., Шварц Г. Я., Авимащев А. П., Либберман С. С. Экспериментальная и клиническая фармакология противовоспалительных препаратов. М.: Медицина, 1988. — 240 с.
10. Чернов Ю. Н., Батишева Г. А., Васин М. В. //Фармакологія и токсикологія. — 1990. — Т. 53, № 4. — С. 64–71.
11. Catella-Lawson F. //Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. — 1999. — N289. — P. 735–741.
12. Jannedohloand E-L, Yue Q-Y. //Medical Products Agency. — 2000. — N11. — P. 74–77
13. Kolaczowska E. //Cell Biology. — 2002. — N 29. — P. 533–554.
14. Kolaczowska E. //Cell Biology. — 2002. — N 29. — P. 555–578.
15. Vane J. R., Bakhle Y. S., Botting R. M. //Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. — 1998. — N38. — P. 97–120.
16. Van Wanwe J. P., Goossens J. G. //Agents and actions. — 1999. — V.88, N1/2. — P. 78–82

**УДК: 615.212.4: 615.015.3**

**ИЗУЧЕНИЕ ДОЗОЗАВИСИМЫХ ЖАРОПОНИЖАЮЩИХ  
СВОЙСТВ НОВОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА**

**А. О. Сырвая**

*Ключевые слова:* жаропонижающие свойства, доза, «Мигрепин»

Проведено изучение на крысах специфической (жаропонижающей) активности нового отечественного лекарственного препарата «Мигрепин» в различных дозах (0,1 мг/кг, 1 мг/кг, 5 мг/кг, 12,5 мг/кг, 20 мг/кг). Установлено, что изучаемый препарат проявляет высокую жаропонижающую активность в условиях «молочной» лихорадки в дозах 5 мг/кг, 12,5 мг/кг, 20 мг/кг — на уровне диклофенак-натрия (5 мг/кг).

Полученные данные свидетельствуют о перспективе применения нового лекарственного средства при лихорадке, гипертермии.

**UDC: 615.212.4: 615.015.3**

**INVESTIGATION OF DOSEDEPENDENT FEVER REDUCE  
PROPERTIES OF NEW MEDICAL PREPARATION**

**G. O. Sirova**

*Key words:* antypiric properties, doze, «Migrepine».

Investigation of specific fever reduce activity by new Ukrainian drug «Migrepin» in different doses (0,1 mg/kg, 1 mg/kg, 5 mg/kg, 12,5 mg/kg, 20 mg/kg) was produced on rats.

It was shown that the preparation has hight fever reduce activity in conditions of «milk» fever in dose of 5 mg/kg, 12,5 mg/kg, 20 mg/kg on the same level of diclofenak-Natrium (5 mg/kg).

Taken data confirm perspective of new drug using against fever and hight temperature.

*Адреса для листування:*

61022, м. Харків, пр. Леніна, 4,  
Кафедра фармакології та медичної рецептури ХНМУ

Надійшла до редакції: 02.02.2009 р.

УДК 615.917: 547.281.2

## ОСОБЛИВОСТІ ФАРМАКОКІНЕТИКИ ПОХІДНОГО КАЛІКС[4]АРЕНУ ЗА РІЗНИХ УМОВ ВВЕДЕННЯ БІЛИМ МИШАМ

М. Я. Головенко, Н. В. Шнейдер, І. Ю. Борисюк

*Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України, м. Одеса**Ключові слова: п-трет-бутилкалікс [4]арен, що містить залишки етанолу, транзит вздовш шлунково-кишкового тракту, всмоктування, лімфатична система*

*На самцях білих мишей досліджена фармакокінетика [14C]-5,11,17,23-тетра-третбутил-25,27-біс [(метоксикарбоніл) етокси]-26,28-дигідроксикалікс[4]арену при пероральному та внутрішньоочеревинному введенні в дозі 100 мг/кг. Встановлено, що при пероральному введенні сполука не всмоктується в шлунково-кишковому тракті (ШКТ), а транзитом переміщується вздовш нього та екскретується. Експериментально доведена можливість калікс [4]арену реабсорбуватися з системного кровообігу в ШКТ при його внутрішньоочеревинному введенні. Розраховані фармакокінетичні параметри кінетики транспорту речовини в кров.*

### ВСТУП

Каліксарени — макроциклічні сполуки, що є продуктами циклічної олігомеризації фенолу з формальдегідом. Класичний каліксарен вміщує верхній, центральний, кільцевий та нижній обід, що утворюються трет-бутильними замісниками в пара-положенні та ароматичними ареновими фрагментами, а також гідрокси- або алкоксизамісниками в нижньому положенні макроцикла відповідно. Зазначені структурні фрагменти формують внутрішню порожнину молекули, об'єм якої становить 10 кубічних ангстрем [5]. Завдяки такій будові каліксарени знайшли широке використання в різних галузях науки і техніки. Так, в аналітичній хімії на базі каліксаренових платформ синтезовано рецептори для селективного та/або групового екстрагування лужних, лужно-земельних та перехідних металів [7].

В біохімії каліксарени використовуються як міметики ферментів, за допомогою яких є можливість моделювати складні ферментативні процеси [6].

Останнім часом особлива увага приділяється зазначеним структурам в медико-біологічних дослідженнях. Серед низки каліксаренів знайдено перспективні похідні, що мають іонофорні, мембранотропні, антитромботичні та антивірусні властивості [4]. На жаль, для всіх них відсутні відомості, які характеризують їх фармакокінетичні властивості. Зазначимо, що на долю фармакокінетичних показників припадає більш ніж 40% невдач, пов'язаних із розробкою та впровадженням у медичну практику інноваційних лікарських засобів [2].

Виходячи з цього, метою нашого дослідження було вивчення деяких фармакокінетичних параметрів нової структури: 5,11,17,23-тетра-третбутил-25,27-біс [(метоксикарбоніл) етокси]-26,28-дигідроксикалікс [4]арен (I).

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження були проведені на статевозрілих самцях мишей масою 20–24 г із дотриманням міжнародних та національних біоетичних рекомендацій. Тварини одержували внутрішньоочеревинно та перорально розчин сполуки (14C-I) у твіновій емульсії в дозі 100 мг/кг. Її

**М. Я. Головенко** — завідувач відділу фізико-хімічної фармакології Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України, Академік АМН України, д. б. н., проф.

**Н. В. Шнейдер** — аспірант відділу фізико-хімічної фармакології Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України

**І. Ю. Борисюк** — молодший науковий співробітник відділу фізико-хімічної фармакології Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України, к. б. н.

величина була тотожною біологічно активним сполукам зазначеної дії [4]. Через певний час (0,25; 0,5; 1; 2; 4 та 6 год.) тварин декапітували під легким ефірним наркозом. Кров збирали у гепаринізовані пробірки для подальшого визначення концентрації препарату у плазмі. Окрім того, відокремлювали деякі відділи шлунково-кишкового тракту (ШКТ). Визначення вмісту радіоактивного матеріалу в крові (4 тис. об./хв., 15 хв.) проводили, відбираючи аліквоту (0,2 см<sup>3</sup>) плазми в сцинтиляційні флакони та додавши 0,5–1 см<sup>3</sup> Тритону X-100 і 10 см<sup>3</sup> толуольно-спиртового сцинтилятора. Вміст радіоактивного матеріалу у відділах ШКТ (шлунок, тонка, товста і пряма кишки) проводили після їх попереднього розчинення 1 см<sup>3</sup> мурашиною кислотою на водяній бані (об'єм аліквоти, що відбирається, складав 0,2 см<sup>3</sup>). Кількість радіоактивного матеріалу в пробах визначали на рідинному сцинтиляційному фотометрі Canberra PACKARD TRI CARB 2700. Розрахунки вели в імп/хв. г (мл). Отримані дані були оброблені за допомогою статистичного пакету програм MS Excel.

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз експериментальних результатів розподілу <sup>14</sup>C-сполуки в різних відділах ШКТ після її перорального введення приведено на рис.1. Найвища концентрація загального радіоактивного матеріалу на початку експозиції (0,5 год.) відмічена у шлунку і тонкій кишці, а потім протягом 1–6 год. зменшується (шлунок). Щодо тонкої кишки, то в цій частині ШКТ спостерігається наявність другого піку концентрації, що припадає на 6-ту годину дослідження. Найбільше накопичується <sup>14</sup>C-I в товстій кишці і найменше — у прямій, що,

очевидно, пов'язано із значною екскрецією сполуки цим шляхом.

Незвичайним в цій серії дослідів було те, що в плазмі крові та деяких органах (печінка, нирки, селезінка, серце, мозок) нами не знайдено достовірної кількості радіоактивного матеріалу. Все це свідчить про те, що при пероральному введенні <sup>14</sup>C-I не всмоктується в кровоносну систему білих мишей. На нашу думку, для пояснення такого явища може бути, принаймні, декілька чинників. По-перше, сполука транзитом перетинає ШКТ і в незмінному вигляді екскретується з організму. По-друге, наявність у речовини або її метаболітів реакційноздатних груп сприяє взаємодії з відповідними макромолекулярними структурами ШКТ з утворенням комплексів та накопиченням їх у різних відділах кишечника. Не виключена можливість участі в процесі всмоктування лімфатичної системи. Відомо, що більшість лікарських засобів всмоктуються в ШКТ і крізь воротну вену досягають печінки. Для деяких з них спостерігається пресистемна елімінація, що призводить до утворення відповідних метаболітів. Належна біодоступність препаратів визначається їх фізико-хімічними властивостями, що відображаються в «правилі п'яти» [3], тобто їх молекулярна маса має бути меншою 500,  $\log \leq 5$ , кількість донорів протонів та акцепторів повинна становити  $\leq 5$  та  $\leq 10$  відповідно. Сполуки, що не вміщуються в зазначений ранг, мають низьку біодоступність ( $F < 5\%$ ).

Особливим чинником, що впливає на процес всмоктування, а звідси і на біодоступність, є ліпофільність ( $\log P$ ). Якщо цей показник є вищим ніж 5, деякі сполуки транспортуються в організмі за допомогою лімфатичної системи, що має

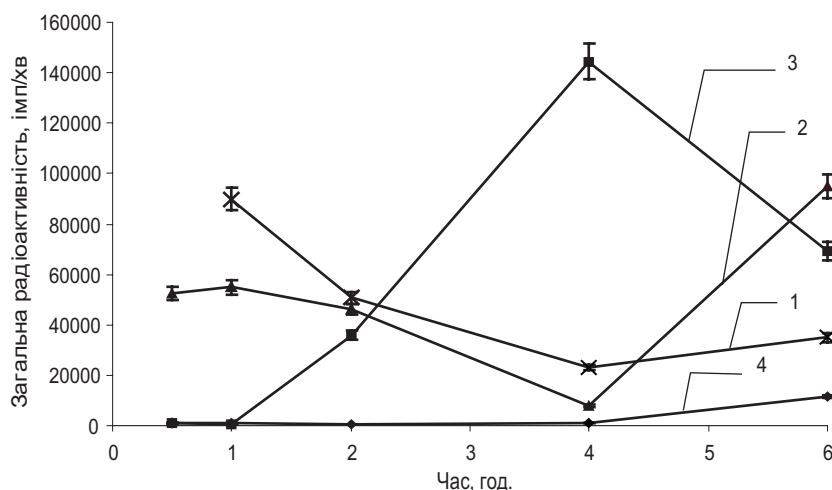


Рис. 1. Вміст загального радіоактивного матеріалу у відділах шлунково-кишкового тракту (1 — шлунок, 2 — тонка кишка, 3 — товста кишка, 4 — пряма кишка) при пероральному введенні 100 мг/кг сполуки

свої вузли в ШКТ (особливо, в шлунку та тонкій кишці). Утворюючи комплекси з хіломікронами (клас ліпопротеїнів), в тонкій кишці лікарські засоби секретуються в лімфатичні судини. Аналіз фізико-хімічних властивостей I показав наступні параметри ( $M. m. 824,2$ ;  $\log P 14,77$ ;  $PSA 142 \text{ \AA}^2$ ), що свідчить про можливість такого шляху всмоктування. В той же час, відсутність радіоактивного матеріалу, наприклад, в печінці, де локалізована значна частина лімфатичних вузлів і яку ми відбирали для аналізу, викликає деяку невпевненість в наших аргументах.

Представлені результати (рис. 1) свідчать про ще один незвичайний факт, що спростовує деякі традиційні біофармацевтичні погляди. Вважається [1], що тривалість знаходження лікарської сполуки у відповідному відсіку ШКТ визначає його як основний в процесах всмоктування, тобто є «абсорбційним вікном». На прикладі I ми бачимо виключення в зазначеній концепції.

При внутрішньоочеревинному введенні I (рис. 2) всмоктування у плазму крові відбу-

вається досить повільно і максимум концентрації загального радіоактивного матеріалу досягається через годину досліджу, а подальше зниження концентрації свідчить про значний розподіл у організмі мишей. Наші розрахунки показали (табл. 1), що константа всмоктування складає 0,579, а константа елімінації — 0,229. Окрім того, спостерігається двофазовий характер процесу елімінації з крові, де швидка її фаза триває приблизно 1 годину. Разом з тим значні величини кінетичного об'єму розподілу, що складає 2000 мл/кг, загального кліренсу ( $239 \pm 36$  мл/год · кг) є наслідком більш швидкого обміну в печінці, завдяки ефекту пресистемної елімінації.

Наявність відповідних концентрацій I та її метаболітів в окремих ділянках ШКТ в умовах внутрішньоочеревинного введення вихідної сполуки дозволило нам припустити можливість реабсорбції. Таке явище може мати місце у тому випадку, коли речовина здатна повторно всмоктуватись (реабсорбція) або для неї характерна кишково-печінкова циркуляція. Теоретично

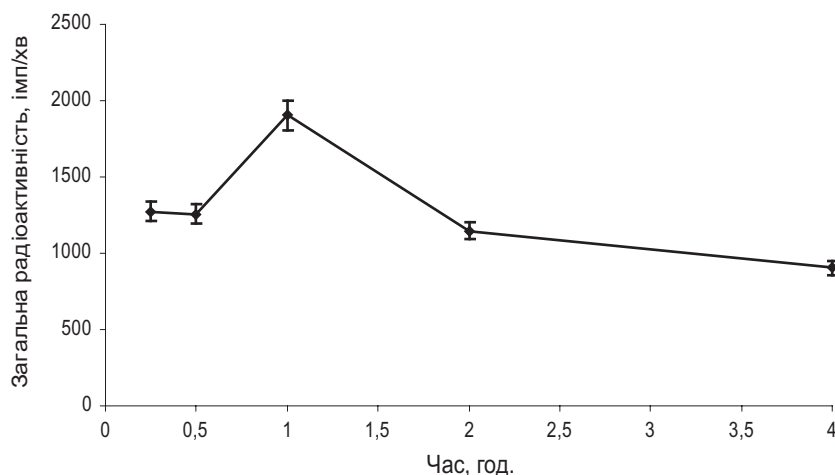
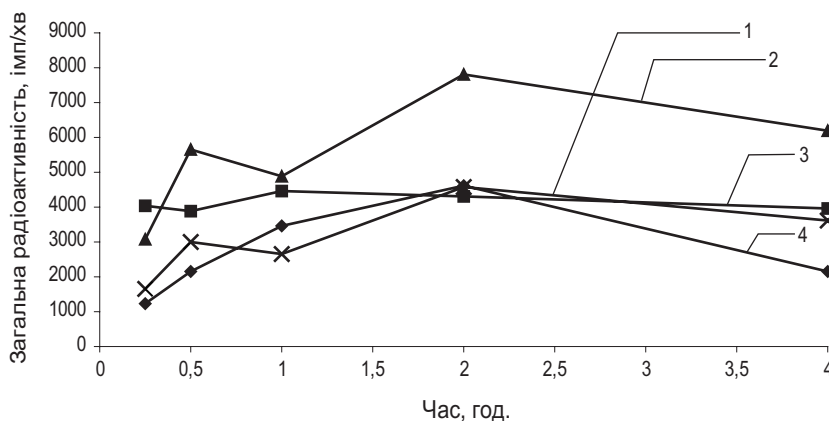


Рис. 2. Вміст загального радіоактивного матеріалу у плазмі крові при внутрішньоочеревинному введенні 100 мг/кг сполуки

Таблиця 1

**КІНЕТИЧНІ ПАРАМЕТРИ ТРАНСПОРТУ  $^{14}C$ -I  
В СИСТЕМІ ШКТ-КРОВ ПРИ ВНУТРІШНЬООЧЕРЕВИННОМУ ВВЕДЕННІ**

Фармакокінетичний параметр	
Константа швидкості всмоктування, $k_{абс}$ .	0,579
Константа швидкості елімінації, $k_{ел}$ .	0,229
Кінетичний об'єм розподілу, $V$ , мл/кг	$2000 \pm 89$
Загальний кліренс, $Cl$ , мл/год · кг	$239 \pm 36$
Площа під кривою, $AUC_{0-t}$ , мкмоль/мл · год.	$156 \pm 34$
Площа під кривою, $AUMC_{0-t}$ , мкмоль/мл · год.	$293 \pm 25$
Середній час утримання, $MRT$ , год.	$8,36 \pm 0,52$



**Рис. 3.** Вміст загального радіоактивного матеріалу у відділах шлунково-кишкового тракту (1 — шлунок, 2 — тонка кишка, 3 — товста кишка, 4 — пряма кишка) при внутрішньоочеревинному введенні 100 мг/кг сполуки

розраховано і практично доведено [1], що повторне всмоктування може мати місце в тому випадку, коли різниця концентраційного градієнту в плазмі крові буде значно перевищувати аналогічний показник в порожнині ШКТ, що відповідає закону Фіка для дифузійних процесів. Цей факт має місце і у нашому випадку при внутрішньоочеревинному введенні.

Визначення вмісту загального радіоактивного матеріалу в тканинах ШКТ продемонструвало (рис. 3) значну його наявність в тонкій, товстій кишках та дещо нижче значення відповідно у шлунку та прямій кишці.

#### ВИСНОВКИ

1. За умов перорального введення похідного калікс [4]арену, що вміщує етиловий спирт, спостерігається транзит його вздовж шлунково-кишкового тракту та відсутність всмоктування в системний кровообіг.
2. При внутрішньоочеревинному введенні сполуки її незначна кількість відмічена в плазмі крові та у всіх відділах шлунково-кишкового тракту, що свідчить про реабсорбцію її в напрямі кров → ШКТ.
3. Враховуючи значення похідних калікс [4]арену як біологічно активних речовин, зазначені фармакокінетичні властивості необхідно взяти до відома при плануванні лікарської форми майбутнього препарату.

#### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Головенко М., Борисюк І. Концепція «вікно всмоктування» в загальній фармацевтичній стратегії // Вісник фармакології та фармацевції. — 2008. — № 3. — С. 43–49.
2. Головенко М. Я. Високопродуктивні технології дослідження та створення лікарських засобів. Біофармація та фармакокінетика // Вісник фармакології та фармацевції. — 2002. — № 2. — С. 9–16.
3. Головенко Н. Я. Физико-химическая фармакология. — Одесса: Астропринт, 2004. — 720 с.
4. Кальченко В. І., Робік Р. В., Бойко В. І. Каліксарени. Перспективи, медико-біологічні застосування // Журнал органічної та фармацевтичної хімії, 2005. — Т. 3, вип. 4. — С. 13–29.
5. Asafari Z., Bohmer V., Harrofield J., Vicens J Calixarenes, 2001. — Kluwer Academic Publishers. — 373 p.
6. Coleman A., Perret F., Monsa A., Dapin M., Guo G., Perron H Calix [n]arenes as protein sensors // Top Curr. Chem. — 2007. — 277. — P. 31–88.
7. Lhetak P Anion receptor based calixarenes // Top Curr. Chem. — 2008. — 255. — P. 65–95.

**УДК 615.917: 547.281.2****ОСОБЕННОСТИ ФАРМАКОКИНЕТИКИ ПРОИЗВОДНОГО КАЛИКС [4]АРЕНА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ БЕЛЫМ МЫШАМ**

Н. Я. Головенко, Н. В. Шнейдер, И. Ю. Борисюк

**Ключевые слова:** n-трет-бутилкаликс[4]арен, содержащий остатки этанола, транзит вдоль желудочно-кишечного тракта, всасывание, лимфатическая система

На самцах белых мышей исследована фармакокинетика [14C]-5,11,17,23-тетра-трет-бутил-25,27-бис[(метоксикарбонил) этокси]-26,28-дигидроксикаликс[4]арена при пероральном и внутрибрюшинном введении в дозе 100 мг/кг. Установлено, что при пероральном введении соединение не всасывается в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ), а транзитом перемещается вдоль его и экскретируется. Экспериментально доказана возможность каликс[4]арена реабсорбироваться из системного кровотока в ЖКТ при его внутрибрюшинном введении. Рассчитаны фармакокинетические параметры кинетики транспорта соединения в кровь.

**UDC 615.917:547.281.2****THE PHARMACOKINETICS FEATURES OF CALYX[4]ARENE DERIVATIVE UNDER VARIOUS METHODS OF ADMINISTRATION IN MICE**

N. Ya. Golovenko, N. V. Shneider, I. Yu. Borisyuk

**Key words:** n-tret-buthylcalyx [4] aren containing the ethanol residues, transit lengthways gastro-intestinal tract, absorbtion, lymphatic system

The pharmacokinetics of [14C]-5,11,17,23-tetra-tretbuthyl-25,27-bis[methoxycarbonyl]e thoxy]-26,28 dihydroxycalix[4]arene after oral and intraabdominal administrations in dose 100 mg/kg had been studied. It was found that after oral administration compound doesn't absorbed in the gastrointestinal tract (GIT) while passing through it and excreting. It was experimentally shown the possibility of calyx[4]arene to reabsorb from the system circulation after its intraabdominal administration. The pharmacokinetic parameters for compound transport to blood have been determined.

Адреса для листування:

65080, м. Одеса, Люстдорфська дорога, 86,  
Відділ фізико-хімічної фармакології Фізико-  
хімічного інституту ім. О.В. Богатського  
Тел.: 8(048)766-20-44

Надійшла до редакції: 30.03.2009 р.



УДК 615.212:615.27

## ПОРІВНЯННЯ АНТИЕКСУДАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ СУЧАСНИХ ГЕПАТОПРОТЕКТОРІВ АНТРАЛЯ ТА ТІОТРИАЗОЛІНА

О. В. ГОЛОЛОВОВА, К. Г. ЩОКІНА

*Національний фармацевтичний університет, кафедра фармакології*

*Ключові слова:* запальні захворювання суглобів, антраль, тіотриазолін, карагеніновий набряк, протизапальна активність

*Одним з перспективних напрямків оптимізації протизапальної терапії є пошук серед препаратів різних фармакологічних груп ліків, які мають протизапальні властивості.*

*Тому було цікавим провести порівняльне вивчення протизапальної активності антраля і тіотриазоліна з метою визначення перспектив їх використання в комплексній терапії ревматологічних захворювань.*

*За результатами проведених досліджень, антраль і тіотриазолін на моделі гострого асептичного запалення виявляють протизапальну (антиексудативну) дію, порівняну з аналогічною дією диклофенака натрія.*

*Таким чином, є доцільним рекомендувати включення до складу комплексної терапії запальних захворювань гепатопротектори антраль і тіотриазолін. Це надасть можливість підвищити ефективність лікування, знизити дозу НПЗЗ (в середньому, до 50%), а також забезпечити захист гепатобілярної системи від токсичного впливу НПЗЗ.*

Проблема захворювань ревматологічного профілю посідає одне з провідних місць у сучасній медицині. Незважаючи на значні успіхи, досягнуті в лікуванні ревматичних захворювань, їх фармакотерапія продовжує залишатись одним з найбільш складних питань клінічної медицини [2, 11, 24].

НПЗЗ є препаратами «першого ряду» для лікування запальних захворювань опорно-рухового апарату. Ці препарати приймає кожен сьомий пацієнт, який страждає на ревматичні захворювання, і кожен п'ятий з іншими патологічними станами, асоційованими з болями, запаленням і лихоманкою. НПЗЗ широко застосовуються не лише в ревматології, але і в інших областях медицини (кардіологія, неврологія, онкологія та ін.). Більш ніж тридцять мільйонів людей у світі щоденно приймають НПЗЗ [12, 16].

Незважаючи на безперечну клінічну ефективність, протизапальні засоби належать до групи ліків, для якої характерні так звані «фармакологічні ножиці», тобто крім терапевтичної дії вони мають серйозні побічні ефекти, що часті-

ше за все пов'язано з механізмом їх дії. Навіть короточасний прийом вказаних препаратів у невеликих дозах може призвести до розвитку побічних ефектів, які зустрічаються приблизно в 25% випадків, а у 5% хворих можуть викликати серйозну небезпеку для життя [8, 13, 15, 18, 21, 25, 26]. Особливо високий ризик виникнення побічних ефектів у людей похилого віку, які складають понад 60% споживачів НПЗЗ [14, 19, 23]. Слід також відзначити, що при багатьох захворюваннях існує необхідність тривалого прийому НПЗЗ.

Враховуючи вищенаведене, є актуальним вирішення проблеми зниження токсичності і підвищення безпеки протизапальних препаратів. Саме тому, незважаючи на широкий асортимент протизапальних засобів, постійно триває пошук нових комплексних схем лікування і препаратів з мінімальними побічними ефектами [1, 7, 17, 22].

Одним з перспективних напрямків оптимізації протизапальної терапії є пошук серед препаратів різних фармакологічних груп ліків, які мають протизапальні властивості. Препарати з групи синтетичних гепатопротекторів антраль і тіотриазолін мають доведену протизапальну активність і високий профіль безпеки [4, 5, 6, 7, 9, 10].

К. Г. Щокіна — доцент кафедри фармакології Національного фармацевтичного університету, к. фарм. н.

О. В. Гололобова — магістрант кафедри фармакології Національного фармацевтичного університету

Тому було цікавим провести порівняльне вивчення протизапальної активності антраля і тіотриазоліна з метою визначення перспектив їх використання в комплексній терапії ревматологічних захворювань.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Порівняльне дослідження антиексудативної активності антраля та тіотриазоліну проводилось на моделі карагенінового набряку у щурів [3].

У дослідженні були використані препарати: антраль (виробник «Фармак») і тіотриазолін (виробник «Київмедпрепарат»). Дози препаратів визначали за допомогою коефіцієнту видової стійкості Риболовлева Ю.Р. Препаратом порівняння був обраний стандартний НПЗЗ — диклофенак натрію.

Гостре асептичне запалення відтворювали субплантарним введенням 1 %-вого розчину карагеніну (Sigma, USA) в об'ємі 0,1 мл на одну тварину. Препарати вводили внутрішньошлунково за 1 год. до індукції запалення [4].

В експериментальному дослідженні було використано 20 білих безпородних щурів жіночої статі масою 170–210 г, які були поділені на 4 групи: 1 група — контрольна патологія, тварини, які отримували тільки флогогенний агент; 2 група — тварини, які отримували антраль у дозі 18,5 мг/кг; 3 група — тварини, яким вводили тіотриазолін в дозі 22,5 мг/кг; 4 група — щури, яким вводили препарат порівняння диклофенак в дозі 8 мг/кг.

Оцінку інтенсивності запального процесу проводили за величиною набряку, яка визначалась у динаміці через 1, 2, 3, 4, 5 і 24 год. після введення флогогенного агента. Вимірювання величини набряку лап у щурів проводили за допомогою механічного онкометра.

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження представлені в таблиці 1.

У контрольній групі тварин, яким вводили тільки карагенін, максимум набряку лапи (в 1,4 рази у порівнянні з початковим розміром) був зареєстрований на п'яту годину після введення флогогену. Через 24 години зафіксовано зменшення набряку, але величина лап тварин ще перевищувала початковий розмір у 1,3 рази.

Як показали результати наших досліджень, протягом першої години досліді всі препарати виявили достовірну антиексудативну активність. Найбільшу активність виявив диклофенак натрію (56,3%). Антиексудативна активність антраля і тіотриазоліну незначно поступалась дії референт-препарата та становила 43,8% та 41,7% відповідно. Різниця у протинабряковій дії між цими препаратами була недостовірною.

На другу годину експерименту антиексудативна активність антраля і диклофенаку складала 39,1% та 52,8% відповідно. Введення тіотриазоліну не призвело до достовірного зменшення набряку лап у піддослідних тварин.

До кінця третьої години експерименту всі досліджувані препарати виявили антиексудативну дію, але найвища антиексудативна дія була зафіксована у диклофенака нарію (72,4%). Антиексудативна активність антраля збільшилась (54,1%), активність тіотриазоліну становила 36,7%, що, порівняно з даними на першу годину, знаходилась майже на однаковому рівні.

На четверту годину достовірну активність виявили антраль і диклофенак. Їх активність досягла максимальних значень — 56,7% і 76% відповідно. Тіотриазолін не виявив достовірної протинабрякової дії.

На п'яту годину антиексудативна активність всіх препаратів дещо знизилась і становила у ан-

Таблиця 1

### АНТИЕКСУДАТИВНА АКТИВНІСТЬ АНТРАЛЯ ТА ТІОТРИАЗОЛІНА НА МОДЕЛІ КАРАГЕНІНОВОГО НАБРЯКУ У ЩУРІВ (n = 5)

Групи тварин	Початковий об'єм лапи (в умовних одиницях)	Об'єм лапи (в умовних одиницях)/антиексудативна активність (в %) протягом						
		1 година	2 години	3 години	4 години	5 годин	24 години	Середня (за 24 години)
Контрольна патологія	56,6±1,5	75,8±2,3	74,0±1,9	76,2±1,5	77,4±4,4	79,2±3,8	70,0±1,3	—
Антраль	55,2±1,3	66,0±1,5*	65,8±2,3*	64,2±2,5*	74,2±1,9*	66,0±2,9*	72,8±3,1	40,0
Тіотриазолін	57,6±1,7	68,8±0,6*	71,2±1,1	70,0±1,7*	74,6±2,7**	73,8±1,7*/**	67,6±2,3	28,7
Диклофенак натрію	59,4±2,3	67,8±1,5*	67,6±1,0*	64,8±1,7*	64,4±1,9*	68,6±1,3*	64,0±1,3*	63,8

\* — відхилення показника достовірне по відношенню до контрольної патології,  $p < 0,05$ ;

\*\* — відхилення показника достовірне по відношенню до антраля,  $p < 0,05$ .

траля 52,2%, у тіотриазоліна 28,3%, у диклофенака 59,3%.

Наприкінці експерименту (через 24 години) дія антралю дорівнювала нулю. Імовірно, це пов'язано з фармакокінетикою антралю, який є препаратом короткої дії [4]. Протизапальна дія тіотриазоліну на 24-ту годину була недостовірною та становила 25,4%. Референт-препарат виявив стабільну протинабрякову активність упродовж всього дослідження, через 24 години вона становила 65,7%.

За даними, отриманими в експерименті, ми визначили середню антиексудативну активність (за 24 години) для обраних препаратів, за якою препарати можна розташувати таким чином: диклофенак (63,8%) > антраль (40,0%) > тіотриазолін (28,7%).

### ВИСНОВКИ

За результатами проведених досліджень, антраль і тіотриазолін на моделі гострого асептичного запалення виявляють протизапальну (антиексудативну) дію, порівняну з аналогічною дією диклофенака натрія. За вираженістю протинабрякового ефекту порівнювані препарати можна розташувати так: диклофенак > антраль > тіотриазолін.

За антиексудативною активністю тіотриазолін поступається антралю (40% і 28,7% відповідно), що можна пояснити механізмом дії даних препаратів [11].

Таким чином, є доцільним рекомендувати включення до складу комплексної терапії запальних захворювань гепатопротективні препарати антраль і тіотриазолін. Це надасть можливість підвищити ефективність лікування, знизити дозу НПЗЗ (в середньому, до 50%), а також забезпечити захист гепатобілярної системи від токсичного впливу НПЗЗ.

### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Вікторов О. П., Харченко Н. В., Омельченко Л. І., Ніколаєнко В. Б., Кашуба О. В. Профілактика та фармакотерапія гастропатій, пов'язаних із застосуванням нестероїдних, протизапальних засобів (методичні рекомендації). — Київ. — 2005. — 30 с.
2. Дзяк Г. В., Вікторов А. П., Гришина Е. И. Нестероїдні протизапальні препарати/К.: Морион, 1999. — 122 с.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації/За ред. член-кор. АМН України О. В. Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — 528 с.
4. Отчет о проведении клинических испытаний препарата Антраль. — Кафедра гастроэнтерологии и диетотерапии КМАПО им. П. Л. Шупика, 2002.

5. Подплетняя Е. А. Анальгетическая активность индометацина в комбинации с тиотриазолином при артрозе у крыс/Е. А. Подплетняя//Медицина хімія, Т. 10. — 2008. №2. — С. 75–78.
6. Подплетняя Е. А. Роль кверцетина и тиотриазолина в повышении эффективности НПВС при асептическом воспалении и висцеральной боли у мышей/Е. А. Подплетняя, И. А. Мазур, В. И. Мамчур//Запорожский медицинский журнал. — 2008. — №2. — С. 129–134.
7. Подплетняя Е. А. Экспериментальное обоснование возможности снижения нефро- и гепатотоксичности индометацина с помощью тиотриазолина/Е. А. Подплетняя//Вісник Вінницького національного медичного університету. — 2007. — Т. 11. — №2/1. — С. 520–523.
8. Свинцицкий А. С., Пузанова О. Г. НПВС-гастропатия: состояние проблемы//Здоров'я України. — 2004. — №3 (88). — С. 27–28.
9. Фролов В. М., Григор'єва Г. С. Досвід і перспективи застосування нового препарату Антраль у клінічній практиці//Фармакологічний вісник. — 2000. — №2. — С. 2–5.
10. Харченко Н. В. Порівняльна характеристика сучасних гепатопротекторів//Вісник фармакології та фармації. — 2001. — №3–4. — С. 18–25.
11. Шварц Г. Я. Современные нестероидные противовоспалительные средства. — М.: «Реафарм», 2002. — 40 с.
12. Щекина Е. Г., Дрогозов С. М., Страшный В. В. НПВС — проблемы безопасности//Провизор, 2003. — №4. — С. 8–11.
13. Benin D., Fanos V., Cuzzolin L., Tato L. Inutero exposure to nonsteroidal antiinflammatory drugs: neonatal renal failure//Pediatr. Nephrol. — 2003. — №25. — P. 211–245.
14. Brun J., Jones R. Nonsteroidal anti-inflammatory drug-associated dyspepsia the scale of the problem//Am. J. Med. — 2001. — Vol. 110 (1A). — P. S12–13.
15. Carrillo-Jimenez R., Numberger M. Celecoxib-induced acute pancreatitis and hepatitis: a case report//Ann. Intern. Med. — 2000. — Vol. 160. — №4. — P. 553–554.
16. CSM. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and gastrointestinal (GI) safety//Curr. Probl. Pharmac. — 2002. — №28. — P. 5.
17. Feuba D. A. Gastrointestinal safety and tolerability of non selective nonsteroidal

- antiinflammatory agents and cyclooxygenase 2 selective inhibitors//Cleveland Clinic J. Med. — 2002. — Vol. 69 (Suppl. 10). — P. 31–39.
18. Furst D.E., Zeidler H., Lesaffre E., Degner F., Sigmund R., Bluhmki E Gastrointestinal, cardiovascular, renal and hepatic toxicity of the selective Cox-2 inhibitor meloxicam in a systematic review of 48 studies in 117,755 patients//Ann. Rheum. Dis. — 2002. — № 61 (Suppl 1). — P. 136.
  19. Hawkey C.J. Langman M.J. S Nonsteroidal antiinflammatory drugs: overall risk and management. Complementary roles for COX-2 inhibitors and proton pump inhibitors//Gut. — 2003. — Vol. 52. — P. 600–808.
  20. Laine L., Maller E.S., Yu C., Quan H., Simon T Ulcer formation with low-dose enteric-coated aspirin and the effect of COX-2 selective inhibition: a double-blind trial//Gastroenterology, 2004, Aug. — Vol. 127 (2). — P. 395–402.
  21. Merlani G., Fox M., Ochen H.P. et al. Fatal hepatotoxicity secondary to nimesulide//Clin. Pharmacol, 2001. — № 57. — P. 321–326.
  22. Psaty B. M., Furberg C. D. COX-2 inhibitors — Lessons in drug safety//N Engl J Med. — 2005, Mar 17. — Vol. 352 (11). — P. 1133–1135.
  23. Smecuol E., Bai J.C., Sugai E. et al. Acute gastrointestinal permeability responses to different non-steroidal anti-inflammatory drugs//Gut. — 2001. — Vol. 49 (5). — P. 650–655.
  24. Warner T.D., Mitchell J.A. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic//FASEB J. — 2004, May. — Vol. 18 (7). — P. 790–804.
  25. Weir M.R. Renal effects of nonselective NSAIDs and coxibs//Cleveland Clin J Med. — 2002. — Vol. 69 (suppl. 1). — P. S1 53–58.
  26. Wolfe M., Lichtenstein D., Sinhg G Gastrointestinal toxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs//New Engl. J. Med. — 1999. — Vol. 24. — P. 1888–1899.

### УДК 615.212:615.27

#### СРАВНЕНИЕ АНТИЭКССУДАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ СОВРЕМЕННЫХ ГЕПАТОПРОТЕКТОРОВ АНТРАЛЯ И ТИОТРИАЗОЛИНА

Е. В. Гололобова, Е. Г. Щекіна

*Ключевые слова:* воспалительные заболевания суставов, антраль, тиотриазолин, каррагениновый отек, противовоспалительная активность

Одним из перспективных направлений оптимизации противовоспалительной терапии является поиск среди препаратов различных фармакологических групп лекарств, обладающих противовоспалительным действием.

Поэтому представляло интерес провести сравнительное изучение противовоспалительной активности современных гепатопротекторов антраля и тиотриазолина с целью определения перспектив их использования в комплексной терапии ревматологических заболеваний.

По результатам проведенных исследований, антраль и тиотриазолин на модели острого асептического воспаления проявляют противовоспалительное (антиэкссудативное) действие, сравнимое с действием диклофенака натрия.

Таким образом, является целесообразным рекомендовать к включению в состав комплексной терапии ревматических заболеваний гепатопротекторы антраль и тиотриазолин. Это даст возможность повысить эффективность терапии, снизить дозу НПВС (в среднем, на 50%), а также обеспечить защиту гепатобилиарной системы от токсического влияния НПВС.

### UDC 615.212:615.27

#### COMPARISON OF THE ANTIEXUDATIVE ACTIVITY OF THE MODERN HEPATOPROTECTORS ANTRAL AND THYOTRIAZOLIN

E. V. Hololobova, E. H. Shshokina

*Key words:* inflammatory diseases of articulations, antral, thyotriazolin, karrahenin edema, anti-inflammatory activity

One of the perspective directions of the optimization of the anti-inflammatory therapy is the search of the groups of the medicines which possess the different pharmacological effects among the different pharmacological medicines.

That's why it was interesting to hold the comparative examination of the anti-exudative activity of the modern hepatoprotectors antral and thyotriazolin purposely to detect the perspectives of the use of them in the complex therapy of the rheumatologic diseases.

By the results of the traced researches antral and thyotriazolin on the model of the critical aseptic disease reveal the anti-inflammatory effect which can be compared with the effect of the diclofenac sodium.

Thereby it's reasonable to recommend including the hepatoprotectors antral and thyotriazolin into the structure of the complex therapy of the rheumatic diseases. It will give the possibility to improve the efficacy of the therapy, to lower the dose of NSAID (at the average at 50 %) and also to assure the defense of the hepatobiliary system from the toxic effect of NSAID.

*Адреса для листування:*

61002, м. Харків, вул. Мельнікова, 12,  
Кафедра фармакології НФаУ  
Тел.: 8(057)706-30-69

Надійшла до редакції: 15.02.2009 р.



# *Фармакогнозія*

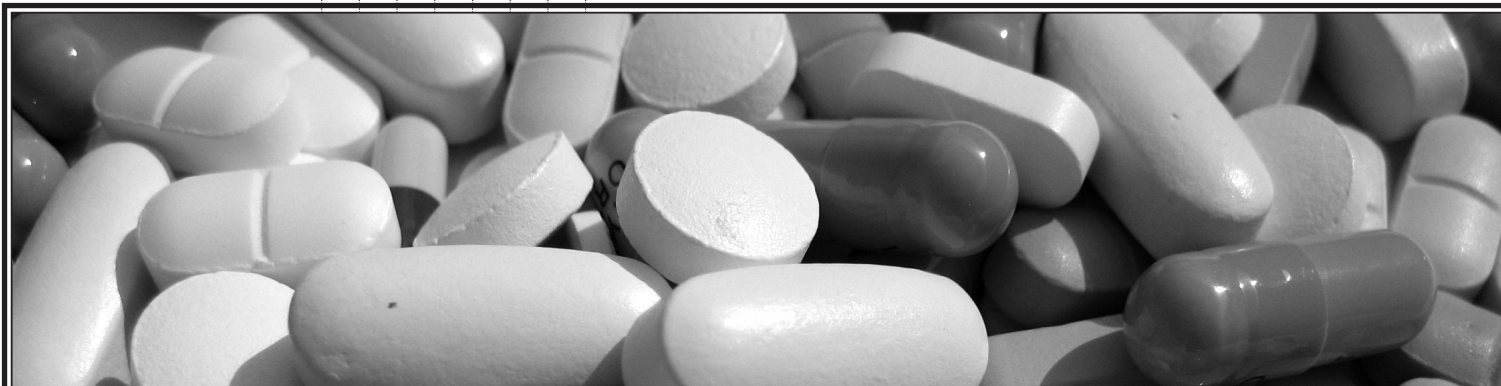
## **Рецензенти рубрики:**

**Комісаренко А.В.**

*докт. фарм. н., проф.*

**Ковальов В.М.**

*докт. фарм. н., проф.*



УДК: 582.734.6: 577.118: 581.45: 581.821.2

## МІНЕРАЛЬНИЙ СКЛАД КОРИ, БРУНЬОК ТА ЛИСТЯ ДЕЯКИХ ПРЕДСТАВНИКІВ СОРТІВ *PERSICA VULGARIS* MILL.

О. А. Пузак, Л. В. Упир, В. С. Кисличенко, Н. В. Толкачова

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: персик, мікроелементи, кора, листя, бруньки

В статті наведені результати вивчення якісного складу та кількісного вмісту елементно-го кори семи сортів, бруньок шести сортів та листя одного сорту персика звичайного. Знайдено п'ятнадцять елементів, серед яких кальцій, калій, манган, силіцій та фосфор преважують. Кількість важких металів в об'єктах дослідження в межах норми для харчової промисловості. Аналіз проводили способом атомно-емісійної спектроскопометрії.

### ВСТУП

В Україні плодова культура персика звичайного *Persica vulgaris* Mill. (родина *Rosaceae*) поширена по всій території, з успіхом найбільше культивується в садових господарствах Кримського півострова.

У фітотерапевтичній та медичній практиці здавна використовується жирна олія персика, що підпадає під загальну назву для всіх кісточкових «персикова олія». Високопоживні дієтичні властивості плодів персика звичайного, високий вміст калію, мангану, вітамінів, пектинових речовин знайшли місце в схемах лікування гастроентерологічних, серцево-судинних захворювань та інших.

Перевагою лікарських рослин, особливо для родини розових, є менша їх токсичність, багатоспрямованість дії і можливість тривалої терапії без небажаних супутніх ефектів з боку організму людини [1, 3, 6].

Макро- і мікроелементи, що надходять до організму людини, поєднуючись з хімічними регуляторами обміну речовин, стають посередниками різних біохімічних процесів, коректорами обміну речовин в організмі людини. Згідно до класифікації мінеральних речовин за незамінністю для організму людини [1], елементи поділяють на есенціальні (такі, як калій, кальцій, залізо,

кобальт, манган, марганець, молібден, натрій, фосфор, цинк), умовно есенціальні (стронцій, бор) і токсичні (свинець). Саме лікарська рослина і тваринна сировина в сучасній медицині розглядається як найбільш перспективне джерело легко засвоюваних форм мікро- і макроелементів, вітамінів, амінокислот та інших груп біологічно активних речовин [2].

Метою нашої роботи було дослідити мікроелементний склад кори, бруньок та листя персика звичайного сортів «Ветеран фаворит Моритіні», «Любимець Краснодар», «Corolum», «Пухнастий ранній», «Ветеран самоопилення», «Early red haven» та кори й листя сорту «Вітчизняний».

### МЕТОДИ ТА МАТЕРІАЛИ

Об'єктами нашого дослідження були кора, бруньки та листя персика звичайного сортів «Ветеран фаворит Моритіні» (середньостиглий № 1), «Любимець Краснодар» (ранній № 2), «Corolum» (пізній № 3), «Пухнастий ранній» (ранній № 4), «Ветеран самоопилення» (середньостиглий № 5), «Early red haven» (пізній № 6), які заготовляли в лютому 2009 року і надані для науково-дослідних робіт Нікитським ботанічним садом — Національним науковим центром; та кори (заготовлена в квітні 2009) та листя (заготовлене в серпні 2009) сорту «Вітчизняний» (середньостиглий № 7) в Харківській області.

Вивчення якісного складу і визначення кількісного вмісту макро- і мікроелементів проводили з використанням методу атомно-емісійної спектроскопометрії. Проби випарювали з краєтерів графітних електродів у розряді дуги перемінного струма силою 16 А при експозиції 60 сек. У якості джерела збуджування спектрів використовували ІБС-28. Спектри реєстрували

О.А. Пузак — асп. кафедри хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету

Л.В. Упир — доц. кафедри хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету, к. фарм. н., доц.

В.С. Кисличенко — завідувач кафедри хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету, д. фарм. н., проф.

Н.В. Толкачова — науковий співробітник ННЦ "Нікитський ботанічний сад"



на фотоплівці за допомогою спектрографа ДФС-8 з дифракційною решіткою 600 штр/мм і трилінзовою системою освітлювання щілини. Фотометрували лінії спектрів при довжині хвилі від 240 до 347 нм у пробах, порівнюючи зі стандартними зразками суміші мінеральних елементів за допомогою мікрофотометра МФ-4. Калібрувальні графіки будували за допомогою стандартних проб розчинів солей металів (ІСОПМ-23-27). Відносне стандартне відхилення для п'яти паралельних вимірювань не перевищувало 30 мг% при визначенні числових величин концентрацій елементів [4, 5].

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати порівняльного визначення елементного складу зразків кори, бруньок та листя персика звичайного наведені у таблиці 1.

Як видно з таблиці 1, в сировині виявлено 15 елементів. Такі елементи, як Co, Cd, As, Hg, в листі абрикоса відсутні або їх вміст знаходиться за межами можливостей визначення методом емісійної спектрометрії. В найбільшій кількості накопичуються К, Са, Si, Mg, P, Na. Кількість елементів в цілому більша у листі, що заготовлено у Харківській області, та бруньках кримських сортів персика звичайного (особливо в 4, 5 сортах), якого виявилось більше у сировині, що заготовлена у місті Харків. В цілому, як видно з таблиці 2, тенденція співвідношення окремих елементів між собою в зразках сировини близька.

Так, вміст К, який відіграє важливу роль у регуляції водно-сольового обміну, підтриманні тонусу і автоматизму скорочення серцевого м'яза, видаленні з організму води, складає 1480–360 мг/100 г і є близьким до вмісту цього цінного мікроелементу у плодах. Са (1140–450 мг/100 г) нормалізує проникність клітинних мембран, сприяє утворенню кісткової тканини, впливає на функцію залоз м'язів та нервової системи, допомагає видаленню йонів Na з тканин, уповільнює розвиток запальних процесів. Крім того, співвідношення P: Са-1: 2 зберігається майже у всіх зразках, які досліджуються, що може бути важливим в терапії захворювань кістяка, особливо, враховуючи вже відому протизапальну, імунокорегуючу властивість екстракту з гілочок та квітів персика звичайного. Високий вміст Si (660–670 мг/100 г) сприяє зниженню проникності судинної стінки, синтезу колагену, він бере участь у імунологічних процесах, стимулює фагоцитоз. Mg (330–350 мг/100 г) належить до макроелементів і бере активну участь у процесах нервового збудження, водного, вуглеводного і фосфатного обміну, сприяє зміцненню серцево-судинної системи, запобігає захворюванню на ішемію, стенокардію. Цього мікроелементу має бути у співвідношенні до Са не менше 0,7: 1, що необхідно для нормального засвоєння [3].

Важливою є наявність Мо у складі проб рослинної сировини. В організмі людини цей елемент є складовою ферментів альдегідоксидази,

Таблиця 1

### ВМІСТ МІНЕРАЛЬНИХ ЕЛЕМЕНТІВ В ПРОБАХ СИРОВИНИ ПЕРСИКА ЗВИЧАЙНОГО

Зразок	Вміст елементу, мг/100 г														
	Fe	Si	P	Al	Mn	Mg	Pb	Ni	Mo	Ca	Cu	Zn	Na	K	Sr
Сорт 1 — кора	30	295	170	60	6	310	0,05	<0,03	0,06	1000	2	2	130	670	10
Сорт 2 — кора	9	250	140	40	4	270	0,05	<0,03	0,05	840	0,4	2	60	560	7
Сорт 3 — кора	6	270	160	50	4	290	0,05	<0,03	0,05	900	0,3	1	60	600	9
Сорт 4 — кора	5,5	290	170	60	6	310	0,06	<0,03	0,03	970	0,3	1	130	660	10
Сорт 5 — кора	3	295	160	30	7	300	0,06	<0,03	0,06	990	0,2	4	130	670	10
Сорт 6 — кора	1,2	95	67	1,8	0,6	380	<0,03	<0,03	<0,03	950	0,12	0,6	120	890	4,7
Сорт 7 - кора	1,2	160	55	1,2	0,6	180	<0,03	<0,03	<0,03	720	0,03	0,6	90	360	1,8
Сорт 1 — бруньки	60	460	100	60	5	170	0,06	0,2	0,04	460	3	6	230	1160	2
Сорт 2 — бруньки	20	340	95	50	3	170	0,04	0,06	0,03	450	2	2	110	1120	2
Сорт 3 — бруньки	30	380	110	60	4	190	0,06	0,06	0,05	540	3	3	130	1260	3
Сорт 4 — бруньки	50	300	130	70	4	220	0,03	0,07	0,04	670	0,7	2	150	1480	4
Сорт 5 — бруньки	30	280	110	70	3	210	0,03	0,1	0,03	620	0,7	2	140	1420	4
Сорт 6 — бруньки	2,2	300	65	2,2	0,4	225	0,04	<0,03	0,07	900	0,55	0,7	150	750	2,6
Сорт 7 — листя	2,8	380	80	2,8	1,2	285	0,05	<0,03	0,09	1140	0,05	0,9	95	1425	1,9

Примітка. Концентрація елементів Co <0,03, Cd <0,01, As <0,01, Hg <0,01 у всіх зразках сировини

**РЯДИ ЕЛЕМЕНТІВ ЗА ЗМЕНШЕННЯМ ЇХНЬОГО ВМІСТУ В РІЗНИХ  
ПРОБАХ СИРОВИНИ ПЕРСИКА ЗВИЧАЙНОГО**

Зразок	Вміст елементів за зменшенням їхнього вмісту														
	Ca	K	Mg	Si	P	Na	Al	Fe	Sr	Mn	Cu	Zn	Mo	Pb	Ni*
Сорт 1 — кора	Ca	K	Mg	Si	P	Na	Al	Fe	Sr	Mn	Cu	Zn	Mo	Pb	Ni*
Сорт 2 — кора	Ca	K	Mg	Si	P	Na	Al	Fe	Sr	Mn	Zn	Cu	Mo	Pb	Ni*
Сорт 3 — кора	Ca	K	Mg	Si	P	Na	Al	Sr	Fe	Mn	Zn	Cu	Mo	Pb	Ni*
Сорт 4 — кора	Ca	K	Mg	Si	P	Na	Al	Sr	Mn	Fe	Zn	Cu	Pb	Ni*	Mo*
Сорт 5 — кора	Ca	K	Mg	Si	P	Na	Al	Sr	Mn	Zn	Fe	Cu	Mo	Pb	Ni*
Сорт 6 — кора	Ca	K	Mg	Na	Si	P	Sr	Al	Fe	Mn	Zn	Cu	Ni*	Mo*	Pb*
Сорт 7 — кора	Ca	K	Mg	Si	Na	P	Sr	Al	Fe	Mn	Zn	Cu	Ni*	Mo*	Pb*
Сорт 1 — бруньки	K	Ca	Si	Na	Mg	P	Al	Fe	Zn	Mn	Cu	Sr	Ni	Pb	Mo
Сорт 2 — бруньки	K	Ca	Si	Mg	Na	P	Al	Fe	Mn	Zn	Cu	Sr	Ni	Pb	Mo
Сорт 3 — бруньки	K	Ca	Si	Mg	Na	P	Al	Fe	Mn	Zn	Cu	Sr	Ni	Pb	Mo
Сорт 4 — бруньки	K	Ca	Si	Mg	Na	P	Al	Fe	Mn	Sr	Zn	Cu	Ni	Mo	Pb
Сорт 5 — бруньки	K	Ca	Si	Mg	Na	P	Al	Fe	Sr	Mn	Zn	Cu	Ni	Pb	Mo
Сорт 6 — бруньки	Ca	K	Si	Mg	Na	P	Sr	Al	Fe	Zn	Cu	Mn	Mo	Pb	Ni*
Сорт 7 — листя	K	Ca	Si	Mg	Na	P	Al	Fe	Sr	Mn	Zn	Mo	Cu	Pb	Ni*

Примітка. \*Концентрація елемента менше 0,03

ксантиндегідроксигенази (7 ферментів). Крім того, Мо важливий і для рослини, забезпечуючи м'яку фіксацію атмосферного азоту. Таким чином, це єдиний з важких металів з елементів 5-ого періоду, який можна віднести до «металів життя».

**ВИСНОВКИ**

Високий вміст макро- і мікроелементів таких, як К, Са, Si, Mg, P, Na, у сировині, дозволяє вважати сировину персика звичайного перспективним джерелом есенціальних макро- і мікроелементів. В межах можливостей методу атомно-емісійної спектрофотометрії не виявлено таких елементів, як арсен, ртуть, ванадій та германій. Дослідження макро- та мікроелементного складу є актуальним у зв'язку із впливом факторів забруднення навколишнього середовища і при розробці проектів АНД на листя, кору, бруньки та субстанції з них.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ  
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Смирнова М.А. Шабановтний А.Я. Аминокислотный и минеральный состав *Viola ruerstris* L. // Смирнова М.А., Гусей-

нов А.Г./Материалы X Международного съезда ФИТОФАРМ-2006.

2. Соколов С.Я. Фитотерапия и фитофармакология: руководство для врачей. — М.: Медицинское информационное агентство, 2000. — 976 с.
3. Хухрянский В. Г., Цыганенко А. Я., Павленко Н. В. Химия биогенных элементов: Учебное пособие. — К.: Вища школа, 1990. — 207 с.
4. Stefánsson A, Gunnarsson I, Giroud N (2007). «New methods for the direct determination of dissolved inorganic, organic and total carbon in natural waters by Reagent-Free Ion Chromatography and inductively coupled plasma atomic emission spectrometry». *Anal. Chim. Acta* 582 (1): 69–74.
5. Mermet, J.M. (2005). «Is it still possible, necessary and beneficial to perform research in ICP-atomic emission spectrometry?». *J Anal. At. Spectrom.* 20: 11–16.
6. Akadémiai Kiadó, Materials for Quality Control of Elemental Composition Analytical data. *J. of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. — Vol. 245, № 1. — July, 2000.

**УДК: 582.734.6: 577.118: 581.45: 581.821.2**  
**МИНЕРАЛЬНЫЙ СОСТАВ КОРЫ, ПОЧЕК И ЛИСТЬЕВ**  
**НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СОРТОВ PERSICA VULGARIS MILL.**

О. А. Пузак, Л. В. Упир, В. С. Кисличенко, Н. В. Толкачова

*Ключевые слова:* персик, микроэлементы, кора, лист, почки

В статье представлены результаты изучения качественного состава и количественного элементного содержания коры семи сортов, почек шести сортов и листьев одного сорта персика обыкновенного. Найдено пятнадцать элементов, среди которых кальций, калий, магний, кремний, фосфор преобладают. Количество тяжелых металлов в исследуемых объектах в рамках норм для пищевой промышленности. Анализ проводили методом атомно-эмиссионной спектроскопии.

**УДК: 582.734.6: 577.118: 581.45: 581.821.2**  
**MINERAL COMPOSITION OF BARK, BUDS AND LEAVES OF SOME**  
**REPRESENTATIVES OF SORTS OF PERSICA VULGARIS MILL.**

O. A. Puzak, L. V. Upir, V. S. Kislichenko, N. V. Tolkachova

*Key words:* peach, oligoelements, bud, leave, bark

Results over of study of high-quality and quantitative element composition of bark of seven sorts, buds of six sorts and leaves of one sort of peach ordinary are brought in the article. Fifteen elements are found among which calcium, potassium, mangan, silicy and phosphorus predominate. The noted amount of heavy metals within the limits of norms for food industry, absence of arsenu is in composition of materials of vivchuvanikh tests. An analysis was conducted a method atomic emission spectrophotometry.

*Адреса для листування:*

Національний фармацевтичний університет,  
61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4,  
Тел.: 8(0572)67-93-63  
e-mail: cnc@ukrfa.kharkov.ua

Надійшла до редакції: 24.03.2009 р.

УДК 615.322: 547.918

## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЦИКЛАМЕЛИНА А В ОРГАНИЗМЕ ОТРАВЛЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Г. Б. ИСКЕНДЕРОВ, Г. Р. ИСЛАМОВ

*Азербайджанский медицинский университет, кафедра общей и токсикологической химии*

*Ключевые слова:* Цикламен *Cyclamen*, сапонин, распределение, внутренние органы

*Методом адсорбционной колоночной хроматографии с силикагелем из суммы тритерпеновых сапонинов *Cyclamen elegans* выделен индивидуальный сапонин  $C_{53}H_{86}O_{22}$ , представляющий собой тетраозид цикламиретина D, в состав углеводной цепи молекулы которого входят две молекулы D-глюкозы, по одной молекуле L-рамнозы и L-арабинозы.*

Разработан хромато-фотометрический метод определения сапонина в биологических жидкостях на модельных образцах способом добавок. Для экстракции сапонина из крови и мочи лучшим экстрагентом является н-бутанол. Число экстракций — 4 раза. Высокая степень чистоты сапонина достигается методом ТСХ, предшествующей фотометрическому определению. В качестве окрашивающего фотометрического реактива предлагается смесь концентрированной серной кислоты — уксусного ангидрида (1: 9). Оптическую плотность окрашенного продукта измеряют на фотоколориметре или спектрофотометре при длине волны 400 нм. Метод обладает достаточной точностью и чувствительностью и апробирован на кроликах с положительным результатом. Рекомендуется использовать метод при проведении биофармацевтических исследований лекарственных препаратов, содержащих сапонин растений рода *Cyclamen*.

Некоторые лекарственные препараты, к числу которых относятся «Mastadinon», «Hormel S», «Hormel SN», «Kapadol», «Sinuforte», «Salhinon», «Colocynth-plus», «Nasodren» [1], содержащие в качестве биологически активных веществ тритерпеновые сапонины, получают из растений рода цикламен (дряква) *Cyclamen*. Эти препараты не изучены в фармакокинетическом и биофармацевтическом аспектах, без которых нельзя достичь высокоэффективной терапии, ввиду отсутствия методов определения тритер-

пеновых сапонинов вышеперечисленных препаратов в различных биологических средах.

С другой стороны, произрастающий в Азербайджане цикламен изящный *Cyclamen elegans* Boiss. et. Buhse, как и другие виды, относится к числу ядовитых, и потому является объектом химико-токсикологического исследования [2] не только само растение, но и его сапонины. Данное обстоятельство также требует разработки метода определения тритерпеновых сапонинов в различных биологических материалах. Учитывая это, мы решили заниматься данной проблемой, обращая в первую очередь внимание на вопрос выделения тритерпеновых сапонинов и изучения их химической природы [3]. Установили наличие двух тритерпеновых сапонинов, являющихся гликозидами сапогенина цикламиретина D, ранее выделенного другими исследователями [5] и идентифицированного нами по температуре плавления, удельному вращению, молекулярной массе (масс-спектрометрический) и по ЯМР спектру [3]. Выделен основной компонент суммы тритерпеновых сапонинов в индивидуальном виде — цикламелин А, оказавшийся, как показали результаты химического исследования, тетраозидом цикламиретина D, содержащим в молекуле углеводной цепи 2 молекулы D-глюкозы, по одной молекуле L-арабинозы и L-рамнозы. По сравнению с известными сапонинами цикламена [5–9] цикламелин А является новым соединением.

В дальнейшем нами разработан метод определения цикламелина А в различных биологических жидкостях — в модельных образцах крови и мочи, приготовленных путем добавок [4]. Но это не указывает на то, что данный метод с одинаковым успехом может применяться для определения сапонина в различных тканях внутренних

Г. Б. Искендеров — зав. кафедрой общей и токсикологической химии Азербайджанского медицинского университета, д. фарм. н., проф.

Г. Р. Исламов — аспирант кафедры общей и токсикологической химии Азербайджанского медицинского университета

органов и биологических жидкостях организма подопытных животных. Поэтому для установления разрешающей способности метода необходимо было провести его апробацию на внутренних органах экспериментальных животных.

Цель настоящей работы — изучение распределения цикламелина А во внутренних органах и биологических жидкостях организма животных, что может явиться одновременно апробацией предложенного метода.

Следует отметить, что нам не удалось найти хотя бы одну экспериментальную работу по изучению распределения сапонинов в организме животных в доступной нам литературе и в Интернете за последние 5–10 лет.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования использован цикламелин А, выделенный из клубней цикламена изящного и представляющий собой белый аморфный порошок, хорошо растворимый в воде. Имеет состав  $C_{53}H_{86}O_{22}$ , температура плавления 160–162°С. Сапонин обладает сильным раздражающим действием слизистой оболочки носовой полости.

При исследовании всего было использовано 11 кроликов породы шиншилла обоего пола массой 2,5–3 кг, из них 10 — для экспериментальных опытов, одно животное служило в качестве контроля. Животных содержали при естественном освещении и максимальной стандартизации температурного и пищевого режимов со свободным доступом к еде и воде. Экспериментальных животных поделили на две группы, по 5 кроликов в каждой. Кроликам I группы однократно перорально с помощью зонда вводили по 50 мг/кг дозы сапонины в виде 2%-ного водного раствора, а кроликам II группы — последовательно трехкратно по 15,15 и 20 мг/кг дозы сапонины в таком же виде с интервалом 12 часов. Через 6 часов после последнего введения сапонины животных декапитировали, вскрывали, внутренние органы (печень, почки, сердце, желудок и кишечник с содержимым, легкие, селезенка, мочевой пузырь, кровь) отделяли, взвешивали. Кровь животных собирали в колбу с необходимым количеством гепарина. Твердые внутренние органы измельчали с помощью ножниц, а затем подвергали исследованию.

Изолирование сапонины из тканей внутренних органов кроликов и очистку от сопутствующих веществ производили по разработанной нами методике в модельных образцах на тканях внутренних органов крупного рогатого скота способом добавок [4], с той разницей, что при изолировании и очистке цикламелина А соответственно массе тканей внутренних органов

кроликов использовали малый объем растворителя, экстрагента для экстракции и реактива для проведения фотометрической реакции. В конце опытов объем общего раствора довели до минимума (0,5–1,0 мл). Доказательство наличия сапонины, изолированного из тканей внутренних органов животных, осуществлено качественными цветными реакциями, методом тонкослойной хроматографии и по ИК-спектру. Количественное определение цикламелина А произведено хромато-спектрофотометрическим методом [4].

Полученные данные были подвергнуты статистической обработке с помощью *t*-критериев Стьюдента, *U*-критериев и функции Фишера.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали результаты исследования, однократное введение цикламелина А в большой дозе (50 мг/кг) у животных вызвало острое отравление, так как в течение первого часа, с момента введения сапонины, погибли 3 животных, через 1,5 часа четвертый, а через 2 часа — пятый кролик. Кролики, получавшие сапонин трехкратно в сравнительно малых дозах, не погибали, у некоторых из них наблюдалось общее беспокойство, кратковременное усиление двигательной активности, потеря аппетита и т.д. Эти симптомы появлялись через 0,5 часа после введения сапонины, продолжались в течение 2-х часов. Затем животные приобретали нормальное состояние.

Результаты изучения распределения цикламелина А в тканях внутренних органов животных показали, что у кроликов, погибших в результате острых отравлений, сапонин обнаруживается и определяется не во всех тканях органов (таблица 1). У этих животных цикламелин А находится в печени, крови, сердце, желудке и кишечнике с содержимым, а в других тканях органов сапонин не был обнаружен. Наибольшее содержание сапонинов имелось в желудке и кишечнике с содержимым, печени (в порядке уменьшения). Такое большое содержание сапонины в указанных органах, сравнительно малое количество его в крови и сердце, а также отсутствие в легких, селезенке, почках, моче указывает на то, что у кроликов, погибших в результате острого отравления, сапонин не успел распределиться по всем тканям органов и биологическим жидкостям. Следует отметить, что найденный в вышеуказанных тканях и органах сапонин оказался в нативном виде, метаболиты его не образовывались, т.е. сапонин так же не успел подвергнуться биотрансформации.

Результаты проводимых исследований позволили правильно подбирать необходимые объ-

Таблиця 1

**СОДЕРЖАНИЕ ЦИКЛАМЕЛИНА А И ПРОДУКТОВ ЕГО БИОТРАНСФОРМАЦИИ  
В ТКАНЯХ ОРГАНОВ (В МКГ/Г) И БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ  
(В МКГ/МЛ) ОТРАВЛЕННЫХ КРОЛИКОВ (n = 5)**

Объекты	Определено ( $x \pm A$ )	
	Острое отравление	Хроническое отравление
Печень	29,34 $\pm$ 3,02	21,38 $\pm$ 3,78
Кровь	7,76 $\pm$ 2,68	13,44 $\pm$ 1,55
Сердце	17,72 $\pm$ 2,68	14,70 $\pm$ 3,16
Желудок с содер.	62,28 $\pm$ 1,88	5,76 $\pm$ 3,61
Кишечник с содер.	34,22 $\pm$ 1,65	5,04 $\pm$ 4,12
Почки	—	41,02 $\pm$ 2,03
Моча	—	36,04 $\pm$ 1,57
Легкие	—	3,68 $\pm$ 3,69
Селезенка	—	3,92 $\pm$ 3,47

екты для химико-токсикологического анализа. Известно, что с целью химико-токсикологического анализа необходимо брать те органы и биологические жидкости, в которых содержится сравнительно большое количество целевого вещества. Это дает нам основание прийти к заключению, что при остром отравлении сапонинами цикламена и препаратами его для химико-токсикологического анализа необходимо использовать в качестве объекта исследования желудок, кишечник с содержимым и печень трупа.

В организме кроликов II группы, у которых наблюдалось хроническое отравление, в отличие от животных с острым отравлением, распределение цикламелина А происходит в тканях почти всех внутренних органов и биологических жидкостях (таблица 1). Однако это распределение происходит неравномерно. Так, в почках содержание продуктов превращения сапонина значительно больше, чем в тканях других органов. Это свидетельствует о возможности кумуляции цикламелина А в организме, так как почки способны депонировать вещество на определенное время. Второе место по содержанию сапонина занимает моча. Наименьшее количество сапонина находится в тканях легких и селезенки.

Резкое уменьшение содержания сапонина в желудочно-кишечном тракте хронически отравленных животных по сравнению с остро отравленными животными показывает лучшую всасываемость цикламелина А через желудочно-кишечный тракт. Таким образом, результаты, как настоящего исследования, так и ряда других исследований, опровергают предположение отдельных авторов о том, что сапонины не всасываются в организме. Такое предположение исключало бы резорбтивное действие сапонинов в организме. Общеизвестно, что широким спектром фармакологического действия

сапонины обладают благодаря резорбтивному действию.

Сравнительно большое количество продуктов превращения цикламелина А в моче животных II группы указывает на относительно медленное выведение его из организма. Результаты проводимых исследований дают нам основание считать, что основным путем экскреции этого вещества из организма животных является выведение его с мочой. Выявлено, что после перорального введения сапонина в организм животных в составе кала обнаруживается незначительное количество нативного вещества, а основная масса, по-видимому, попадает в кровяное русло и распределяется по тканям органов и биологическим жидкостям.

Одним из основных свойств цикламелина А является его способность подвергаться биотрансформации под действием ферментных систем организма лабораторных животных. В нативном виде сапонин был обнаружен в желудке, кишечнике с содержимым, печени и в составе кала (незначительное количество). В других тканях неизменный сапонин не был обнаружен. Цикламелин А в этих органах находился в виде нескольких метаболитов, подобно другим веществам [10, 11]. Результаты, как настоящего, так и предыдущих исследований, показывают, что сапонины как представители растительных гликозидов в условиях организма под действием соответствующих ферментов подвергаются гидролизу, образуя промежуточные и конечные метаболиты. Промежуточными метаболитами являются гликозиды с меньшим числом моносахаридов, в данном случае — триозидом (I), биоизидом (II) и моноизидом (III) сапогенина. А конечные метаболиты представлены сапогенином (IV), продуктом его превращения (V) и конъюгатом (VI). Эти же метаболиты, как и их предшествен-

ник нативный сапонин, распределены по тканям органов и биологическим жидкостям неравномерно. Так, в печени кроме нативного вещества найдены метаболиты I и II, в крови и сердце метаболиты II и III, в легких, селезенке — только метаболит III. Эти промежуточные метаболиты не найдены в почках и моче, содержащих в основном конечные метаболиты IV, V и VI, причем в значительном количестве. Следовательно, цикламелин А после соответствующих превращений в условиях организма выводится в виде метаболитов. Таким образом, при диагностике тяжелых отравлений сапонинами цикламена и его препаратами достаточно будет исследовать мочу большого на наличие сапогенина и продуктов его превращения, т.е. конъюгатов, а также промывные воды желудка на наличие нативного сапонина.

### ВЫВОДЫ

1. Цикламелин А в нативном виде обнаруживается не во всех тканях внутренних органов и биологических жидкостях кроликов с острым отравлением. Максимальное содержание нативного сапонина находится в желудке, кишечнике с содержимым и печени.
2. Цикламелин А распределяется неравномерно по всем тканям внутренних органов и биологическим жидкостям кроликов с хроническим отравлением.
3. Цикламелин А в печени, крови, сердце, легких, селезенке кроликов с хроническим отравлением находится в основном в виде промежуточных метаболитов — гликозидов с меньшим числом набора моносахаридов.
4. В почках и моче кроликов с хроническим отравлением сапонин находится в сравнительно большом количестве, причем в виде конечных метаболитов, представленных сапогенином и его продуктами превращения, т.е. конъюгатами, в виде которого выводится вещество из организма.
3. Гаджиага Р. Исламов, Гаибверди Б. Искендеров. Выделение суммы тритерпеновых сапогинов цикламена изящного и исследование их сапогенина. // Азербайджанский фармацевтический и фармакотерапевтический журнал, 2008. — № 2. — С. 19–22.
4. Гаджиага Р. Исламов, Гаибверди Б. Искендеров. Определение цикламелина А в биологических жидкостях. // Азербайджанский фармацевтический и фармакотерапевтический журнал, 2009. — № 1. — С. 20–25.
5. Деканосидзе Г.Е., Чирва В.Я., Сергиенко Т.В. Биологическая роль, распространение и химическое строение тритерпеновых гликозидов. — Тбилиси: «Мецниереба», 1984. — 348 с.
6. Calish J., Satana M.E., Yuruker A., Kelican P. Triterpene saponins from *Cyclamen mirabile* and their biological activities // Journal of Natural Product. — 1997. — Vol. 60, 3. — P. 315–318.
7. Nurettin Yayli, Cemalettin Baltaci, Ali Zengin, Mustafa Kuchukislamoglu. A triterpenoid saponin from *Cyclamen coum*. // Phytochemistry, 1998. — Vol. 48, 5. — P. 881–884.
8. Tabidze B., Tabatadze N., Elias R., Dekanosidze G., Balansard G., Kemertelidze E. Qualitative and Quantitative HPLC Analysis of triterpene saponins from the tubers of *Cyclamen adzharicum* Pobed // Georgia Chemical Journal, 2004. — Vol. 4, 2. — P. 161–164.
9. Tabidze B., Tabatadze N., Zviadadze L., Sutiashvili M., Elias R., Faure R., Balansard G. and Kemertelidze E. New triterpene glycoside from the tubers of *Cyclamen adzharicum* Pobed // Georgia Chemical Journal, 2005. — Vol. 5, 4. — P. 381–385.
10. Jones Douglas C., Duvauvchelle Christine, Ikegami Aiko, Olsen Christopher M., Lau Serrine S. de la Torre Rafael, Monks Terrence J. Serotonergic neurotoxic metabolites of ecstasy identified in rat brain. // J Pharmacol. and Exp. Ther., 2005. — Vol. 313, 1. — P. 422–431.
11. Kanamori Tatsuyuki, Kuwayama Kenji, Tsujikawa Kenji, Miyaguchi Hajime, Iwata Yuko, Inoue Hiroyuki, Kishi Tohru. In vivo metabolism of 5-methoxy-N, N diisopropyltryptamine in rat // J Health Sci, 2006. — Vol. 52, 4. — P. 425–430.

### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ ИНФОРМАЦИИ

1. Видаль. Справочник, лекарственные препараты в России. — Москва: АстраФарм Сервис, 2007. С. 722–1000.
2. Гаджиага Р. Исламов, Гаибверди Б. Искендеров. Цикламен (дряква) и перспективы его исследования. // Азербайджанский фармацевтический и фармакотерапевтический журнал, 2008. — № 1. — С. 55–58.

**УДК 615.322: 547.918****ВИДІЛЕННЯ ТРИТЕРПЕНОВОГО САПОНІНУ З CYCLAMEN ELEGANS  
І ВИЗНАЧЕННЯ ЙОГО В БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ**

Г. Б. Іскандеров, Г. Р. Ісламов

**Ключові слова:** Цикламен *Cyclamen*, сапонін, розподіл, внутрішні органи

Методом адсорбційної колоночної хроматографії із силікагелем із суми тритерпенових сапонінів *Cyclamen elegans* виділений індивідуальний сапонін  $C_{53}H_{86}O_{22}$ , що представляє собою тетраозид цикламїретину D, до складу вуглеводного ланцюга молекули якого входять дві молекули D-глюкози, по одній молекулі L-рамнози й L-арабінози.

Розроблено хромато-фотометричний метод визначення сапоніну в біологічних рідинах на модельних зразках способом добавок. Для екстракції сапоніну із крові й сечі кращим екстрагентом є н-бутанол. Кількість екстракцій — 4 рази. Високий ступінь чистоти сапоніну досягається методом ТПХ, що передувє фотометричному визначенню. У якості фотометричного реактиву, що забарвлює, пропонується суміш концентрованої сульфатної кислоти — оцтового ангїдриду (1:9). Оптичну густину забарвленого продукту вимірюють на фотоколориметрі або спектрофотометрі при довжині хвилі 400 нм. Метод має достатню точність і апробований на кролях з позитивним результатом. Рекомендується використати метод при проведенні біофармацевтичних досліджень лікарських препаратів, що містять сапоніни рослин роду *Cyclamen*.

**УДК 615.322: 547.918****THE EXTRACTION OF TRITERPENE SAPONIN FROM  
CYCLAMEN ELEGANS AND ITS DEFINITION IN BIOLOGICAL LIQUIDS**

G. B. Iskandarov, H. R. Islamov

**Key words:** *Cyclamen*, triterpene saponin, cyclamiretin D, blood, urine

Has been extracted individual saponin  $C_{53}H_{86}O_{22}$  from sum of triterpene saponins of *Cyclamen elegans* by absorption chromatography column method. This saponin  $C_{53}H_{86}O_{22}$  presents tetraozide cyclamiretine D, which carbohydrate chain consists of two D-glucose molecules, one L-ramnose and L-arabinose.

Has been developed chromato-photometric method for definition saponin in biological liquids on model samples by additions mode. The best extracting agent for saponin from blood and urea samples is n-butanol. Number of extractions — 4 times. The used TLC method, preceding to photometric definition, brings to high level of purification of saponin. As colorant was suggested the mixture concentrated sulfuric acid and acetic anhydride (1: 9). Optical density of colored product was measured by photocolormeter or spectrophotometer with wave length-400nm. The suggested method is sensitive and has sufficient precision. The method was tested on rabbits with positive response. It is recommended to use the method in carrying out the biopharmaceutical researches of drugs containing saponins of *Cyclamen elegans* plant.

Адреса для листування:  
Азербайджан, Аз 10-22, г. Баку, ул. Бакиханова, 23,  
Медицинский университет, кафедра общей и токсиколо-  
гической химии, профессор Искандеров Г. Б.  
Тел. 494-50-68  
e-mail: eldargar@mail.ru

Надійшла до редакції: 14.03.2009 г.



# *Фармакологічна біохімія*

## **Рецензенти рубрики:**

**Вороніна Л.М.**

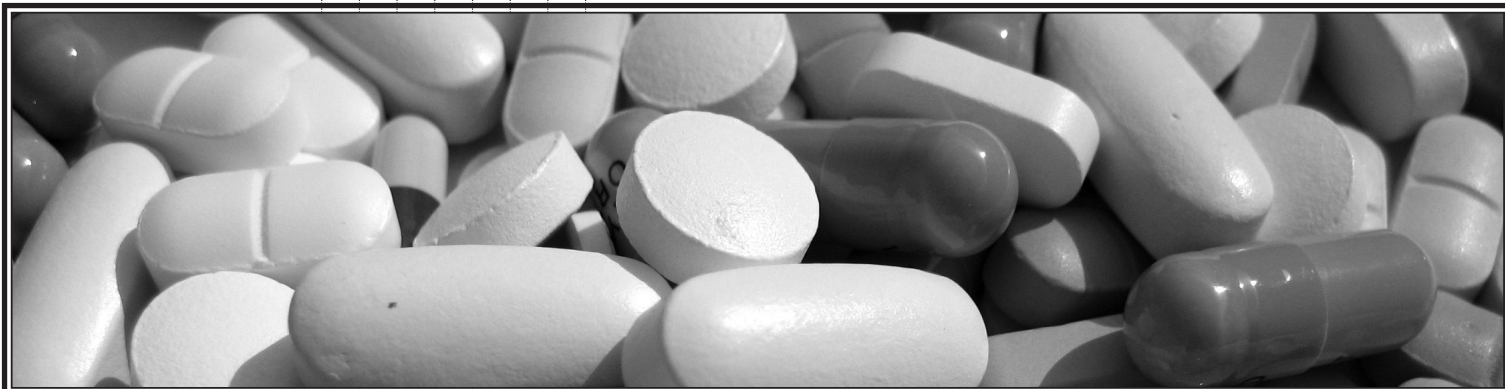
*докт. біол. н., проф.*

**Загайко А.Л.**

*канд. біол. н., доц.*

**Малоштан Л.М.**

*докт. біол. н., проф.*



УДК 577.121+612.392.6+615.279

## ВПЛИВ УНІТІОЛУ НА СТАН ЕНЕРГЕТИЧНОГО МЕТАБОЛІЗМУ У ЩУРІВ ПРИ ВВЕДЕННІ ХЛОРИДУ КОБАЛЬТУ

С. М. ОХРИМЕНКО, П. А. КАЛІМАН

Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна,  
кафедра біохіміїКлючові слова: кобальт, унітіол, глюкоза, глікоген, вільні жирні кислоти, аміно-  
нотрансферази, лактатдегідрогеназа

*Вивчено вплив хлориду кобальту та унітіолу на показники енергетичного метаболізму — вміст глюкози та вільних жирних кислот в крові, глікогену в печінці, а також на активність ферментів гліколізу та глюконеогенезу — лактатдегідрогенази та амінонотрансфераз — в органах щурів, а також в сироватці крові. Встановлено, що введення тваринам хлориду кобальту спричинює розвиток стрес-реакції, що відображується в посиленні процесів глікогенолізу та ліполізу, а також глюконеогенезу. Попереднє введення унітіолу лише в деяких випадках призвело до нормалізації зазначених показників. Введення одного унітіолу в деяких випадках спричинювало таку ж дію, як і при введенні стрес-агента — хлориду кобальту. Відзначено високу чутливість серцевого ізозиму лактатдегідрогенази до дії хлориду кобальту і здатність унітіолу впливати на цей показник за умов гіпоксії, що спричинюється введенням хлориду кобальта. Виявлено чутливість лактатдегідрогенази печінки та нирок до дії унітіолу. Дія зазначеного препарату на показники, що вивчалися, скоріш за все, не пряма, а опосередкована системами внутрішньоклітинної регуляції.*

### ВСТУП

Сполуки важких металів, що потрапляють до організму з повітрям, водою, їжею, активують процеси вільнорадикального окислення, що супроводжується розвитком оксидативного стресу [2, 5, 12] і порушенням внутрішньоклітинного гомеостазу. Відновлення останнього потребує посилення процесів енергозабезпечення клітин — гліколізу, ліполізу і глюконеогенезу [3]. Для попередження або послаблення дії важких металів на організм широко застосовують антиоксиданти, серед яких значне місце посідають тіолові сполуки. Однак вивчення механізмів їх дії частіш за все пов'язано зі складовими системами антиоксидантного захисту, в той час як функціонування багатьох метаболічних шляхів залишається недостатньо дослідженим. До того ж біологічні ефекти антиоксидантів залежать від їх дози, що вводиться в організм. Метою даного дослідження було вивчення дії унітіолу на показники енергетичного метаболізму при ок-

сидативному стресі, спричиненому введенням хлориду кобальту, в дозі, що позитивно впливає на складові системи антиоксидантного захисту в цих умовах [8].

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для дослідів використовували самців щурів лінії Вістар масою 160–200 г, що утримувались в стандартних умовах віварію. Хлорид кобальту вводили внутрішньоочеревинно в дозі 3 мг на 100 г маси, унітіол вводили в дозі 25 мг на 100 г маси за 30 хвилин до ін'єкції розчину солі. Тварин брали в експеримент через 4 та 24 години після введення хлориду кобальту, застосовуючи легкий ефірний наркоз. Кров збирали та отримували сироватку, де визначали вміст глюкози, вільних жирних кислот (ВЖК), сечовини, а також активність амінонотрансфераз та лактатдегідрогенази (ЛДГ). У крові визначали ступінь гемолізу еритроцитів. В печінці визначали вміст глікогену; в гомогенатах печінки, нирок та серця визначали активність аланін-, аспартат- та тирозинамінонотрансфераз (АлАТ, АсАТ, ТАТ), а також активність ЛДГ. В гомогенатах печінки та нирок також визначали вміст сечовини. Вміст глюкози визначали глюкозооксидазним мето-

С. М. Охріменко — асистент кафедри біохімії Харківського національного університету ім. В. Н. Каразіна, к.б.н.

П. А. Каліман — професор кафедри біохімії Харківського національного університету ім. В. Н. Каразіна, д.б.н.

дом за допомогою стандартних наборів, вміст ВЖК — за Duncomb, глікоген — за методом Камр [1]. Ступінь гемолізу еритроцитів визначали за Ягером [15], вміст сечовини — за кольоровою реакцією за допомогою стандартних наборів. Активність амінотрансфераз та ЛДГ визначали за допомогою кольорових реакцій на піруват для АЛАТ, АсАТ та ЛДГ, р-ОФП — для ТАТ [11, 17].

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Введення в організм щурів хлориду кобальту спричинювало зниження вмісту глікогену в печінці в обидва досліджувальні строки, що може свідчити про активацію симпато-адреналової системи в організмі та розвиток стрес-реакції. Доказом цього є також підвищення вмісту вільних жирних кислот в сироватці крові за цих умов. Попереднє введення унітіолу запобігало ліполізу, але не гальмувало процес глікогенолізу, а в короткі терміни (4 год.) навіть посилювало його. В цей же період було встановлено значне зниження вмісту глюкози в сироватці крові, що може свідчити про участь унітіолу в активації процесів мобілізації та транспорту глюкози в клітини за умов оксидативного стресу, спричи-

неного хлоридом кобальту. В той же час, введення одного унітіолу через 24 години спричинювало зміни, подібні до дії стрес-агента (табл. 1). Ймовірно, ці зміни спричинив не власне препарат, оскільки період його полувиведення складає 1-5 годин, а ті наслідки, що залишилися після його застосування. Відомо, що основне місце дії унітіолу — кров та міжцелюлярна рідина, оскільки препарат погано проникає в клітини. Показано здатність унітіолу зв'язуватись з різними білками [9, 14, 19], серед яких можна припустити і мембранні, для яких ця речовина може бути агоністом та брати участь в активації каскадних механізмів регуляції внутрішньоклітинних процесів.

Про участь в адаптації до дії хлориду кобальту гіпофізарно-надниркової системи організму свідчить підвищення активності амінотрансфераз в печінці — АсАТ через 4 години, ТАТ — в обидва досліджувальні терміни (табл. 2), оскільки їх індукція контролюється глюкокортикоїдами [10]. Посилення процесів переамінування відображує залучення амінокислот до процесу глюконеогенезу, що доводиться роботами, де встановлено активацію протеолітичних

Таблиця 1

#### ВПЛИВ ХЛОРИДУ КОБАЛЬТУ ТА УНІТІОЛУ НА ВМІСТ ГЛІКОГЕНУ В ПЕЧІНЦІ, ГЛЮКОЗИ ТА ВІЛЬНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ

	контроль	CoCl <sub>2</sub> 4 год.	CoCl <sub>2</sub> 24 год.	унітіол + + CoCl <sub>2</sub> 4 год.	унітіол + + CoCl <sub>2</sub> 24 год.	унітіол 24 год.
глікоген, г/100 г	2,04±0,21	0,66±0,19*	0,34±0,07*	0,13±0,03*	0,20±0,06*	0,066±0*
глюкоза, ммоль/л	5,93±0,87	5,98±0,65	6,34±0,67	3,49±0,16*	6,02±0,37	4,24±0,30
ВЖК, мкекв/мл	0,54±0,05	0,71±0,04*	0,70±0,06*	0,88±0,28	0,49±0,08	1,14±0,18*

Примітка: тут і далі \* — p < 0,05 в порівнянні з контролем

Таблиця 2

#### ВПЛИВ ХЛОРИДУ КОБАЛЬТУ ТА УНІТІОЛУ НА АКТИВНІСТЬ АЛАТ, АСАТ, ЛДГ ТА ТАТ В ОРГАНАХ ЩУРІВ (МКМОЛЬ ПВК/ ХВ. ТА НМОЛЬ П-ОФП/ ХВ. НА МГ БІЛКА)

органи	контроль	CoCl <sub>2</sub> 4 год.	CoCl <sub>2</sub> 24 год.	унітіол + + CoCl <sub>2</sub> 4 год.	унітіол + + CoCl <sub>2</sub> 24 год.	унітіол 4 год.	унітіол 24 год.
АЛАТ							
печінка	16,0±1,0	17,0±0,9	13,3±1,3	16,3±0,5	15,8±1,2	13,4±1,4	19,2±1,1*
нирки	6,86±0,46	7,0±0,52	5,59±0,4	7,33±1,45	6,75±0,75	4,8±0,6*	6,8±0,92
серце	11,3±0,4	10,7±0,4	10,1±0,8	12,0±0,7	12,8±0,5*	7,8±0,9*	9,4±1,2
АсАТ							
печінка	16,1±0,6	19,3±1,3*	12,3±1,2*	16,7±0,6	14,0±0,8	11,7±0,8*	16,5±0,9
нирки	15,6±1,2	18,5±1,3	13,0±0,8	16,5±2,2	19,8±0,9*	17,0±1,4	20,8±2,1*
серце	15,1±1,1	16,0±0,4	14,9±1,7	18,2±1,7	18,7±0,7*	17,6±1,9	18,3±0,6*
ТАТ							
печінка	6,38±1,34	12,0±1,18*	15,1±1,24*	18,0±4,1*	6,5±1,51	8,34±3,95	11,2±3,8
ЛДГ							
печінка	4,8±1,7	4,5±1,2	4,1±1,5	2,3±1,1	4,6±1,7	5,8±1,8	11,1±2,7*
нирки	5,3±1,5	2,6±0,8	5,9±1,5	3,4±2,3	8,2±3,1	11,0±0,9*	12,4±2,2*
серце	18,2±5,1	3,1±0,9*	7,9±2,0*	5,8±3,8*	10,9±3,9	16,9±2,2	14,9±2,3

ферментів в тканинах при дії хлориду кобальту [4]. Зниження активності АсАТ в печінці через добу після введення хлориду кобальту може бути пов'язаним із витіком ферменту в кров внаслідок лабілізації мембранних структур, що неодноразово було показано раніше. Введення в організм хлориду кобальту спричинює посилення процесів ПОЛ, підвищення ступеню гемолізу еритроцитів [8, 13], що підтверджується і нашими даними (табл. 3). Водночас ми виявили зниження активності амінотрансфераз та ЛДГ в сироватці крові при введенні хлориду кобальту, що може бути пов'язаним як з дією протеїназ, так і з виходом ферментів в сечу. Слід відзначити особливості регуляції активності ТАТ в умовах оксидативного стресу, спричиненого введенням хлориду кобальту. Період півжиття ТАТ складає 1,5–6 год [6], і підвищена активність ферменту через добу (табл. 2) може бути пов'язана з порушенням його деградації, що ми обговорювали в роботі [7]. Зазначимо, що в цьому задіяна внутрішньоклітинна тіол-залежна система протеолізу [16].

Застосування унітіолу перед введенням хлориду кобальту спричинювало нормалізацію активності АсАТ в печінці як через 4 години, так і через добу, однак було зафіксовано підвищення активності АЛАТ в серці, АсАТ — в нирках та серці, ТАТ — в печінці, причому виявлені часові особливості активації кожного з цих ферментів (табл. 2). Якщо підвищення активності амінотрансфераз в печінці та нирках свідчить про посилення гліюконеогенезу з амінокислот, то активність цих ферментів в серці відображує потребу кардіоміоцитів в метаболітах циклу Кребса, що спостерігається при підвищенні потреби клітин в АТФ. Введення одного унітіолу тваринам виявило деякі закономірності його дії на процеси переамінування, а саме: зниження активності АЛАТ та АсАТ через 4 години та її підвищення через добу. Схоже, що в реалізації цих ефектів не беруть участі глюкокортикоїди, оскільки активність високочутливої до них ТАТ не зміню-

валась в обидва терміни після введення унітіолу (табл. 2). Зниження активності АЛАТ та АсАТ в органах щурів через 4 години після введення унітіолу супроводжується зниженням їх активності в сироватці крові, а для АсАТ ця дія продовжується цілу добу (табл. 3), що може свідчити про участь застосованого препарату в процесах регуляції активності зазначених ферментів як в тканинах, так і в крові. Процеси переамінування тісно пов'язані з циклом сечоутворення; дані таблиці 3 свідчать про те, що при дії хлориду кобальту вміст сечовини в сироватці не змінюється, однак застосування унітіолу виявило підвищення вмісту сечовини в сироватці крові, що ще раз може доводити дію даного препарату на хід метаболічних процесів.

Відомо, що введення сполук кобальту до організму спричинює розвиток гіпоксії та утворення транскрипційного фактору HIF, що активує ряд генів, в тому числі і гени ЛДГ [18]. В нашій постановці ми не виявили активації зазначеного фермента (табл. 2), що, можливо, пов'язано з термінами нашого дослідження, оскільки процес трансляції даного білка відбувається дуже швидко. Однак в обидва досліджувальні терміни ми встановили значне зниження активності ЛДГ в серці при введенні хлориду кобальту, причому така ж картина спостерігалась і в сироватці крові (табл. 3). Отримані дані, з одного боку, можуть свідчити про високу чутливість ЛДГ1 до дії хлориду кобальту, з іншого — підтверджувати тезу про активацію протеїназ, що виявляють тканинну специфічність; слід також мати на увазі можливість витоку фермента з кардіоміоцитів в кров та далі в сечу внаслідок лабілізації плазматичних мембран, що доводиться даними про посилення спонтанного гемолізу (табл. 3).

В усякому разі, саме ЛДГ1 виявилась найбільш чутливою до гіпоксії і саме гальмування гліюлізу може бути початком ланцюга метаболічних змін, що можуть призвести до розвитку патології міокарду. Попереднє введення унітіолу не вплинуло на зниження активності ЛДГ в сер-

Таблиця 3

**ВПЛИВ ХЛОРИДУ КОБАЛЬТУ ТА УНІТІОЛУ НА СТУПІНЬ ГЕМОЛІЗУ ЕРИТРОЦИТІВ (В %), ВМІСТ СЕЧОВИНИ ТА АКТИВНІСТЬ АЛАТ, АСАТ ТА ЛДГ В СИРОВАТЦІ КРОВІ (ММОЛЬ СЕЧОВИНИ / Л, НМОЛЬ ПВК / ХВ. НА МГ БІЛКА)**

	контроль	CoCl <sub>2</sub> 4 год.	CoCl <sub>2</sub> 24 год.	унітіол + CoCl <sub>2</sub> 4 год.	унітіол + CoCl <sub>2</sub> 24 год.	унітіол 4 год.	унітіол 24 год.
гемоліз	2,78±0,29	4,23±0,53*	3,51±0,85	2,21±0,41	3,43±0,57	не визначали	2,67±0,47
АЛАТ	0,93±0,16	0,79±0,17	0,45±0,06*	0,91±0,3	1,46±0,47	0,40±0,07*	0,79±0,31
АсАТ	1,22±0,15	1,47±0,34	0,81±0,07*	1,23±0,27	2,2±0,72	0,71±0,08*	0,6±0,12*
ЛДГ	11,08±1,46	4,04±0,42*	5,41±1,34*	7,4±2,13	8,21±2,01	7,33±1,55	14,09±2,46
сечовина	9,3±2,0	11,8±2,1	8,4±0,9	20,1±0,7*	12,4±0,8	14,1±0,2*	15,3±0,7*

ці на ранніх термінах після введення хлориду кобальту і запобігало зниженню активності фермента через добу. Привертає увагу той факт, що введення одного унітіолу, як і в інших випадках, виявило модулюючу дію: щодо ЛДГ, активність її в печінці та нирках підвищувалася при дії препарату (табл. 2).

### ВИСНОВКИ

Результати проведеного дослідження свідчать про чутливість показників енергетичного метаболізму до дії хлориду кобальту. Попереднє введення унітіолу лише в деяких випадках виявляло нормалізуючу дію. В той же час, введення одного цього препарату спричинювало в ряді випадків ефекти, схожі на такі при дії стрес-агента. Виявлено здатність унітіолу в застосованій дозі впливати на активність показників азотного та вуглеводного обміну.

### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Буланкіна Н. І., Охріменко С. М., Ганусова Г. В. Методи дослідження ліпідів та вуглеводів. — Харків: ХНУ ім. В. Н. Каразіна, 2006. — 50 с.
2. Дубинина Е. Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса // Вопросы мед. химии. — 2001. — Т. 47. — № 6. — С. 561–581.
3. Калиман П. А., Охрименко С. М. Цикл глюкоза-жирные кислоты при оксидативном стрессе у крыс, вызванном хлоридом кобальта // Укр. біохім. журнал. — 2005. — № 77, 2. — С. 154–158.
4. Калиман П. А., Самохин А. А., Самохина Л. М. Система протеиназа-ингибитор протеиназ у крыс при оксидативном стрессе, вызванном введением хлорида кобальта // Укр. біохім. журнал. Т. 72. — 2000. — № 1. — С. 89–92.
5. Меньщикова Е. Б., Ланкин В. З., Зенков Н. К. и др. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. — М.: Слово, 2006. — 556 с.
6. Мертвцов Н. П. Регуляция экспрессии генов стероидными гормонами. — Новосибирск: Наука, 1990. — 262 с.
7. Охріменко С. М. Регуляція активності тирозинаміотрансферази печінки щурів за умов оксидативного стресу // Медична хімія. — 2006. — № 2. — С. 105–108.
8. Павиченко О. В. Антиоксидантна система еритроцитів та гемоксигеназна активність в серці, судинах і легенях щурів за умов розвитку гемолітичної анемії: Автореф. дис. канд. біол. наук. — Харків, 2004. — 19 с.
9. Паламарчук А. В., Власенко М. В. Унітіол як антиоксидантний препарат та його застосування у лікуванні хворих на цукровий діабет // Ліки. — 2003. — № 1-2. — С. 18–21.
10. Протасова Т. Н. Гормональная регуляция активности ферментов. — М.: Медицина, 1975. — 236 с.
11. Пушкина Н. Н. Биохимические методы исследования. М.: Медгиз, 1963. — С. 208–210.
12. Саприн А. Н., Калинина Е. В. Окислительный стресс и его роль в механизмах апоптоза и развитии патологических процессов // Успехи биол. химии. — Т. 39. — 1999. — С. 289–326.
13. Соколік В. В. Вплив хлоридів кобальту та ртуті на пероксидне окислення ліпідів, систему тіолів та активність глутатіонзалежних антиоксидантних ферментів: Автореф. дис. канд. біол. наук. — Харків, 2004. — 19 с.
14. Стефанов О. В., Аркадьев В. Г., Максимов Ю. М. Застосування унітіолу в кардіології // Ліки. — 2002. — № 1-2. — С. 47–50.
15. Строев Е. А., Макарова В. Г. Практикум по биологической химии. — М.: Высшая школа, 1986. — С. 208–211.
16. Ciechanover A., Hargrove J. L., Gross-Mesilaty S Ubiquitin-mediated degradation of tyrosine aminotransferase (TAT) in vitro and in vivo // Mol. Biol. Rep. — 1997. — V. 24, № 1-2. — P. 27–33.
17. Schepard B., New Method for Assay of Tyrosine Transaminase // Analyt. Biochem. — 1969. — V. 30. — P. 443–448.
18. Semenza L. G. Oxygen-regulated transcription factors and their role in pulmonary disease // Respir. Res. — 2000. — № 1. — P. 159–162
19. Sies H Oxidative Stress: Oxidant and Antioxidants. — N. Y.: Academic Press. — 1991.

**УДК 577.121+612.392.6+615.279****ВЛИЯНИЕ УНИТИОЛА НА СОСТОЯНИЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО  
МЕТАБОЛИЗМА У КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ ХЛОРИДА КОБАЛЬТА**

С. М. Охрименко, П. А. Калиман

**Ключевые слова:** кобальт, унитиол, глюкоза, гликоген, свободные жирные кислоты, аминотрансферазы, лактатдегидрогеназа

Изучено влияние хлорида кобальта и унитиола на показатели энергетического метаболизма — содержание глюкозы и свободных жирных кислот в крови, гликогена в печени, а также на активность ферментов гликолиза и глюконеогенеза — лактатдегидрогеназы и аминотрансфераз — в органах крыс, а также в сыворотке крови. Установлено, что введение животным хлорида кобальта вызывает развитие стресс-реакции, что отражается в усилении процессов гликогенолиза и липолиза, а также глюконеогенеза. Предварительное введение унитиола лишь в некоторых случаях приводило к нормализации указанных показателей. Введение одного унитиола в некоторых случаях вызывало такой же эффект, как и при введении стресс-агента — хлорида кобальта. Выявлены высокая чувствительность сердечного изоэзима лактатдегидрогеназы к действию хлорида кобальта и способность унитиола влиять на этот показатель в условиях гипоксии, вызываемой введением хлорида кобальта. Выявлена чувствительность лактатдегидрогеназы печени и почек к действию унитиола. Действие указанного препарата на изученные показатели, скорее всего, не прямое, а опосредовано системами внутриклеточной регуляции.

**UDC 577.121+612.392.6+615.279****THE EFFECT OF UNITHIOL ON THE STATE OF ENERGY METABOLISM  
IN RATS UNDER INTRODUCTION OF COBALT CHLORIDE**

S. M. Okhrimenko, P. A. Kaliman

**Key words:** cobalt, unithiolo, glucose, glycogen, free fatty acids, aminotransferases, lactate dehydrogenase

The effect of cobalt chloride and unithiol on some indices of energy metabolism like glucose and free fatty acids content in blood and glycogen content in liver, and activities of enzymes of glycolysis and glyconeogenesis — lactate dehydrogenase and aminotransferases — in organs and blood serum of rats were studied. It was found that introduction of cobalt chloride was responsible for development of a stress reaction which was manifested itself in the increase of glycogenolysis, lypolysis and glyconeogenesis. The preliminary introduction of unithiol resulted in normalisation of the mentioned indices only in the some cases. Introduction of unithiol only resulted in the same effect as in the case of cobalt chloride in some cases too. It was observed that cordial isozyme of lactate dehydrogenase was very sensitive to the influence of cobalt chloride but unithiol could affect this influence under hypoxia resulted from introduction of cobalt chloride. It was revealed that lactate dehydrogenases in liver and kidney were sensitive to unithiol. The data obtained allow to suggest that the effect of unithiol on the indices under study was most likely indirect, i.e. mediated by mechanisms of intracellular metabolic control, than direct.

Адреса для листування:  
31077, м. Харків, м. Свободи, 4,  
Кафедра біохімії Харківського національного універси-  
тету ім. В. Н. Каразіна  
Тел. 38(057)707-55-02

Надійшла до редакції: 04.03.2009 р.

УДК: 582.739: 577.122: 612.391.4: 612.051

## ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ СОЇ НА КОНЦЕНТРАЦІЮ БІЛКІВ ПЛАЗМИ КРОВІ НА ФОНІ ДОКСОРУБІЦИНОВОЇ КАРДІОМІОПАТІЇ (ДКМП)

Л. М. Малоштан, Р. Ф. Єрмоменко, О. М. Шаталова, \*Н. П. Субота

*Національний фармацевтичний університет, м. Харків*

*\*Харківський національний педагогічний університет*

*Ключові слова:* екстракт трави сої, білки сироватки крові, доксорубіцинова кардіоміопатія

*Проведені дослідження з метою виявлення впливу гідрофільного екстракту сої (ГЕТС) на кількісний та якісний склад білків плазми крові у тварин в умовах модельної патології (доксорубіцинової кардіоміопатії) та під час профілактичного введення екстракту.*

*В результаті проведених досліджень екстракт сої, введений щурам в дозі 100 мг/кг на фоні ДКМП, значно підвищував загальний і відносний вміст білка у діапазоні від 230 до 300 кДа. Використання ГЕТС сприяє встановленню нормального рівня сироваточного альбуміну при збереженні відносно високого вмісту білків з молекулярною вагою вище 230 кДа та зниженню білків і пептидів з молекулярною вагою 5–12 кДа.*

*Аналіз даних показав, що ГЕТС здійснює регуляторний вплив на білковий склад сироватки крові, сприяє сповільненню катаболічних процесів, викликаних впливом доксорубіцину, знижуючи активність протеолізу. Зниження кількості продуктів білкової деградації — низькомолекулярних білків та пептидів на фоні моделювання ДКМП — при використанні ГЕТС може бути розцінено як протекторний вплив, що проявляється шляхом зниження швидкості розпаду білків, викликаного дією доксорубіцину.*

### ВСТУП

Порушення білкового обміну ведуть до значних патологічних змін метаболізму і розвитку важких захворювань [3, 7].

За різними підрахунками, в організмі людини міститься біля 300 різних білків. Білки сироватки крові забезпечують суттєву частину буферної ємкості і, крім того, можуть служити поживним матеріалом, особливо під час голодування. Вміст білків піддається значним коливанням на різних етапах життя і, крім того, залежить від фізіологічного стану організму. Ряд білків, присутніх у сироватці крові, може надхо-

дити з клітин, що руйнуються, і це є важливим показником патологічного стану органів.

Нормальний рівень загального білка у сироватці крові головним чином залежить від рівноваги між синтезом та розміщенням основних білкових фракцій альбуміну та імуноглобулінів.

Гіпопротеїнемія в більшості випадків проявляється зменшенням вмісту альбуміну. Лише в окремих випадках гіпопротеїнемія може бути зумовлена гострим дефіцитом імуноглобулінів. Гіпопротеїнурія може виникати внаслідок: 1) гальмування синтезу білків плазми в печінці; 2) ниркових синдромів втрати білка, діабету, кишкових синдромів втрати білка тощо [7].

Отже, білки плазми крові відіграють важливу роль у пластичному обміні, і їх корекція є дуже важливою та актуальною проблемою.

В якості коректорів пластичного обміну звертають на себе увагу рослини сімейства бобові, особливо соя [1, 12, 15, 16, 17].

За даними фітохімічних досліджень, проведених на базі кафедри хімії природних сполук НФаУ під керівництвом проф. В. С. Кісліченко,

**Л. М. Малоштан** — завідувача кафедри анатомії, фізіології та біології людини НФаУ, д.б.н., проф.

**Р. Ф. Єрмоменко** — доц. кафедри якості, стандартизації та сертифікації НФаУ, к.б.н.

**О. М. Шаталова** — ас. кафедри анатомії, фізіології та біології людини НФаУ, к. м. н.

**Н. П. Субота** — завідувача кафедри валеології Харківського національного педагогічного університету ім. Г.С. Сковороди, д.б.н., проф.

гідрофільний екстракт трави сої (ГЕТС) в своєму складі містить такі діючі речовини: фенольні сполуки, в тому числі флавоноїди, ізофлавоноїди, та дубильні речовини, органічні кислоти, оксикоричні кислоти, полісахариди, пектини, вільні та зв'язані амінокислоти, які впливають на регуляцію білкового обміну [4].

Тому метою наших досліджень було вивчення впливу ГЕТС на кількісний та якісний склад білків плазми крові у тварин з модельною патологією та під час профілактичного введення.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводилися на моделі доксорубіциніндукованого катаболізму на 30 білих нелінійних щурах обох статей масою 190–220 г, які утримувались на стандартному раціоні віварію. В період експериментів тварини знаходилися у віварії при  $t^{\circ} = 19\text{--}24^{\circ}\text{C}$ , вологості повітря не більш ніж 50%, природному світловому режимі «день-ніч», у пластикових клітках, на стандартному харчовому раціоні [2].

Підставою для обрання даної моделі стали дані літератури про те, що доксорубіцин у великих дозах здатний взаємодіяти з молекулою ДНК, змінюючи її молекулярну структуру, порушуючи процеси реплікації і транскрипції, пригнічуючи синтез нуклеїнових кислот та уповільнюючи розпад білків [10, 11, 13, 18]. Модельну патологію викликали шляхом одноразового введення у хвостову вену щурів доксорубіцину в дозі 20 мг/кг виробництва «Київмедпрепарат» [5], Україна. ГЕТС вводили внутрішньошлунково один раз на добу протягом тижня до моделювання патології та 4 дні на фоні патології [3, 9].

Група тварин інтактного контролю одержувала еквівалентний об'єм води (1 мл на 100,0 г маси тіла), який вводили внутрішньошлунково за допомогою канюлі. Виведення щурів з експерименту здійснювали шляхом евтаназії з застосуванням ефірного наркозу, потім проводили біохімічні дослідження міокарду та сироватки крові.

Статистична обробка результатів проведених досліджень здійснена з використанням коефіцієнта Ст'юдента ( $t$ ).

Вивчення білкового спектру сироватки крові щурів на моделі ДКМП проводили на базі лабораторії клінічної біохімії Інституту проблем кріобіології та кріомедицини НАН України (м. Харків) методом гель-хроматографії з використанням хроматографічної колонки 1x27 см з сефадексом G-200 [6, 8, 14]. Елюювання здійснювали фізіологічним розчином. Спектри поглинання записували на спектрофотометрі «Pye Unicam SP8000», Англія. У сироватці крові щурів дослідних груп

(1 група — інтактний контроль, 2 група — контрольна патологія, 3 група — патологія, на фоні якої внутрішньошлунково вводили ГЕТС в дозі 100 мг/кг) визначались фракції білків, серед яких найважливішими є фракції з молекулярною масою (ММ) 750 кДа, 500 кДа, 230 кДа, 65 кДа, 30 кДа, 12 кДа та 5 кДа.

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Загальний склад білка у контрольній групі склав 83,1 мг/мл у сироватці крові. Загальна кількість білка складала 30 фракцій. Натомість найбільша кількість білка реєструвалась у фракціях, які відповідають білку з ММ 65 кДа та діапазону параметрів сироваточного альбуміну у плазмі. Під час модельної патології, викликаній доксорубіцином, в плазмі крові тварин зафіксовано значне зменшення загальної концентрації білку, яке склало у середньому 65,6 мг/мл, що на 17,5 мг/мл менше ніж (78,8%) у контрольних тварин, що може бути інтерпретовано, як гіпопротеїнемія. При цьому змінюється не тільки загальна кількість білка, але й розподіл його по фракціях.

Слід відзначити, що в умовах гіпопротеїнемії найбільші кількісні зміни були відмічені серед білків з ММ від 230 до 12 кДа.

На фоні розвитку патології склад білків змінювався наступним чином: 65 кДа — зменшилось на 35%, 30 кДа — зменшилось на 33%, 12 кДа — збільшилось на 14%.

Білки високою молекулярною масою у плазмі крові також змінились: 100 кДа — зменшився у 1,4 рази, 148 кДа — зменшився у 1,3 рази, 230 кДа не змінювався за даних умов.

Таким чином, на фоні ДКМП спостерігається підвищення відносного вмісту низькомолекулярних білків 12 кДа та менше, а також високомолекулярних білків 500–759 кДа. Відносний вміст білків з молекулярною масою 148–65 кДа також зменшився (табл. 1).

Після лікування кардіоміопатії екстрактом сої змінився загальний вміст білка, дорівнюючи 68,9 мг/мл, і був вищий ніж у контрольній патології на 14,2 мг/мл. Також змінився фракційний склад білків плазми крові. Так, підвищився рівень білків фракцій, що відповідає білкам з ММ 750 та 500 кДа, рівень білка з ММ 230 кДа не змінився. Підвищився рівень низькомолекулярного білку 65 кДа майже до рівня вхідних даних та зменшився рівень низькомолекулярних білків від 30 до 12 кДа в порівнянні з контрольною патологією (табл. 1).

Таким чином, введення екстракту сої компенсувало гіпоальбумінемію, яка спостерігалась у тварин з кардіоміопатією, а також підвищило



Таблиця 1

**ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ СОЇ НА ВМІСТ БІЛКІВ В СИРОВАТКИ КРОВІ**

Умови досліджу	Концентрація білка, %						
	750кДа	500кДа	230кДа	65кДа	30кДа	12кДа	5кДа
Контроль	1,5	3,5	7,0	12,5	11	4,2	1
Контрольна патологія	(+1,7)	(+1,5)	(+1)	(- 2,7)	(- 2,5)	(+1,1)	(+1,7)
Лікування патології екстрактом сої	(+3,5)	(+2,5)	(+2)	(+1,5)	(- 1,7)	(- 2,2)	1 = 1

кількість білків з ММ 65 кДа, що відповідає діапазону концентрацій сироваточного альбуміну.

Диспротеїнемію, яку ми спостерігали в умовах кардіоміопатії, можна класифікувати як гіпопротеїнемію. Таким чином, на піку розвитку ДКМП спостерігається зниження як абсолютної, так і відносної кількості білків плазми. Цю зміну можна назвати гіпоальбумінемією, оскільки найбільше було змінено вміст білків з молекулярною масою 65 кДа, що відповідає альбумінам.

Моделювання ДКМП в умовах дослідження супроводжувалось зниженням абсолютної кількості білків з ММ 65–30 кДа, до яких мали відношення і білки з ММ 54–44 кДа. Застосування екстракту сої не нормалізувало ці показники до початкового рівня.

До фракції білків, що має ММ 100 кДа, також має відношення білок поліморфної природи гантоглобін. Основною фракцією цих білків є зв'язування Нb, який виходить в плазму з еритроцитів. Комплекс гантоглобін-гемоглобін, який не проходить крізь нирковий фільтр, що попереджує втрату заліза організмом, характеризується пероксидазною активністю та інактивує бактерії і токсини [10]. Слід відзначити, що введення екстракту сої піддослідним тваринам з ДКМП значно підвищило як загальний, так і відносний вміст білку в цьому діапазоні ММ 100 кДа. Фібриноген — ММ 340 кДа при інфекційних процесах його концентрація (норма 2,0–4,0 г/л) може підвищуватись у декілька разів. Фібриногену, крім його основної функції, відводять роль у загоєнні ран. Застосування екстракту сої дозволило нормалізувати кількість білків цієї ММ 90 кДа. Введення ГЕТС значно підвищує кількість білків цієї молекулярної маси, яка зменшується під час доксорубіцинової кардіоміопатії.

**ВИСНОВКИ**

Дослідний екстракт сої, введений щурам в дозі 100 мг/кг на фоні ДКМП, значно підвищував загальний і відносний вміст білка у діапазоні від 230 до 300 кДа.

В діапазоні фракцій, що відповідає високомолекулярним білкам з молекулярною масою 770–500 кДа, дослідний екстракт сої підвищував вміст глобулінових фракцій на фоні ДКМП.

Під дією ГЕТС спостерігалось зменшення білків з молекулярною масою від 30 до 12 кДа, що свідчить про анаболічну реакцію екстракту сої.

Таким чином, використання ГЕТС, у першу чергу, сприяє встановленню нормального рівня сироваточного альбуміну при збереженні відносно високого вмісту білків з молекулярною вагою вище 230 кДа та зниженню білків і пептидів з молекулярною вагою 5–12 кДа.

Отримані дані дають змогу припустити, що ГЕТС здійснює регуляторний вплив на білковий склад сироватки крові, сприяє сповільненню катаболічних процесів, викликаних впливом доксорубіцину, знижуючи активність протеолізу. Зниження кількості продуктів білкової деградації — низькомолекулярних білків та пептидів на фоні моделювання ДКМП, при використанні ГЕТС може бути розцінено як протекторний вплив, що проявляється шляхом зниження швидкості розпаду білків, викликаного дією доксорубіцину.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Бабич А. О. Соя для здоров'я та життя на планеті Земля/А. О. Бабич. — К.: Аграрна наука, 1998. — 271 с.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації/За ред. чл. — кор. АМН України О. В. Стефанова. — К.: Авіцена, 2001. — 528 с.
3. Експериментальне вивчення нових анаболічних засобів: метод. рек./Л. В. Яковлева, С. М. Марчишин, Ю. Б. Лар'яновська та ін. — Київ, 2007. — 32 с.
4. Кисличенко В. С., Карпюк У. В. Амінокислотний склад трави сої щетинистої//Фітотерапія. Часопис. — 2008. — № 2 - С. 62–64.
5. Машковский М. Д. Лекарственные средства/М. Д. Машковский. — 15-е изд., перераб. испр. и доп. — М.: ООО «Издательство «Новая волна», 2007. — 1200 с.
6. Остерман Л. А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот/Л. А. Остерман. — М.: Наука, 1985. — 536 с.
7. Патологическая физиология: в 3-х т.: учеб. для студ. высш. учеб. заведений/под ред. А. И. Воло-

- жина, Г.В. Порядина. — М.: Издательский центр «Академия», 2006. — Т. 2. — 256 с.
8. Спирин А.С. Спектрофотометрическое определение суммарного количества нуклеиновых кислот/А.С. Спирин//Биохимия. — 1958. — Т. 23, вып. 5. — С. 657–661.
  9. Шаталова О.М. Використання моделі доксорубіциніндукованого катаболізму для оптимізації лікарських засобів з анаболічною дією: інформ. лист/О.М. Шаталова, Л.Н. Малоштан. — К.: Центр «Укрмедпатентінформ» МОЗ України, 2008. — № 14. — 2008. — 3 с.
  10. Acute and prolonged action of Adriamycin on the contractile function and antioxidant status of the myocardium/V.L. Lakomkin, G.G. Konovalova, V.G. Tsyplenkova et al.//Exp. Clin. Cardiology. — 2006. — Vol.1, № 4. — P.35–42.
  11. Clark W.R. Middle molecules and small-molecular-weight proteins in ESRD: Properties and strategies for their removal/W.R. Clark, J.F. Winchester//Adv. Ren. Replace Ther. — 2003. — Vol. 3, № 10. — P.270–278.
  12. Di Carlo G Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs/G Di Carlo, N Mascolo, A Izzo//Life Sci. — 1999. — Vol.65, № 4. — P. 337–353.
  13. Dudnakova T.V. Alterations in myocardial cytoskeleton and regulatory protein expression following a single doxorubicin injection/T.V. Dudnakova, V.L. Lakomkin, V.G.Tsyplenkova//JCardiovasc.Pharmacol. — 2003. — Vol. 41, № 5. — P. 789–794.
  14. Harris D.A. Spectrophotometric assays in: spectrophotometry & spectrofluorimetry/D.A. Harris. — Washington: IRL Press, 1987. — P. 49–90.
  15. Muraro M.A. Soy and other protein sources/M. A. Muraro Prdiatr. — Allergy Immunol. — 2001. — Vol. 12 (suppl. 14) — P. 85–90.
  16. Reynolds K A meta-analysis of the effect of soy protein supplementation on serum lipids/K Reynolds, A Chin//Am. J Cardiol. — 2006. — Vol. 98, № 5. — P. 633–640.
  17. Reinwald S Soy isoflavones and bone health: a double-edged sword?/S Reinwald, C.M. Weaver//J Nat. Prod. — 2006. — Vol. 69, № 3. — P. 450–459.
  18. Wallace K.B. Doxorubicin-induced cardiac mitochondrionopathy/K.B.Wallace//Pharmacol. Toxicol. — 2003. — Vol. 93, № 3. — P. 105–115.

**УДК: 582.739: 577.122: 612.391.4: 612.051**

**ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА СОИ НА КОНЦЕНТРАЦИЮ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ НА ФОНЕ ДОКСОРУБИЦИНОВОЙ КАРДИОМИОПАТИИ (ДКМП)**

**Л.М. Малоштан, Р.Ф. Еременко, О.М. Шаталова, \* Н.П. Суббота**

*Ключевые слова:* экстракт травы сои, белки сыворотки крови, доксорубициновая кардиомиопатия

Проведены исследования с целью определения влияния гидрофильного экстракта сои (ГЭТС) на количественный и качественный состав белков плазмы крови у животных в условиях модельной патологии ДКМП и во время профилактического введения экстракта.

В результате проведенных исследований, ГЭТС, введенный животным в дозе 100 мг/кг на фоне ДКМП, значительно повышал общее и относительное содержание белка в диапазоне от 230 до 300 кДа. Использование ГЭТС способствует установлению нормального уровня сывороточного альбумина при сохранении относительно высокого содержания белков с молекулярной массой выше 230 кДа и снижению белков с молекулярной массой 5–12 кДа.

Анализ данных показал, что ГЭТС осуществляет регуляторное влияние на белковый состав сыворотки крови, способствует замедлению катаболических процессов, вызванных влиянием доксорубицина. Снижение количества низкомолекулярных белков и пептидов на фоне моделирования ДКМП при использовании ГЭТС может быть расценено как протекторное действие, проявляющееся снижением скорости распада белков, вызванного действием доксорубицина.

**УДК: 582.739: 577.122: 612.391.4: 612.051**

**INFLUENCE OF EXTRACT OF SOY ON THE CONCENTRATION OF ALBUMENS OF PLASMA OF BLOOD ON A BACKGROUND DOXORUBICIN-INDUCED CARDIOMYOPATHY (DICM)**

**L. N. Maloshtan, R. F. Eremenko, O. M. Shatalova, N. P. Subota**

**Key words:** extract of grass of soy, squirrel of whey of blood, doxorubicin-induced cardiomyopathy

Conducted research with the purpose of exposure of influence of hydrophilic soy grass extract (SGHE) on quantitative and high-quality composition of albumens of plasma of blood at animals in the conditions of model pathology under increased catabolism conditions and during prophylactic introduction of extract.

As a result of the conducted researches, SGHE entered an animal in a dose 100 mgs/kg on a background DICM considerably promoted general and relative maintenance of albumen in a range from 230 to 300 кDa. The use of SGHE is instrumental in establishment of normal level of albumen at a maintainance in relation to high maintenance of albumens with molecular weight higher 230 кDa and decline of albumens with molecular weight of 5–12 кDa.

The analysis of data rotined that SGHE carried out regulator influence on albuminous composition of whey of blood, instrumental in deceleration of catastatic processes, caused influence of doxorubicin. Decline of amount of low-molecular albumens and peptids on a background the design of doxorubicin-induced cardiomyopathy, at the use of SGHE it can be considered as a protector action, showing up the decline of speed of disintegration of albumens, caused the action of doxorubicin.

*Адреса для листування:*

61002, м. Харків, вул. Мельнікова, 12,  
Кафедра нормальної фізіології НФаУ,  
Тел.: 8(057)706-30-73

Надійшла до редакції: 20.03.2009 р.

УДК: 615.244: 615.322: 616.36-002: 663.252.1

## ВИВЧЕННЯ ГЕПАТОЗАХИСНОЇ АКТИВНОСТІ ПОЛІФЕНОЛЬНИХ КОМПЛЕКСІВ З ВИНОГРАДУ СОРТІВ «КАБЕРНЕ» ТА «РКАЦИТЕЛІ» В УМОВАХ ГОСТРОГО ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ У ЩУРІВ

Л. М. ВОРОНИНА, А. Л. ЗАГАЙКО, О. В. ФАЙЗУЛЛІН, С. В. ЗАЙКА,  
Г. Б. КРАВЧЕНКО

*Національний фармацевтичний університет, м. Харків*

*Ключові слова:* виноград, гепатит, поліфеноли, тетрахлорметан

*На моделі гострого тетрахлорметанового ураження печінки у щурів проведено вивчення гепатопротекторної активності деяких поліфенольних комплексів винограду. Встановлено, що лікувально-профілактичне введення досліджуваних субстанцій в дозі 0,5 мл/кг та референс-препарату «Силібор» призводить до значної регресії у розвитку патології, про що свідчать позитивні зміни показників, які характеризують розвиток синдромів гіперліпเปอร์оксидації та цитолізу. За виразністю впливу на інтенсивність перекисних процесів та стан антиоксидантної системи об'єкти, що досліджуються, можна розташувати наступним чином: «Каберне» → «Силібор» → «Ркацителі». Отримані дані свідчать, що найбільш виразний вплив на розвиток синдрому цитоліза чинить «Силібор», незначно поступається йому поліфенольний комплекс «Каберне», та найменш виразний антицитолітичний ефект чинить поліфенольний комплекс «Ркацителі».*

### ВСТУП

На сьогодні токсичні ураження печінки дуже розповсюджені. Велике медико-соціальне значення цієї проблеми обумовлено забрудненням навколишнього середовища, широким застосуванням хімічних сполук в побуті, зловживанням алкогольними напоями та ускладненнями фармакотерапії [1, 6, 7, 8]. Усі ці чинники в першу чергу впливають на центральний орган метаболізму та біотрансформації печінку та обумовлюють її uszkodження.

Все зазначене, а також відносна обмеженість арсеналу вітчизняних гепатопротекторів обумовлює актуальність пошуку нових гепатозахисних засобів.

**Л. М. Вороніна** — зав. кафедрою біологічної хімії Національного фармацевтичного університету, д. б. н., проф.

**А. Л. Загайко** — доцент кафедри біологічної хімії Національного фармацевтичного університету, к. б. н.

**О. В. Файзуллін** — асистент кафедри біологічної хімії Національного фармацевтичного університету, к. фарм. н.

**С. В. Зайка** — аспірант кафедри біологічної хімії Національного фармацевтичного університету

**Г. Б. Кравченко** — доцент кафедри біологічної хімії Національного фармацевтичного університету, к. б. н.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Вивчення гепатозахисної активності поліфенольних комплексів, що були отримані з винограду сортів каберне та ркацителі, проводили на моделі гострого тетрахлорметанового гепатиту. Патологію моделювали шляхом одноразового внутрішньошлункового введення 50% олійного розчину тетрахлорметану. Досліджувані субстанції вводили в лікувально-профілактичному режимі: за одну годину до введення розчину тетрахлорметану та через дві години після, в дозі 0,5 мл/кг. В якості препарату порівняння був використаний гепатопротектор вітчизняного виробництва «Силібор», який вводили в дозі 25 мг/кг. Наступної доби тварин декапітували та проводили визначення деяких функціонально-біохімічних показників сироватки крові та печінки.

З метою оцінки виразності синдрому пероксидації у тканині печінки визначали вміст ТБК-активних сполук [2]. Крім того, у тканині печінки визначали вміст відновленого глутатіону [5] та активність каталази [4], що дозволило зробити висновок про стан антиоксидантної системи. У сироватці крові визначали активність аланін-амінотрансферази (АлАТ), що є гепатоспецифічним маркером цитолізу [3].

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Одноразове введення тетрахлорметану супроводжувалося розвитком гострого токсичного ураження печінки. У піддослідних тварин спостерігалися суттєва інтенсифікація процесів перекисного окислення ліпідів та виснаження системи антиоксидантного захисту, внаслідок чого порушувалася структурна та функціональна цілісність мембран. Руйнування компонентів клітинної мембрани обумовило розвиток виразного цитолітичного синдрому, про що свідчить зростання активності АлАТ у сироватці крові дослідних тварин більше ніж удвічі (табл.1).

Було встановлено, що введення «Силібору» та поліфенольних комплексів з винограду значно поліпшувало стан піддослідних тварин. Досліджувані поліфенольні комплекси та препарат порівняння «Силібор» пригнічували перебіг процесів ліпопероксидації та зменшували рівень ТБК-активних сполук у тканині печінки (табл. 1). Поліфенольний комплекс «Каберне» та «Силібор» зменшували рівень ТБК-реактивних на 44,4 і 37,5 % відповідно та практично нормалізували їхній вміст у тканині печінки. Введення поліфенольного комплексу «Ркацителі» також позначилося суттєвим (на 35,2 %) зменшенням рівня ТБК-реактивних, проте значення цього показника залишалось достовірно вищим, порівняно з інтактним контролем. Одночасно спостерігалось зниження активності каталази та суттєве зростання вмісту відновленого глутатіону. Ці зміни свідчать про відновлення рівноваги між станом антиоксидантної системи та інтенсивністю процесів ПОЛ. Найбільш виразний стимулюючий вплив на стан антиоксидантної системи чинив поліфенольний комплекс «Каберне» та зменшував активність каталази на 25,5 %, підвищуючи вміст відновленого глутатіону у тканині печінки на 81,76 %. Введення поліфенольного комплексу «Ркацителі» та «Силібору» призводило до зменшення активності каталази на 17,6 та 23,4 % та зростання рівня GSH на 66,1 і 61,5 % відповідно.

При введенні поліфенольних комплексів винограду «Каберне» та «Ркацителі» активність аланінамінотрансферази у сироватці крові піддослідних тварин зменшувалася відповідно на 27,5 та 21,5 %. Зменшення синдрому цитолізу при застосуванні досліджуваних субстанцій, ймовірно, є наслідком пригнічення перекисних перетворень мембранних фосfolіпідів. «Силібор» чинив дещо виразніший вплив на розвиток синдрому цитолізу та майже нормалізував активність аланінамінотрансферази у сироватці крові піддослідних тварин, зменшуючи активність АлАТ на 34,2 %.

### ВИСНОВКИ

Проведені дослідження дозволяють зробити висновок про виразну гепатопротекторну активність, що її виявляють поліфенольні комплекси винограду, які вивчалися: лікувальний ефект досліджуваних субстанцій в умовах гострого тетрахлорметанового ураження печінки виявлявся пригніченням перекисних деструктивних процесів, зменшенням оксидативного дисбалансу та, як наслідок, зменшенням некрозу гепатоцитів і виразності синдрому цитолізу. Було також встановлено, що найвиразніший терапевтичний ефект виявляв поліфенольний комплекс «Каберне», який перевищував препарат порівняння «Силібор» за впливом на показники оксидативного статусу печінки та практично не поступався йому за впливом на розвиток синдрому цитолізу. Дещо менш виражений ефект в умовах гострого токсичного гепатиту виявляв поліфенольний комплекс «Ркацителі».

### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Буеверов А.О. Лекарственные поражения печени // РМЖ. — 2001. — Т. 9, С. 13–14.
2. Дроговоз С.М., Сальникова С.И., Скакун Н.П., Слышков В.В. Методические рекомендации по экспериментальному изучению желчегонной, холеспазмолитической,

Таблиця 1

### ВИВЧЕННЯ ГЕПАТОЗАХИСНОЇ ДІЇ ПОЛІФЕНОЛЬНИХ КОМПЛЕКСІВ ВИНОГРАДУ НА МОДЕЛІ ГОСТРОГО ТЕТРАХЛОРЕТАНОВОГО ГЕПАТИТУ (n=6)

Показник/група	Інтактний контроль	Контрольна патологія	«Каберне» 0,5мл/кг	«Ркацителі» 0,5мл/кг	«Силібор» 25мг/кг
ТБК-АП, мкмоль/г	41,03±3,27	69,23±4,25*	38,46±3,51**	44,87±2,03*/**	43,27±5,47**
ВГ, ум. од.	42,67±2,05	17,78±2,62*	32,82±3,87*/**	29,54±2,79*/**	28,72±2,62*/**
Каталаза, мкат/л	2,17±0,10	3,29±0,21*	2,45±0,15**	2,68±0,07*/**	2,52±0,16**
АлАТ, ммоль/г*л	0,63±0,08	1,49±0,09*	1,08±0,12*/**	1,17±0,1*/**	0,98±0,14**

Примітки: \* — відхилення достовірно відносно інтактного контролю;

\*\* — відхилення достовірно відносно контрольної патології;

\*\*\* — відхилення достовірно відносно препарату порівняння.

- холелитиазной и гепатопротекторной активности новых лекарственных средств//Издание официальное. — Киев: ФК МЗ Украины, 1994.
3. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: В 2 т. — Мн.: Беларусь, 2002. — Т. 1. — 495 с.
  4. Метод определения активности каталазы/М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев//Лабораторное дело. — 1988. — № 1. — С. 16–19.
  5. Beutler E. D., Duron Q., Kelly B. M. Improved method for the determination of blood glutathione//J Lab. Clin. Med. — 1963. — Vol. 61, № 5. — P. 882.
  6. Lumeng L., Crabb D.W. Alcoholic liver disease//Curr. Opin. Gastroenterol. — 2000. — Vol. 16. — P. 208–218.
  7. Nyompa A.M., Shencer S Drug and the liver//Gastroenterology and Hepatology. The Comprehensive Visual Reference. — Philadelphia: current Medicine, 1996. — P. 611–612
  8. Sherlock S., Dooley J Disease of liver and biliary system, 10th Blackwell Sci. Publication. Oxford, 1997. — P. 217–238.

**УДК: 615.244: 615.322: 616.36-002: 663.252.1**

**ИЗУЧЕНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ВИНОГРАДА СОРТОВ «КАБЕРНЕ» И «РКАЦИТЕЛИ» В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО ТОКСИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА У КРЫС**

**Л. Н. Воронина, А. Л. Загайко, О. В. Файзуллин, С. В. Заика, А. Б. Кравченко**

*Ключевые слова:* виноград, гепатит, полифенолы, тетрахлорметан

На модели острого тетрахлорметанового поражения печени у крыс проведено изучение гепатопротекторной активности некоторых полифенольных комплексов винограда. Установлено, что лечебно-профилактическое введение исследуемых субстанций в дозе 0,5 мл/кг и референс-препарата «Силибор» приводит к значительной регрессии в развитии патологии, о чем свидетельствуют позитивные изменения показателей, характеризующих развитие синдромов гиперлипидпероксидации и цитолиза. По выраженности влияния на интенсивность перекисных процессов и состоянию антиоксидантной системы изучаемые объекты можно расположить следующим образом: «Каберне» → «Силибор» → «Ркацители». Полученные данные также свидетельствуют, что наиболее выраженное влияние на развитие синдрома цитолиза оказывает «Силибор», незначительно уступает ему полифенольный комплекс «Каберне», и наименее выраженный антицитолитический эффект оказывает полифенольный комплекс «Ркацители».

**UDC: 615.244: 615.322: 616.36-002: 663.252.1**

**INVESTIGATION OF POLYPHENOL COMPLEXES FROM CABERNET AND RKACITELI GRAPES HEPATOPROTECTIVE ACTIVITY UNDER ACUTE TERACHLORMETAN-INDUCED HEPATITIS IN RATS**

**L. N. Voronina, A. L. Zagayko, A. V. Faisullin, S. V. Zaika, A. B. Kravchenko**

*Key words:* grapes, hepatitis, polyphenols, tetrachlormethane

On acute liver terachlormetan-induced destroy in rats the hepatoprotective activity of some polyphenol complexes from grapes investigation is carried out. It has been shown, that the preventive administration of investigated substations in a doze of 0,5ml/kg and reference-preparation silibor results in significant regress of pathologydevelopment, that testifies positive changes of parameters describing hyperlipidperoxidation and cytolysis syndromedevelopment. On influences expressiveness to the peroxidative processes intensity and antioxidative system state investigated objects can be arranged as follows: «Cabernet» > «silibor» > «Rkaciteli». The data obtained also testify, that most expressive influence on cetolysis syndrome development renders «silibor», a little bit concedes to it polyphenol complex «Cabernet», and least expansive anticytotoxic effect renders polyphenol complex «Rkaciteli».

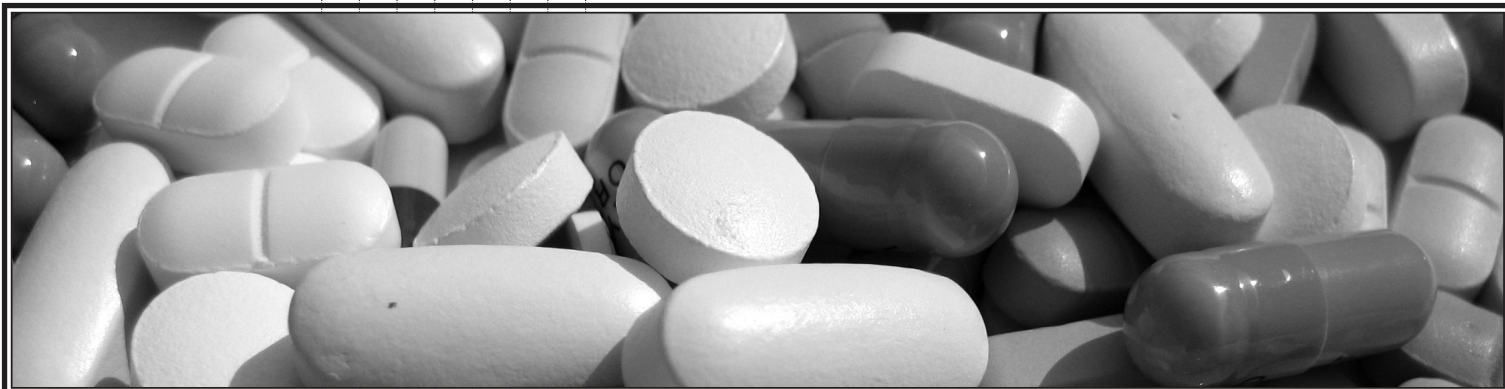
Адреса для листування:  
61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53,  
Кафедра біологічної хімії НФаУ  
Тел. (057)706-30-99

Надійшла до редакції: 10.03.2009 р.

## *Огляд літератури*

**Рецензенти рубрики:**

**Краснопольський Ю.М.,  
докт. фарм. н., проф.**



УДК 615.012.8:615.014

**К ВОПРОСУ ПРИМЕНЕНИЯ НИЗКО-МОЛЕКУЛЯРНЫХ ГЕПАРИНОВ (обзор литературы)**

Г.И. БОРЩЕВСКИЙ, М.И. БОРЩЕВСКАЯ

*Департамент биотехнологии ОАО «Фармак», Киев**Ключевые слова: гепарин, тромбоцит, противотромбическая активность, анти-Ха*

*В статье рассматриваются вопросы применения гепаринов с различными молекулярными массами, зависимости биофармацевтической эффективности от способа получения и состава препаратов. Обсуждается влияние состава гепаринов и ряда примесей на проявление побочных действий препаратов, поднят вопрос о необходимости стандартизации субстанций и готовых лекарственных форм по молекулярным массам и присутствующим примесям. Используемые сегодня низкомолекулярные гепарины должны рассматриваться как оригинальные, а не генерические препараты, отличающиеся по способам получения, составу и клиническому действию. Это требует проведения соответствующих исследований по изучению физико-химических, биофармацевтических и клинических свойств низкомолекулярных гепаринов при их освоении и внедрении.*

**ВСТУПЛЕНИЕ**

Препараты на основе гепаринов (Г) сегодня хорошо известны. Трудно представить профилактику и лечение патологических поражений сосудов и тканей без этой группы биологически активных соединений. Известно, что Г применяют для лечения большого числа заболеваний: тромбозы и тромбоэмболии, ишемическая болезнь сердца и инфаркт миокарда, гломерулонефрит и другие. Сегодня в клинической практике используются нефракционированные (НФГ) и низкомолекулярные (НМГ) Г [18, 27, 28].

Известным осложнением НФГ является гепарининдуцированная тромбоцитопения. Г также может быть инактивирован тромбоцитарным фактором 4, белками плазмы крови или путем связывания его макрофагами. Вследствие этого для повышения эффективности антикоагулянтного действия НФГ и корректировки дозы препарата необходимо прибегать к непрерывной внутривенной инфузии с систематическим контролем активированного частично тромбопластинного времени (АЧТВ).

**ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ**

Наличие побочного действия у НФГ привело к созданию во второй половине 80-х годов

**М. И. Борщевская** — руководитель департамента биотехнологии ОАО «Фармак»; проф. кафедры биотехнологии микробного синтеза Национального университета пищевых технологий.

**Г. И. Борщевский** — сотрудник департамента биотехнологии ОАО «Фармак»; асп. ГП «ГНЦЛС», г. Харьков.

НМГ. НМГ получают различными химическими и ферментативными способами деполимеризации [2, 3, 16, 20] НФГ, полученного из слизистой кишечника свиньи. При этом образуются фрагменты от 4,0 до 6,5 кДа. НМГ обладают большей активностью в ингибировании Ха-фактора и меньше влияют на тромбин (II фактор). Отношение анти-Ха к анти-IIa (антитромбин) у различных НМГ варьирует от 2:1 до 4:1. В отличие от НФГ, у которого соотношение анти-Ха к активности АЧТВ составляет 1:1, ингибирование Ха-фактора свертывания НМГ значительно более выражено, чем его влияние на АЧТВ. Это оказывает более благоприятное влияние на эффективность и переносимость НМГ и, соответственно, на ожидаемую противотромбическую активность и риск развития кровотечения [9, 11, 36]. С химической и фармакологической точек зрения НМГ являются гетерогенной смесью полисахаридов, которые также содержат биологически неактивные компоненты. По мнению ряда исследователей, способ получения НМГ — ферментативная деполимеризация, химическая деградация или фракционирование — не влияет на их активность [36]. Относительное содержание высоко- (более 7,5 кДа) и низко- (менее 2,5 кДа) молекулярных фрагментов полисахаридных цепочек определяет фармакодинамический и фармакокинетический профиль отдельных препаратов в клинических исследованиях. Образуются фрагменты разной длины:

а) молекулы, которые содержат около 16 моносакхаридов и могут ингибировать не только фактор Ха, но и тромбин (IIa);



б) молекулы из 8–18 моносахаридов (молекулярная масса (м. м.) меньше 5,4 кДа), которые ингибируют только фактор Ха;

в) молекулы, которые имеют меньше, чем 8 моносахаридов и не проявляют ингибирующего эффекта;

г) по меньшей мере 24 сахаридных остатка должны быть в молекуле Г (что соответствует м. м. около 7,2 кДа), чтобы он мог ускорять инактивацию тромбина антитромбином III.

Сегодня существует около 20 препаратов НМГ со средней м. м. около 5 кДа. Главное преимущество НМГ следует из их фармакокинетических свойств: в 2–4 раза большее время полувыведения из организма, заметно лучшая биодоступность при подкожном введении и более стабильная дозовая реакция. Меньший токсический эффект связан с вызываемой НФГ тромбоцитопенией, что, в свою очередь, обусловлено взаимодействием НМГ с тромбоцитами [33]. Кроме того, на лабораторных животных продемонстрирована возможность проникновения Г с м. м. 1,9–4,6 кДа через гематоэнцефалический барьер [31].

Показаниями к применению НМГ является:

- профилактика тромбоэмболических осложнений, в особенности тех, которые связаны с общей хирургией или ортопедией;
- у нехирургических больных с высоким тромбоэмболическим риском (острая дыхательная недостаточность и/или респираторная инфекция, и/или острая сердечная недостаточность);
- лечение тромбоэмболических осложнений;
- профилактика свертывания крови в ходе гемодиализа;
- острый инфаркт миокарда, острые коронарные нарушения.

В таблице 1 приведена характеристика НМГ.

Метаболизм НМГ происходит путем десульфатации и/или деполимеризации с образованием разновидностей Г низкой м. м., обладающих существенно более низкой биологической активностью. Рассмотрим ряд НМГ, хорошо зарекомендовавших себя в клинической практике.

Фраксипарин (надропарин кальция) (ФП) — синтетический гликозаминогликан — первый из НМГ, изученный в клинике. Его получают из слизистой оболочки кишок свиней путем расщепления азотной кислотой, редукцией концевых групп боргидридом натрия, очисткой и замещением натрия на кальций. ФП имеет 70 % регулярных и 30 % нерегулярных дисахаридов. В основном, смеси семи дисахаридов 80 % цепочек этого НМГ имеют м. м. в пределах 2,0–7,0 кДа, которые состоят из 4–12 дисахаридных единиц, а около 50 % из 4,0–5,0 кДа, которые состоят из 12–14–16 дисахаридных единиц. Около 25 % молекул ФП имеют специфический участок связывания с антитромбином III. Полисахаридные цепочки ФП разделяются на высоко- и низкоаффинные фракции. Высокоаффинные фракции отвечают за анти-Ха и анти-IIIa активность, а низкоаффинные компоненты препарата активностью не обладают [32].

Биодоступность ФП при подкожном введении достигает, по данным ряда авторов, от 80 до 98 %, в то время как у НФГ биодоступность лишь 24 %. Уже после однократного внутривенного введения ФП наступает длительный анти-Ха эффект; АЧТВ и тромбиновое время увеличиваются уже на 5 мин., а после 24 часов нормализуются. После подкожных инъекций анти-Ха эффект обнаруживается только через 3–4 часа и продолжается в течение 18 часов [1, 7, 13]. Преимущества ФП по сравнению с НФГ и выгодные отличия от других НМГ сегодня признаны многими специалистами. Установлено, что кальциевые соли вызывают достоверно меньше местных осложнений, чем натриевые соли НМГ.

Фрагмин (дальтепарин натрия, ФР) представляет собой НМГ, выделенный в процессе контролируемой деполимеризации с помощью серной кислоты Г натрия из слизистой оболочки тонкой кишки свиньи и подвергнутый дополнительной очистке при помощи ионно-обменной хроматографии. Лекарственный препарат состоит из сульфатированных полисахаридных цепочек, имеющих среднюю м. м. 5,0 кДа (от 3,0 до 6,0 кДа). Низкая м. м. молекул ФР способствует селективному ингибированию фак-

Таблица 1

**ХАРАКТЕРИСТИКА НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ГЕПАРИНОВ**

Наименование НМГ, INN	М. м., Да	Соотношение анти-Ха/анти-IIIa	Период T <sub>1/2</sub> в плазме, мин	Наименование препарата
Дальтепарин натрия Kabi, Швеция	5000–6000	2,0–4,0	119–139	Фрагмин Pfizer Inc.
Надропарин кальция Sanofi	4300–4500	3,2–3,6	132–162	Фраксипарин GlaxoSmithKline
Эноксапарин натрия Rhone-Poulenc, Франция	4200–4500	3,7–3,8	129–180	Клексан Sanofi Aventis

торов Ха, XIIa и калликреина и более низкую активность к ингибированию факторов IIa, IXa, XIIa. Соотношение анти-Ха к анти-IIa ФР достигает, по данным ряда авторов, от 2,2 до 4,0 [30]. Биодоступность препарата достаточно высока —  $(87 \pm 6)\%$  и по данным она в 9 раз превышает активность НФГ. ФР метаболизируется преимущественно в ретикулоэндотелиальной системе печени, селезенки и почек путем N- и O-десульфатирования и в незначительной степени выделяется с мочой в неизменном состоянии. АЧТВ после подкожного введения 2500 МЕ анти-Ха ФР удлинняется на 3 секунды (при 5000 МЕ анти-Ха — на 6 секунд) и возвращается к первоначальному уровню, соответственно, через 12 и 24 часа. Период полувыведения препарата после подкожного введения колеблется от  $160 \pm 50$  до  $228 \pm 40$  мин. [10]. ФР связывается с антиромбином III и усиливает его ингибирующее влияние преимущественно на активность фактора свертывания Ха. В меньшей степени ФР уменьшает активность фактора IIa (тромбин), т.к. полисахаридные цепочки необходимой для ингибирования тромбина длины (содержащие не менее 18 олигосахаридов) обнаруживаются лишь в 25–30 % молекул НМГ.

Клексан (эноксапарин натрия, ЭПН) представляет собой НМГ со средней м.м. — 4,5 кДа. Препарат с высокой активностью анти-Ха (100 МЕ/мл) и низкой ингибирующей активностью в отношении фактора IIa (тромбина) (28 МЕ/мл), соотношение 3:1. Фракционный состав ЭПН: фрагменты менее 2,0 кДа — менее 20%; от 2,0 до 8,0 кДа — более 68%; более 8,0 кДа — менее 18%. ЭПН получают щелочным гидролизом бензилового эфира Г, выделенного из слизистой оболочки тонкого кишечника свиньи. Его структура характеризуется невосстанавливающимися фрагментами 2-O-сульфо-4-енпиразиносуроновои кислоты и восстанавливающимся фрагментом 2-N, 6-O-дисульфо-O-глюко-пиранозида. Структура ЭПН содержит 20% (в пределах от 15 до 25%) 1,6 ангидропроизводного в восстанавливаемомся фрагменте полисахаридной цепи. ЭПН содержит много коротких цепей (31%) с м.м. 2,5 кДа, которые обладают высокой анти-Ха активностью, но практически не могут инактивировать тромбин, в отличие от Г, который в одинаковой степени инактивирует тромбин и фактор Ха. Необходимо отметить, что препараты ЭПН, изготовленные различными производителями, отличаются по своим характеристикам.

После подкожного введения препарат полностью адсорбируется, достигая максимального уровня в плазме крови уже в течение первого часа, а максимальная активность наблюдается

на 3 час после введения. Анти-Ха активность продолжается в течение 24 часов. Период полувыведения Клексана продолжается в среднем 4 часа. ЭПН не влияет на АЧТВ и протромбиновое время, что позволяет не проводить мониторинг этих показателей лабораторными методами.

Инногеп (тинзапарин натрия, ТПН) — НМГ, получаемый ферментологией стандартного НФГ при помощи гепариназы, выделенной из *Flavobacterium heparinum*. Средняя м.м. препарата  $(4,5 \pm 1,5)$  кДа. При сравнении активности с первым международным стандартом анти-Ха активность тинзапарина составляет 75 МЕ/мг, а активность анти-IIa — значительно меньше и составляет 50 МЕ/мг. Соотношение этих активностей 1,5–2,5:1. Пик анти-Ха и анти-IIa активности после подкожного введения Инногепа обнаруживается на 4–6 часу и несомненно зависит от дозы введенного препарата. Общая биодоступность, определяемая этой активностью, достигает, соответственно, 90% и 67%. При введении препарата в течение нескольких дней пиковые значения этих активностей прогрессивно нарастают, но аккумуляция не наблюдается. Период полувыведения анти-Ха активности ТПН после подкожного введения составляет 82 мин., а для анти-IIa — 71 мин. [2]. Эффект анти-Ха активности ТПН в три раза (в дозе 2500 МЕ Анти-Ха), в шесть раз (в дозе 5000 МЕ Анти-Ха) и в 11 раз (в дозе 10000 МЕ Анти-Ха) выше, чем при использовании 5000 МЕ НФГ. При гемодиализе Инногеп вводится болюсно в артериальную линию диализатора перед сеансом в дозе 4250 МЕ, что позволяет эффективно предупредить образование сгустков во время процедуры.

Одним из последних препаратов НМГ, появившимся на фармацевтический рынок, является Бемипарин (Цибор-Ц), относящийся к НМГ второго поколения [38]. Препарат используется для профилактики и лечения тромбоэмболических осложнений у пациентов, имеющих средний, высокий и очень высокий риск тромбоэмболических осложнений. С этим препаратом проведено несколько клинических исследований в 2000–2004 гг. в Испании, США, Франции. Изучено количество случаев тромбоза глубоких вен и тромбоза легочной артерии, а также количество геморрагических осложнений у хирургических, онкологических, ортопедических больных на фоне тромбопрофилактики. Ц сравнили с ЭПН и НФГ. Проведенные исследования подтвердили эффективность Ц: количество случаев тромбоза глубоких вен и тромбоза легочной артерии снизилось с 5,4% (ЭПН) до 1,8% (Ц). По-видимому, это связано с рядом факторов: Бемипарин имеет самую низкую м.м.

из всех НМГ — 3,6 кДа, при м. м. известных НМГ (4,5–6,0 кДа); самое значительное преимущество Ц — это соотношение Ха/Па (антитромботическая активность/антикоагуляционная активность), составляющее у данного препарата 8:1, что значительно отличает Ц от других НМГ (табл. 1). Кроме того, период полужизни препарата в плазме крови составляет около 300 мин., что делает его применение один раз в день более предпочтительным по сравнению с другими НМГ.

Необходимо остановиться еще на одной группе Г. За последнее время предложены Г со средней молекулярной (СМГ) массой около 10,5 кДа [19] с узким диапазоном м. м. (9,5–11,5 кДа). Препарат обладает практически одинаковой анти-Ха (174,9 МЕ/мг) и анти-Па (170 МЕ/мг) активностью и объединяет высокую антитромбиновую активность, характерную для НФГ, и высокую биодоступность, свойственную для НМГ. Предложен СМГ [4], полученный путем контролируемой деполимеризации НФГ и последующего выделения методами молекулярной фильтрации. Препарат предназначен для получения лекарственного средства для профилактики и терапии тромбоэмболических процессов, в частности, для торможения свертывания крови при экстракорпоральном кровообращении. Предложенный препарат отличает отсутствие по сравнению с известными Г кровоточивости при наибольшей активности против фактора Па, что достоверно повышает его терапевтический индекс. Сравнение препарата проводили с НФГ (*Liquemin*) и НМГ (ЭПН). Гель-проникающей хроматографией (ГПХ) изучены их м. м. и молекулярно-массовое распределение. Было установлено, что кривые элюирования, полученные при ГПХ для НФГ, имеют среднюю м. м., равную 13,0 кДа, и одновременно с этим характеризуются исключительно широким молекулярно-массовым распределением. НМГ имеют среднюю м. м., равную 4,5 кДа, и значительно более узкое молекулярно-массовое распределение. Предложенный СМГ имеет среднюю м. м., равную 10,5 кДа, и наиболее узкое среди всех

трех различных Г молекулярно-массовое распределение. При этом автор придает особое значение узкому молекулярно-массовому распределению, поскольку именно подобным молекулярно-массовым распределением обусловлено наличие у СМГ уникального спектра фармакологического действия — ГСМ — при его сопоставлении с обоими сравниваемыми действующими веществами (НФГ и НМГ) обладает более высокой активностью как против фактора Ха, так и против фактора Па. При изучении СМГ в клинике обнаружено, что СМГ проявляет наибольшую активность в опыте по определению АЧТВ и в опыте по определению активности против фактора Па, причем предлагаемый Г именно по показателям его активности против фактора Па значительно отличается от двух других Г. При анализе активности против фактора Ха СМГ занимает примерно среднее положение между ЭПН и *Liquemin*. Хотя активность ЭПН против фактора Ха более чем в два раза превышает активность СМГ, тем не менее антитромбиновая активность ЭПН составляет приблизительно лишь 66 % от активности СМГ (табл. 2). Авторы пришли к выводу, что ЭПН действительно обладает более высокой по сравнению с СМГ биодоступностью, однако его ингибирующее тромбин действие, которым в первую очередь определяется противосвертывающая эффективность, проявляется существенно в меньшей степени, чем у предлагаемого СМГ. Результаты эксперимента на кроликах однозначно свидетельствовали о наличии у СМГ более высокого терапевтического действия касательно предупреждения и лечения тромбоэмболических процессов по сравнению с НМГ. Помимо этого было установлено, что введение СМГ сопровождается меньшим по сравнению с ЭПН риском кровотечений. С учетом экспериментально полученных результатов СМГ предпочтительно применять и для терапии острого инфаркта миокарда и нестабильной стенокардии, а также для ингибирования свертывания крови при экстракорпоральном кровообращении [5, 42]. Одно из основных преимуществ НМГ по сравнению

Таблица 2

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТРЕХ ВИДОВ ГЕПАРИНОВ

Характеристика	НФГ	СМГ	НМГ
Молекулярная масса, Да	3000–30000	10000–11500	2000–8000
Средняя молекулярная масса, Да	13000	10500	5000
Активность против фактора Ха/фактора Па	1,00	1,03	3,8
Активность против фактора Ха	219	439	1028
Активность против фактора Па	308	544	358
Активность в опыте по определению АЧТВ	104	154	126
Биологическая доступность, % (подкожно)	10–25	70	90

с обычным Г — низкая частота развития тромбocyтoпeнии. Так как способность вызывать агрегацию тромбоцитов более выражена у высокомолекулярных фракций Г, включая НФГ, у больных с исходной тромбоцитопенией в качестве прямых антикоагулянтов лучше использовать НМГ. В то же время не следует назначать НМГ больным с индуцированной обычным Г тромбоцитопенией из-за высокой частоты перекрестных реакций с гепарин-зависимыми антигенами. Для лечения больных с индуцированной Г тромбоцитопенией рекомендуется использовать гепариноиды [22, 44], например, данапароид натрия. Этот препарат содержит смесь гликозаминогликанов: 84,0 % гепарина сульфата, 12 % дерматана сульфата, 4,0 % хондроитин сульфата, обладает анти-Ха активностью. Средняя м. м. данапароида 6,5 кДа. Препарат не обладает антитромбиновой активностью. Отношение активности против фактора Ха к активности против фактора IIa для данапароида равно 20:1.

Учитывая, что НМГ обладают относительно невысокой анти-IIa активностью, появляются работы [41], авторы которых ставят задачу создания препаратов с большей биодоступностью, сокращения Г-индуцированной тромбоцитопении и повышения анти-IIa активности. Предложен препарат НМГ с м. м. от 5,5 до 8,3 кДа, содержащий цепочку дисахаридов с 8–18 единицами. В препарате, по сравнению с коммерческими препаратами, увеличено содержание 3–0 сульфатов. Соотношение антифактор-Ха к антифактору-IIa от 0,5 до 3,5.

В последние годы проявляется большой интерес к получению и исследованию биологических свойств химически модифицированных аналогов Г или других антикоагулянтов [8, 22, 42]. Функционализация Г позволяет изменить физико-химические и биологические свойства Г. Конъюгаты Г с лекарственными субстанциями могут обладать большей растворимостью и продолжительностью действия по сравнению с НФГ и НМГ, могут использоваться как препараты комбинированного действия. Были предложены конъюгаты Г с новокаином, тауфоном, изониазидом и другими лекарственными препаратами [15]. Предложены способы получения нитропроизводных НМГ. Препарат представлял фракцию НМГ с м. м. от 3,0 до 6,5 кДа. Средняя м. м. ( $5,0 \pm 0,4$ ) кДа. Препарат содержит нитрогруппы  $\text{ONO}_2$ , ковалентно связанные с сахарами.

Анализ литературных данных позволяет сделать вывод о том, что НМГ обладают более продолжительной биологической активностью по сравнению с НФГ. Период полужизни ( $T_{1/2}$ ) НМГ после внутривенного введения колеблется от 1,5 до 4,5 часов, в то время как  $T_{1/2}$  для НФГ

составляет 50–60 мин. Биодоступность большинства НМГ после подкожной инъекции составляет более 90 %, в то время как для НФГ — лишь 15–25 %. Различны механизмы и пути клиренса НМГ и НФГ. Как известно, после внутривенного введения НФГ наблюдается две фазы элиминации — быстрая и медленная. Предполагают, что быстрая элиминация НФГ обусловлена его связыванием с рецепторами эндотелиальных клеток и макрофагов. В клетках происходит частичная деполимеризация и десульфатирование Г, после чего его небольшие фрагменты, по видимому, высвобождаются в кровоток, а затем выводятся почками. Фаза медленного клиренса, очевидно, начинается тогда, когда насыщены все клеточные рецепторы Г. Этими особенностями клиренса НФГ объясняется тот факт, что  $T_{1/2}$  НФГ зависит от вводимой дозы. Клиренс НМГ более медленный и более равномерный, чем у НФГ. Это объясняется тем, что НМГ значительно хуже связываются с эндотелиальными клетками и белками плазмы крови. Выведение почками является основным путем элиминации НМГ. При почечной недостаточности  $T_{1/2}$  НМГ значительно увеличивается. НМГ в значительно меньшей степени, чем НФГ, связываются с белками плазмы (например, богатым гистицином гликопротеидом, фактором 4 тромбоцитов и т. д.), которые способны нейтрализовать их антикоагулянтную активность. НМГ более резистентны к тромбоцитарному фактору 4, высвобождаемому из тромбоцитов при их активации. Именно низким сродством НМГ к гепарин-нейтрализующим белкам плазмы можно объяснить высокую биодоступность при их применении в низких дозах [6]. Все указанные особенности фармакокинетики и фармакодинамики НМГ обуславливают их несомненное преимущество. Другое преимущество НМГ перед НФГ — низкая частота развития тромбоцитопении. Частота тромбоцитопении при лечении НФГ колеблется от 1 до 3 % [12]. Тромбоцитопения чаще встречается при лечении препаратами Г, полученными из легких крупного рогатого скота (15,6 %), чем при лечении Г, выделенными из слизистой оболочки кишечника (5,8 %). Использование ЭПН — эффективный способ предупреждения тромбоэмболических осложнений у больных онкотаракального профиля при проведении комплексного лечения. Применение этого препарата не увеличивает объем интра- и послеоперационной кровопотери при онкотаракальных вмешательствах, включая расширенные операции и медиастинальную лимфодиссекцию, способствует сокращению продолжительности лимфо-реи и сопровождается уменьшением количества пневмоний, развивающихся на фоне индукцион-

ной полихимиотерапии и в послеоперационный период [17].

Таким образом, НМГ, так же как НФГ, являются катализаторами антитромбина III. Однако благодаря уменьшению количества мукополисахаридных цепей и соответственно уменьшению м. м., их антитромбическое действие более селективно и поэтому более предсказуемо, чем у НФГ, и главным образом заключается в инактивации фактора Ха. В меньшей степени НМГ влияют на фактор IIa, что уменьшает риск выраженных кровотечений, которые, в принципе, могут возникать на фоне любой антитромботической терапии. НМГ не связываются с эндотелием и обладают меньшей способностью связываться с белками плазмы. Это обуславливает большую биодоступность, значительное увеличение времени полувыведения и стабильный дозозависимый эффект при подкожном введении.

НМГ являются современными эффективными лекарственными средствами для лечения и профилактики различных тромбоэмболических состояний. НМГ действуют на различные механизмы системы свертывания крови, оказывают положительное влияние на клетки крови и эндотелия, ослабляя их проагрегатные свойства. Преимуществом препаратов данного фармакологического ряда является отсутствие необходимости регулярного и частого взятия крови для определения времени свертывания крови и АЧТВ.

Основными нежелательными эффектами НМГ являются кровотечения, тромбоцитопения и остеопороз. К редким нежелательным реакциям относят гипоальдостеронизм, преходящее повышение сывороточной активности аминотрансфераз и уровня свободных жирных кислот [12], аллергические кожные реакции и некроз кожи при подкожном применении. В контролируемых клинических исследованиях частота геморрагических осложнений при применении НМГ в целом была сопоставимой с таковой при лечении НФГ или ниже. Для купирования кровотечений, вызванных НМГ, может быть использован протамин, хотя он нейтрализует их активность менее эффективно, чем активность НФГ. Серьезным нежелательным эффектом НФГ является тромбоцитопения, которая развивается у 1–3% больных и может привести к серьезным осложнениям. При лечении НМГ частота тромбоцитопении ниже, чем при использовании НФГ. При появлении тромбоцитопении на фоне введения НФГ его не следует менять на НМГ, учитывая высокую частоту их перекрестной реактивности с гепарин-зависимыми антителами. Остеопороз развивается при длительном применении НФГ,

особенно во время беременности. Случаи его описаны и при лечении НМГ, хотя препараты этой группы реже вызывают развитие остеопороза. Частота аллергических кожных реакций при лечении НМГ низкая, хотя, возможно, ее до сих пор несколько недооценивают. Аллергические реакции включают в себя крапивницу, некроз кожи, нередко сочетающийся с тромбоцитопенией, эритему.

Таким образом, проанализировав данные о побочном действии НМГ, зарегистрированных сегодня в Украине, мы можем отметить следующее: кровотечения в разных местах более частые у больных с другими факторами риска; описаны спорадические случаи тромбоцитопений, иногда тромбообразующих; кожные реакции; описаны отдельные случаи кожного некроза, обычно возникающие в месте введения, при применении НФГ и НМГ; небольшие гематомы в месте введения; обратимая эозинофилия; генерализованные реакции повышенной чувствительности, включая отек кровеносных сосудов; повышенный уровень трансаминаз; при использовании ЭПН описаны редкие случаи гематомы спинного мозга на фоне спинальной анестезии с развитием стойкого или необратимого паралича. Риск этого осложнения выше при использовании катетеров после операции.

Суммируя изложенное, можно заключить, что в настоящее время большинство исследователей считают НМГ по силе действия не уступающим НФГ. В то же время, препараты НМГ имеют ряд преимуществ, в том числе они приводят к значительно меньшему количеству осложнений.

Требования к качеству НМГ изложены в Государственной Фармакопее Украины и Европейской фармакопее. В соответствии с требованиями фармакопей НМГ представляют собой соли сульфатированных глюкозаминогликозанов со средней м. м. меньше 8,0 кДа, не менее 60% общей массы которых имеют м. м. менее 8,0 кДа. НМГ имеют разную химическую структуру на концах полисахаридных цепочек, которые восстанавливают и не восстанавливают. Контроль осуществляют по следующим характеристикам: идентификация: А — ЯМР (в сравнении со стандартным образцом); В — определение отношения активности антифактора Ха к активности антифактора IIa (не менее 1,5); С — эксклюзивная хроматография (м. м. должны соответствовать препарату сравнения производителя); D — субстанция должна давать реакции либо на натрий, либо на кальций; рН; азот; кальций; натрий; молярное соотношение сульфат ионов к карбоксилат ионам — не менее 1,8; тяжелые ме-

таллы; бактериальные эндотоксины — менее 0,01 МЕ/МЕ анти-Ха активности; количественное определение — активность не менее 70 МЕ активности антифактора Ха (также проводят определение активности к антифактору Па). Проанализировав указанные тесты, мы не обнаружили методов, позволяющих оценить присутствие в препаратах Г гиперсульфатированного хондроитинсульфата и дерматансульфата. В то же время, именно с одним из этих компонентов — гиперсульфатированным хондроитинсульфатом — связывают серьезные побочные эффекты [14]. В настоящее время в России предложено всем производителям ввести в нормативную документацию тестирование субстанций по данному продукту. В качестве метода предлагается зональный капиллярный электрофорез. На электрофореграмме тестируемого раствора перед пиком Г не должен присутствовать пик гиперсульфатированного хондроитинсульфата. Допускается наличие пика дерматансульфата после пика Г. Также предлагается проведение ЯМР спектроскопии в диапазоне 1,5–2,5 м. д.; не допускается присутствие характерного сигнала для гиперсульфатированного хондроитинсульфата. Необходимо отметить, что ряд производителей вводит дополнительные тесты, например, на содержание дерматансульфата не более 0,9% (Shenzhen Hepflink (TONGDA) Biological Technology Co. LTD). Возможно применение масс-спектрологии для получения информации о структурной организации гликозаминогликанов [35].

В заключение хотелось бы отметить, что НМГ (дальтепарин, эноксапарин, надропарин и др.) существенно различаются между собой по фармакодинамике влияния на каскад свертывания и фармакокинетическим характеристикам. Анализ литературы позволяет рассматривать НМГ как различные препараты, каждый из которых характеризуется собственным профилем эффективности и безопасности. Таким образом, даже препараты с близким составом по м. м. все же отличаются друг от друга и по разному влияют на систему свертывания крови. Все НМГ отличаются между собой средней м. м., ее распределением и биологической активностью *in vitro* и *in vivo*. НМГ циркулируют в крови более длительный период, значительно дольше инактивируют (на фосфолипидных мембранах) фактор Ха (не снижая его синтез), минимально ингибируют тромбин. Высокое родство НМГ к антитромбину III, их пролонгированная антитромбиновая активность дают возможность использовать меньшие суточные дозы, при однократном подкожном введении надежно пре-

дотвращать тромбозы, в том числе и послеоперационные. После подкожного введения НМГ полностью адсорбируются и длительность полувыведения их анти-Ха активности почти в два раза больше, чем НФГ. В то же время, период элиминации анти-Па активности такой же, как у НФГ. Биодоступность НМГ достигает 90%. Даже при низких дозах доступность НМГ выше, чем у НФГ. Последнее связано с низкой аффинностью НМГ к эндотелию, белкам плазмы, внеклеточному матриксу [29], а также к фактору тромбоцитов-4, которые нейтрализуют антикоагулянтный эффект НФГ. НМГ усиливают фибринолиз: они высвобождают из эндотелия сосудов эндогенные антитромботические вещества и активаторы плазминогена, непосредственно повышают антитромботический потенциал стенок сосудов и опосредовано стимулируют выделение антитромботических гликозаминогликанов и простагландинов — эффективных ингибиторов агрегации тромбоцитов и вазодилаторов, которые являются существенным компонентом антикоагулянтной активности этих Г. Одним из важнейших факторов для более широкого использования НМГ является экономия средств для лечения больных. Так, по данным ряда исследователей [34], учитывая, что терапевтический эффект наблюдается при приеме НМГ один раз в сутки, стоимость лечения практически в два раза ниже, чем при использовании НФГ. В отличие от НФГ, различные препараты НМГ могут быть дифференцированы по биологическим и клиническим признакам. НМГ рассматриваются специалистами как различные лекарственные средства, требующие определения дозировки и спецификаций для каждого продукта. Различия между НМГ обусловлены их молекулярными и структурными свойствами [26]. В зависимости от метода деполимеризации (химическая (эноксапарин), ферментативная (тинзапарин), обработка азотистой кислотой (дальтепарин), окислением (ардепарин)) мы сталкиваемся с различными по составу и свойствам препаратами. В каждом препарате установлено разное соотношение отдельных цепей Г, определяющие отличия м. м. Любые минимальные изменения технологического процесса могут изменять ряд свойств препаратов НМГ. Таким образом, существует вероятность, что могут быть определенные различия между различными препаратами НМГ [25, 37].

В то же время при клиническом применении НМГ имеется проблема правильного подбора препарата и его вводимой дозы, что вызвано отличающимися свойствами Г из-за различной специфичности, м. м., различного состава и наличия сопутствующих примесей.

## ВЫВОДЫ

По нашему мнению, в субстанциях препаратов необходимо определять содержание каждой молекулярной фракции. Кроме того, необходим контроль препаратов по другим примесным компонентам: хондроитинсульфату (присутствие в препаратах хондроитинсульфата [24] может приводить к реакциям анафилактического типа), гиперсульфатированному хондроитинсульфату, дерматансульфату и др. Используемые сегодня НМГ должны рассматриваться как оригинальные, а не генерические препараты, отличающиеся по способам получения, составу и клиническому действию. По данным авторов [23, 37, 41], метод производства НМГ может существенно влиять на их фармакокинетические свойства и антикоагуляционную активность. Все это требует проведения соответствующих исследований по изучению физико-химических, биологических и клинических свойств НМГ при освоении и внедрении лекарственных форм НМГ. Перспективы есть у тех производителей НМГ, которые сумеют своевременно дополнить требования аналитической документации характеристиками, позволяющими стандартизовать препараты НМГ с целью снижения побочного действия.

## ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

- Амосова К. М. Застосування фраксипарину при гострих коронарних синдромах//Укр. Мед. Часопис. — 1999. — № 2. — С. 129–134.
- Банникова Г. Е. Гидролиз гепарина иммобилизованным ферментным комплексом *Streptomyces kurssanovii*/Г. Е. Банникова, П. П. Столбушкина, Н. Н. Дрозд/Прикладная биохимия и микробиология. — 2004. — № 4. — С. 46–52.
- Варламов В. Л., Банникова Г. Е., Макаров В. А. и др. Способ получения низкомолекулярных гепаринов. Патент РФ № 2248801. Опубликовано 27.03.2005. Бюл. № 9. 2005.
- Вельцель Д. Гепарин со средней молекулярной массой. Патент РФ № 2322245. Опубликовано: 20.04.08 Бюл. № 11. 2008.
- Голота В. Я. Фармакологические особенности и клиническое применение низкомолекулярных гепаринов/В. Я. Голота, М. Ш. Гамисония//Лікарська справа. — 1998. — № 8. — С. 15-17.
- Грацианский Н. А. Эноксапарин не лучше нефракционированного гепарина в условиях стратегии лечения больных острым коронарным синдромом без подъемов сегмента ST на ЭКГ — эффективность та же, кровотоки больше//Кардиология. — 2004. — № 5. — С. 77–79.
- Дикун Я. В. Низкомолекулярні гепарини у лікуванні хворих з гострими коронарними синдромами//Український медичний часопис. — 1999. — № 2. — С. 57–60.
- Дрозд Н. Н. Антикоагулянтная активность сульфатированных полисахаридов/Н. Н. Дрозд, Г. Е. Банникова, В. А. Макаров, В. Н. Варламов//Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2006. — № 6. — С. 51–62.
- Ковалів Б. Гепарин і гепариноїди у клінічній практиці/[Б. Ковалів, Ю. Ковалів, І. Ковалів]; Львів: Львівський державний університет, 2003. — 346 с.
- Колесник М. О., Лапчинська І. І., Козачок М. М. та ін. Низкомолекулярні гепарини: особливості антикоагулянтної дії, застосування в терапевтичній клініці. Журнал АМН України. 1998. — Т. 4. — № 4. — С. 630–639.
- Копица Н. П., Литвин Е. И., Петюнина О. В. Низкомолекулярные гепарины как обязательный компонент терапии больных острым коронарным синдромом без элевации сегмента ST. Врачебная практика. 2007. — Т. 57 — № 3 — С. 17–21.
- Моисеев В. С. Низкомолекулярные гепарины. Клиническая фармакология и терапия. 2000. — Т. 9. — № 1. — С. 72–78.
- Пархоменко О. М., Іркін О. І., Скаржевський А. А. та ін. Антикоагулянтна активність надпропарину кальцію у хворих з гострим інфарктом міокарда після фібринолітичної терапії стрептокіназою. Укр. Мед. Часопис. 2001. — № 1. — С. 23–27.
- Письмо Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития 2008 г. № 03И-578/08 «О контроле качества посторонних примесей в препаратах гепарина».
- Понеделькина И. Ю., Одинокоев В. Н., Лукина Е. С. и др. Способ получения конъюгатов гепарина. Патент РФ. № 2298406. Опубликовано: 10.05.2007.
- Столбушкина П. П., Дрозд Н. Н., Банникова Г. Е. и др. Получение и исследование антикоагулянтной активности образцов низкомолекулярных гепаринов. Хим.-фармацевтический журнал. 2004. — Т. 38. — № 2. — С. 71–74.
- Суховерша А. А., Завизион В. Ф., Артюшенко Л. Т. Низкомолекулярные гепарины в комплексном лечении больных с местнораспространенными формами рака легкого

- илимолочной железы. Онкология. 2002. 4. № 3. с. 232–233.
18. Черный В.И., Колесников А.Н., Кузнецова И.В. и др. Фраксипарин в профилактике тромбозов легочной артерии в общей хирургии. Здоровье Украины. 2007. — № 4. С. 20–21.
  19. Alban S., Weizel D., Hemker H Pharmacokinetic and pharmacodynamic characterization of a medium-molecular-weight heparin in comparison with UFH and LMWH Semin. Thromb. Hemost. 2002. — V. 28. — № 4. — P. 369–378.
  20. Ambrosi L., Gonella S., Vismara E Process for the physical depolymerization of glycosaminoglycans and products obtained the refrom. US Patent. N. 7091337. — 2006.
  21. Ambrosi L., Gonella S., Bensi D., Multistep process for the physical depolymerization of heparin and products obtained the refrom. US Patent. N. WO/2005/035587. — 2005.
  22. Bates S.M., Weitz J.I. New anticoagulants: beyond heparin, low molecular weight heparin and warfarin. British J. of Pharmacology. 2005. — V. 144. — N. 8. — P. 1017–1028.
  23. Bazargani P., Albrektsson A., Yahyapour N., Braide M Low molecular weight heparin improves peritoneal ultrafiltration and dlocks complement and coagulation. Perit. Dial. Int. 2005. — V.25. — N. 4. — P. 394–404.
  24. Delattre C, Michhaud P., Courtois J., Vijayalakshmi J Study of specific interactions between glucuronic acid and amino acids at the interface using pseudo bioaffinity chromatography and NMR — studies. Current Science. 2008. — V. 94. — N. 10. — P. 1279–1284.
  25. Dolovich L.R., Ginsberg J.S., Douketis I.D. et al. A meta-analysis comparing Low-Molecular — Weight Heparins with unfractionated Heparin in the Treatment of Venous Thromboembolism. Archive of internal. Medicine. 2000. — V. 160. — N 2. — P. 181–188.
  26. Fareed J., Walenga J.M. Why differentiate Low molecular weight heparins for venous thromboembolism. Thrombosis J. 2007. — V. 5. — N. 10. — P. 1477–1186.
  27. Gallieni M., Corrolino M., Ronga C., Brancaccio D Low molecular weight heparins should be used with caution in patients with chronic kidney disease. Nature Clinical Practice Nephrology. 2008. — V. 4. — N. 19. — P. 488–489.
  28. Hirsh J., Levine M.N. Low molecular weight heparin. Blood. 1992. — V. 79. — N. 1. — P. 1–17.
  29. Hirsh J., Shaklee N., Knobloch J. et al. Processes for the preparation of low-affinity, low molecular weigh heparins useful as antithrombotics. US Patent. N. 5,767,269. Jun.16, 1998.
  30. Holmer E., Soderberg K., Bergvist D. et al. Heparin and its low molecular weight derivates: anticoagulant and antithrombotic properties. Haemostasis. 1986. — V. 16. — N 1. — P. 1–12.
  31. Leveugle B., Ding W., Laurence F Heparin oligosaccharides that puss the blood-brain barrier inhibit beta-amyloid precursor protein secretion and heparin binding to beta-amyloid peptide. J. Neurochem. 1998. — V. 70. — N2. — P. 736–744.
  32. Lormeau J.C. Structural characteristics and pharmacological profile of Fraxiparine. Fraxiparine. Third International Symposium. Adis International. — Chester, 1994. P.17–25.
  33. Nenci G Low molecular weight heparin: are they interchangeable? No. J. Thromb. Haemost. 2003. — V. 1. — N. 1. — P. 12–13.
  34. O'Brien B., Levine M., Willan A. et al. Economic evaluation of outpatient treatment with Low — Molecular-Weight Heparin for Proximal Vein Thrombosis. Arch. Intetn. Med. 1999. — V. 159. — N 25. — P. 2298–230.
  35. Ola M.S., Heiner E., Kenji U. et al. Compositional profiling of heparin/heparin sulfate using mass-spectrometry: assay for specificity of novel extracellular human endosulfatse. Glycobiology. 2005. — V. 15. — N 8. — P. 818–826.
  36. Ostergaard P.B., Nilsson B., Bergqvist D. et al. The effect of low molecular weight heparin on experimental thrombosis and homeostasis — the influence of production method. Tromb. Res. 1987. — V. 45. — N 5. — P. 739–749.
  37. Pedersen P.C., Ostergaard P.B., Hedner U. et al. Pharmacokinetics of a low molecular weight heparin, Logiparin, after intravenous and subcutaneous administration to healthy volunteers. Thromb. Res. 1991. — V. 61. — N4. — P. 477–487.
  38. Planes A Review on bemiparin sodium — a new second generation low molecular weight heparin and its application in venous thromboembolism. Expert Opin Pharmacother. 2003. — N 4. — P. 1551–1561.
  39. Ragner F., Rasmus O Process for the production of Low molecular weight heparin. EU Pa-tent. N. 1899384. 2008.
  40. Rosenberg J., Breitenbach J., Dieter H. et al. Formulation based on heparin, glycosaminoglycan or heparinoid, use of the formulation and the formulation base. US Patent N. 7,393,840. Jul. 1, 2008.



41. Rota C., Livenari L., Spelta F. et al. Free radical generation during chemical depolimerization of heparin. *Anal Biochem.* 2005. — V. 344. — N 2. — P. 193–203.
42. Vismura E., Pierini M., Gudlieri S. et al. Structural modification induced in heparin by a Fenton-type depolymerization process. *Semin Thromb. Hemost.* 2007. — V. 33. — N 5. — P. 466–477.
43. Zhang Z., Weiwer M., Li B. et al. Oversulfated chondroitin sulfate: Impact of a heparin impurity, Associated with adverseclinical Events on Low molecular weight heparin preparation. *J. Med. Chem.* 2008. — V. 51. — N 18. — P. 5498–5501.

### УДК 615.012.8:615.014

#### ДО ПИТАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИХ ГЕПАРИНІВ

Г.І. Борщевський, М.І. Борщевська

**Ключові слова:** гепарин, тромбоцит, протитромбічна активність, анти-Ха

В статті розглядаються питання застосування гепаринів з різними молекулярними масами, залежності біофармацевтичної ефективності від способу отримання та складу препаратів. Обговорюється вплив складу гепаринів та ряду домішок на прояв побічних ефектів препаратів, розглянуте питання про необхідність стандартизації субстанцій та готових лікарських форм по молекулярних масах та присутніх домішках. Низькомолекулярні гепарини, що сьогодні використовуються, мають розглядатися як оригінальні, а не генеричні препарати, що відрізняються за шляхами отримання, складом та клінічною дією. Це потребує проведення відповідних досліджень по вивченню фізико-хімічних, біофармацевтичних та клінічних властивостей низькомолекулярних гепаринів при їх опануванні та впровадженні.

### UDK 615.012.8:615.014

#### ON THE ISSUE OF LOWMOLECULAR WEIGHT HEPARIN

G.I. Borshevsky, M.I. Borshevskaya

**Key words:** heparin, platelet, antiplatelet activity, anti-Xa

This article discusses the use of heparin with different molecular masses, depending biopharmaceutical performance of the method of obtaining and of drugs. The effect of heparin and a number of impurities in the manifestation of drug's side effects, raised the need for standardization of ingredients and finished dosage forms of molecular weight and impurities presence. Used today, lowmolecular weight heparin should be considered as original, not the generic drugs differ on obtaining way, structure and clinical action. This calls for appropriate research into the physico-chemical, biopharmaceuticals and clinical properties of lowmolecular weight heparin in their development and implementation.

Адрес для переписки:  
04080, г. Киев, ул. Фрунзе 63,  
ОАО «Фармак»  
Тел. 8 (044) 496-89-26

Надійшла до редакції: 06.02.2009 р.

**ПРАВИЛА ПІДГОТОВКИ МАТЕРІАЛІВ ДО ПУБЛІКАЦІЇ В ЖУРНАЛІ  
«УКРАЇНСЬКИЙ БІОФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ЖУРНАЛ»**

1. До розгляду приймаються оригінальні та інші види статей (до 10–11 сторінок), присвячені експериментальній фармакології, фірмацевтичній біохімії, фармакогнозії, фітохімії рослин та БАР. Перевага в опублікуванні надається статтям з економіки, менеджменту, управлінню якістю в фармацевті.
2. Текст статті друкується кеглем № 14 через 1,5 інтервали на аркуші формату А4 (ширина полів: зліва — 3 см, справа — 1 см, зверху та знизу — по 2 см) і починається з таких даних: індекс УДК, назви статті (жирним шрифтом, рівняти по лівому краю), ініціалів та прізвищ всіх авторів (рівняти по лівому краю), назви організації (курсив, рівняти по лівому краю), у яких виконана робота (якщо авторів декілька, відомості про кожного подаються окремими рядками), анотації на укр. мові (по центру: АНОТАЦІЯ; з абзацу: текст анотації; з абзацу: Ключові слова: перелік ключових слів (понять) у кількості 3–8). Далі з абзацу (через пустий рядок) текст статті.
3. Автори повинні дотримуватись загального плану побудови статті й виділяти обов'язкові елементи:
  - 3.1. Постановка проблеми у загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими або практичними питаннями;
  - 3.2. Аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання даної проблеми і на які спирається автор;
  - 3.3. Виділення невирішених раніше частин загальної проблеми, котрим присвячена стаття;
  - 3.4. Формулювання цілей (завдання) статті;
  - 3.5. Виклад основного матеріалу дослідження (методів та об'єктів) з обґрунтуванням отриманих результатів;
  - 3.6. Висновки з даного дослідження та перспективи подальших розвідок у даному напрямку.
  - 3.7. Перелік використаних джерел інформації, розташованої за алфавітом (спочатку — роботи вітчизняних авторів, потім — зарубіжних). Цитовані джерела позначаються у тексті цифрами (у квадратних дужках). Джерел інформації не менш п'яти. За останніми вимогами ВАК.
4. Стаття супроводжується трьома анотаціями українською (на початку статті), російською та англійською (після статті, в кінці статті). Анотації повинні містити: індекс УДК, назву статті, ініціали та прізвища всіх авторів, ключові слова. Оформлення анотацій:

УДК  
НАЗВАНІЕ СТАТЬИ  
Инициалы и фамилия авторов  
АНОТАЦИЯ  
Текст (с абзаца)  
Ключевые слова

UDC  
DIRECTIONS OF THE  
L. P. Dorokhova  
RESUME  
The view the constant  
Keywords

5. Формули сполук подаються окремими файлами у форматі Corel Draw (версія не пізніше 11); ISIS draw; діаграми та рисунки — у форматі Excel або Corel Draw (версія не пізніше 11); рисунки у вигляді фотографій можуть бути представлені файлами TIFF 300–600dpi Gray Scale (256 градацій сірого), JPG не менше 1 Мб. Ширина графічного матеріалу повинна бути розміром 5,5 см, 11,5 см або 17,4 см. Кожний рисунок, діаграма, таблиця подається в окремому файлі
6. У статтях повинна використовуватись система одиниць СІ.
7. Рисунки та підписи до них виконують окремо один від одного; підписи до всіх рисунків статті подаються на окремому аркуші. На зворотній стороні кожного рисунка простим олівцем вказується його номер та назва статті, а в разі необхідності — верх і низ.
9. Таблиці повинні бути надруковані на окремих аркушах і мати нумерацію і заголовки. На полях рукопису необхідно вказати місце розміщення рисунків і таблиць. Інформація, наведена у таблицях і на рисунках, не повинна дублюватися.
10. Усі матеріали подаються до редакції у двох екземплярах. Один екземпляр друкується так, як повинне бути розташування всього графічного й текстового матеріалу. Другий екземпляр статті підписується всіма авторами й оформляється окремо: текст, рисунки, діаграми, схеми.
11. Стаття супроводжується експертним висновком, рецензією та направленням від організації (для авторів НФаУ — це розпорядження «До друку» з підписом відповідальної особи НФаУ).
12. До статті на окремому аркуші та в електронному вигляді додаються відомості про авторів, які містять: учене звання, учений ступінь; прізвище, ім'я та по батькові (повністю); місце роботи та посаду, яку обіймає автор; адресу для листування, номери телефонів і факсів, E-mail.
13. Редакція залишає за собою право редакційної правки статті.
14. Статті, відслані авторам на виправлення, повинні бути повернені до редакції не пізніше, ніж через 10 днів після одержання. В авторській коректурі допускається виправлення лише помилок набору.
15. До друкованого варіанту статті (2 екз.) додається електронна копія на дискеті (або може бути надана на іншому виді електронного носія) у форматі MS Word.
16. Статті приймаються відповідальним секретарем журналу Загайко А. Л. (к. т. 8 (057) 706-30-99, 8 (050) 653-02-42 E-mail: azagayko@mail.ru) .

## ЗМІСТ

### ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ФАРМАКОЛОГІЯ

<b>Токсикометричні параметри потенційного церебропротектора ВІТІН-1</b>	
В. Д. Лук'янчук, О. В. Крилова .....	4
<b>Вивчення дозозалежних жарознижуючих властивостей нового лікарського засобу</b>	
Г. О. Сирова .....	8
<b>Особливості фармакокінетики похідного калікс[4]аренуза різних умов введення білим мишам</b>	
М. Я. Головенко, Н. В. Шнейдер, І. Ю. Борисюк .....	12
<b>Порівняння антиексудативної активності сучасних гепатопротекторів антраля та тютриазоліна</b>	
О. В. Гололобова, К. Г. Щокіна .....	17

### ФАРМАКОГНОЗІЯ

<b>Мінеральний склад кори, бруньок та листя деяких представників сортів <i>Persica vulgaris</i> Mill.</b>	
О. А. Пузак, Л. В. Упир, В. С. Кисличенко, Н. В. Толкачова .....	24
<b>Распределение цикламелина А в организме отравленных животных</b>	
Г. Б. Искендеров, Г. Р. Исламова .....	28

## **БІОХІМІЯ**

### **Вплив унітіолу на стан енергетичного метаболізму у щурів при введенні хлориду кобальту**

С. М. Охріменко, П. А. Каліман..... 34

### **Вплив екстракту сої на концентрацію білків плазми крові на фоні доксорубіцинової кардіоміопатії (ДКМП)**

Л. М. Малоштан, Р. Ф. Єрмоєнко, О. М. Шаталова, \*Н. П. Субота ..... 39

### **Вивчення гепатозахисної активності поліфенольних комплексів з винограду сортів «Каберне» та «Ркацителі» в умовах гострого токсичного гепатиту у щурів**

Л. М. Вороніна, А. Л. Загайко, О. В. Файзуллін, С. В. Заїка, Г. Б. Кравченко ..... 44

## **ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД**

### **К вопросу применения низкомолекулярных гепаринов (обзор литературы)**

Г.И. Борщевский, М.И. Борщевская ..... 47

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENS

Токсикометрические параметры потенциального церебропротектора ВИТИН-1  
*Лукьянчук В.Д., Крылова О.В.*.....4

Изучение дозозависимых жаропонижающих свойств нового лекарственного средства  
*А.О. Сырочая* .....8

Особенности фармакокинетики производного каликс-[4]арена при различных условиях введения белым мышам  
*Н.Я. Головенко, Н.В. Шнейдер, И.Ю. Борисюк* .....12

Сравнение антиэкссудативной активности современных гепатопротекторов антраля и тиотриазолина  
*Е.В. Гололобова, Е.Г. Щекина* .....17

Минеральный состав коры, почек и листьев некоторых представителей сортов *Persica vulgaris* Mill  
*О.А. Пузак, Л.В. Упир, В.С. Кисличенко, Н.В. Толкачова*.....24

Виделения тритерпенового сапонину з *Cyclamen elegans* і визначення його в біологічних рідинах  
*Г.Б. Іскандеров, Г.Р. Ісламов* .....28

Влияние унитиола на состояние энергетического метаболизма у крыс при введении хлорида кобальта  
*С.М. Охрименко, П.А. Калиман* .....34

Влияние экстракта сои на концентрацию белков плазмы крови на фоне доxorубициновой кардиомиопатии (ДКМП)  
*Л.М. Малоштан, Р.Ф. Еременко, О.М. Шталола, Н.П. Субота* .....39

Изучение гепатопротекторной активности полифенольных комплексов винограда сортов «Каберне» и «Ркацители» в условиях острого токсического гепатита у крыс  
*Л.Н. Воронина, А.Л. Загайко, О.В. Файзуллин, С.В. Заика, А.Б. Кравченко* .....44

К вопросу применения низкомолекулярных гепаринов  
*Г.И. Борщевский, М.И. Борщевская* .....47

Toxicometrical characteristic of potential cerebral protector VITIN-1  
*V.D. Lukjanchuk, O.V. Krylova* .....4

Investigation of dosedependent fever reduce properties of new medical preparation  
*G.O. Sirova* .....8

The pharmacokinetics features of calyx[4]arene derivative under various methods of administration in mice  
*N. Ya. Golovenko, N. V. Shneider, I. Yu. Borisyuk* .....12

Comparison of the antiexudative activity of the modern hepatoprotectors antral and thyotriazolin  
*E.V. Hololobova, E.H. Shshokina* .....17

Mineral composition of bark, buds and leaves of some representatives of sorts of *Persica vulgaris* Mill  
*O. A. Puzak, L.V. Upir, V.S. Kislichenko, N.V. Tolkachova*.....24

The extraction of triterpene saponin from *Cyclamen elegans* and its definition in biological liquids  
*G.B. Iskandarov, H.R. Islamov* .....28

The effect of unithiol on the state of energy metabolism in rats under introduction of cobalt chloride  
*S. M. Okhrimenko, P. A. Kaliman* .....34

Influence of extract of soy on the concentration of albumens of plasma of blood on a background doxorubicin-induced cardiomyopathy (DICM)  
*L.N. Maloshtan, R.F. Eremenko, O.M. Shatalova, N.P. Subota* .....39

Investigation of polyphenol complexes from Cabernet and Rkaciteli grapes hepatoprotecive activity under acute terachlormetan-induced hepatitis in rats  
*L.N. Voronina, A.L. Zagayko, A.V. Faisullin, S.V. Zaika, A. B. Kravchenko* .....44

On the issue of low mollecular weight heparin  
*G.I. Borschevsky, M.I. Borschevskaya* .....47

Адреса для листування: 61166, м. Харків, пр. Леніна, 40, а/с 4163,  
ПП «Фармітек».  
Тел./факс. 8(057)717-89-00.  
e-mail: provisor\_editor@ukr.net,  
chief\_editor@megapolis.kharkov.ua

Літературний редактор: О.П. Назаренко  
Комп'ютерна верстка: Д.В. Козлов

Підписано до друку 08.04.2009 р. Формат 60x84 1/8  
Папір офсетний. Друк офсетний.  
Умовн. Друк. Арк. 9,3. Обліков-вид. арк. 10,76  
Тираж 1500 прим.